



**Universidade Federal Rural de Pernambuco**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical**

**SANIDADE DE OSTRAS (*Crassostrea rhizophorae*) CULTIVADAS NA RESERVA  
EXTRATIVISTA MARINHA BAÍA DO IGUAPE, BAHIA**

**FERNANDA DE FREITAS VIRGINIO NUNES**

Recife  
2016



**Universidade Federal Rural de Pernambuco**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical**

**FERNANDA DE FREITAS VIRGINIO NUNES**

**SANIDADE DE OSTRAS (*Crassostrea rhizophorae*) CULTIVADAS NA RESERVA  
EXTRATIVISTA MARINHA BAÍA DO IGUAPE, BAHIA**

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciência Animal Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Fábio de Souza Mendonça  
Co-orientadora: Prof. Dr<sup>a</sup> Isabella de Matos Mendes da Silva.

Recife  
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

N972s Nunes, Fernanda de Freitas Virginio  
Sanidade de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) cultivadas na  
reserva extrativista marinha Baía do Iguape, Bahia / Fernanda de  
Freitas Virginio Nunes. – 2016.  
130 f. : il.

Orientador: Fábio de Souza Mendonça.  
Coorientadora: Isabella de Matos Mendes da Silva.  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de  
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal  
Tropical, Recife, BR-PE, 2016.  
Inclui referências.

1. Aquicultura 2. *Escherichia coli* 3. Parasitos 4. Metais tóxicos  
5. Saúde coletiva 6. Área de conservação I. Mendonça, Fábio de  
Souza, orient. II. Silva, Isabella de Matos Mendes da, coorient.  
III. Título

CDD 636.089

**Sanidade de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) cultivadas na Reserva Extrativista  
Marinha Baía do Iguape, Bahia**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal Tropical, outorgado pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, à disposição na Biblioteca Central desta universidade. A transcrição ou utilização de trechos deste trabalho é permitida, desde que respeitadas às normas de ética científica.

---

Fernanda de Freitas Virginio Nunes

Recife, 31/08/2016.

---

Prof. Dr. Fábio de Souza Mendonça (DMFA/ UFRPE)  
(Orientador)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Juliana Pinto de Medeiros (Dep. Histologia/UFPE)

---

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Edleide Maria Freitas Pires (DTR/UFRPE)

---

Prof. Dr. Francisco de Assis Leite Souza (DMFA/UFRPE)

---

Prof. Dra. Mariana Gomes do Rêgo (PNPD/UFRPE)

Aos queridos Uemerson e Maria Alice com  
amor, dedico.

## AGRADECIMENTOS

Ao Pai maior pela sabedoria, proteção e força concedidas diariamente que me permitiu seguir em frente.

Ao meu esposo Uemerson Arantes por todo apoio, compreensão, cumplicidade, paciência, carinho e companheirismo em todos esses anos.

Às minhas irmãs Cristhiane e Jeanne e ao meu pai Luiz pela força, carinho em todos os momentos da minha vida, pela acolhida nas idas e vindas Recife/Salvador.

À minha mãe pelos ensinamentos de vida, e que de algum lugar torce pela minha conquista.

Ao prof. Fábio Mendonça pela confiança e orientação.

Às professoras Isabella Matos e Valéria Camilo pelo companheirismo, amizade, apoio e orientação fundamentais para execução e conclusão deste projeto.

Aos meus queridos amigos/familiares “estrangeiros”, tios, primos e amigos por todo carinho, torcida e orações.

As estagiárias da INCUBA/CCS/UFRB, Gaby, Leidis, Mile, Eli e Lari, pela dedicação e auxílio na execução das atividades e pelo entusiasmo que tornaram as inúmeras horas de coleta e banca prazerosas.

Ao Núcleo Produtivo de Ostreicultura da Bacia e Vale do Iguape pela parceria, em especial ao ostreicultor Nilton Antônio (Nico) pela troca de experiências e apoio nas coletas.

Aos professores Guisla Boehs, Fábio Oliveira, Everson Meireles pela colaboração no desenvolvimento do projeto e elaboração dos artigos.

À FIOCRUZ/Salvador e a técnica Marilúcia Campos pelo auxílio na confecção das lâminas histológicas.

Ao mestrando Felipe Miranda pelo treinamento e colaboração com as ferramentas de edição e formatação.

Aos colegas do PGCAT pelas experiências, angústias e alegrias compartilhadas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa e estudo.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo financiamento do projeto.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização desse doutorado, meu sincero agradecimento.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGUURAS.....	7
LISTA DE TABELAS.....	8
LISTA DE ABREVIATURAS.....	9
RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
1. QUALIFICAÇÃO DO PROBLEMA.....	12
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	14
2.1 Aquicultura .....	15
2.2 Ostreicultura na Bahia .....	17
2.3 Crassostrea rhizophorae.....	19
2.4 Sanidade de ostra .....	21
2.4.1 Micro-organismos.....	23
2.4.2 Parasitos.....	27
2.4.3 Metais tóxicos.....	30
2.5 Monitoramento e controle .....	35
2.5.1 Controle microbiológico.....	37
2.5.2 Controle parasitológico .....	39
2.5.3 Controle de metais tóxicos .....	41
3. OBJETIVOS .....	43
3.1 Objetivo geral.....	44
3.2 Objetivos específicos.....	44
4. CAPÍTULO I - Qualidade microbiológica e fatores ambientais de áreas estuarinas da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape (Bahia) destinadas ao cultivo de ostras nativas.....	44
Resumo.....	45
Abstract.....	45
4.1 Introdução.....	47
4.2 Metodologia.....	48
4.3 Resultados e Discussão.....	50
4.4 Conclusões.....	54
4.5 Referências .....	54

5. CAPÍTULO II - Prevalência e bioacumulação de contaminação fecal em ostras e água de cultivo de uma unidade de conservação ambiental no Brasil.....	57
Resumo.....	58
Abstract.....	59
5.1 Introdução.....	60
5.2 Material e Métodos.....	62
5.3 Resultados e Discussão.....	63
5.4 Conclusão.....	70
5.5 Agradecimentos.....	71
5.6 Referências.....	71
6. CAPÍTULO III - Parasitos na ostra <i>Crassostrea rhizophorae</i> cultivada na Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, Brasil.....	74
Resumo.....	75
Abstract.....	75
6.1 Introdução.....	77
6.2 Material e métodos.....	78
6.3 Resultados.....	79
6.4 Discussão.....	85
6.5 Conclusão.....	88
6.6 Referências Bibliográficas.....	88
7. Aspectos sanitários e histopatológicos de <i>Crassostrea rhizophorae</i> cultivada na Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, Brasil.....	91
Resumo.....	92
Abstract.....	92
7.1 Introdução.....	94
7.2 Material e Métodos.....	95
7.3 Resultados.....	98
7.4 Discussão.....	1032
7.5 Referências.....	106
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	110
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	111



## LISTA DE FIGURAS

### Revisão da literatura

- FIGURA 1. Localização geográfica da RESEX Marinha Baía do Iguape, Bahia.....18
- FIGURA 2. Estrutura anatômica de ostra do gênero *Crassostrea*.....19

### Capítulo I

- FIGURA 1. Viveiros de ostras nativas localizados no setor norte da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia.....48
- FIGURA 2. Valores médios dos parâmetros ambientais da coluna d'água dos viveiros de ostras da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, 2014.....51
- FIGURA 3. Valores médios de coliformes totais e termolorantes quanto a variação de maré do estuário da Baía do Iguape, Bahia, 2014.....52

### Capítulo III

- FIGURA 1. Pontos de coleta nos viveiros de cultivo da ostra *Crassostrea rhizophorae* localizados no setor norte da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, 2014.....77
- FIGURA 2. Fotomicrografia de *Crassostrea rhizophorae* com ocorrência de organismos assemelhados a *Rickettsia*- RLOs.....81
- FIGURA 3. Fotomicrografia de *Crassostrea rhizophorae* com ocorrência de *Nematopsis* sp com quantidade variável de oocistos por fagócito .....82
- FIGURA 4. Fotomicrografia de *Urastoma* sp. nas brânquias de *Crassostrea rhizophorae*.....83
- FIGURA 5. Fotomicrografia de metacercárias localizadas nas brânquias de *Crassostrea rhizophorae* e processos de encapsulação.....83
- FIGURA 6. Fotomicrografia de metazoários não identificados em *Crassostrea rhizophorae*.....84

### Capítulo IV

- FIGURA 1. Pontos de coleta nos viveiros de cultivo da ostra *Crassostrea rhizophorae* localizados no setor norte da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, 2014.....95
- FIGURA 2. Fotomicrografia de alterações histopatológicas em *C. rhizophorae*.....100
- FIGURA 3. Fotomicrografia de *Crassostrea rhizophorae* com ocorrência de *brown cells* em diferentes órgãos.....101

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo I

- TABELA 1. Perfil microbiológico e variações ambientais de águas estuarinas de cultivo de ostra da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, 2014.....49
- TABELA 2. Correlação de Pearson entre a densidade microbiana das águas estuarinas e os parâmetros ambientais da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, 2014.....51

### Capítulo II

- TABELA 1. Médias e desvios-padrão da densidade microbiana da água de viveiros de *Crassostrea rhizophorae* e variáveis ambientais da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, Brasil, 2015.....72
- TABELA 2. Densidade microbiana de *Crassostrea rhizophorae* (log UFC.100g<sup>-1</sup>) cultivadas na Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, Brasil, 2013 – 2015.....73

### Capítulo III

- TABELA 1. Temperatura (°C) e salinidade (‰) dos três pontos de coleta e precipitação pluviométrica acumulada (mm) da RESEX Marinha Baía do Iguape, Bahia, entre novembro de 2013 e julho de 2015.....79
- TABELA 2. Prevalência (%) de parasitos em *Crassostrea rhizophorae* de um cultivo suspenso na RESEX Marinha Baía do Iguape, Bahia, entre novembro de 2013 e julho de 2015 (n = 300).....80

### Capítulo IV

- TABELA 1. Aspectos sanitários e alterações histopatológicas em *Crassostrea rhizophorae* e fatores abióticos da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, Brasil, 2013-2015.....98
- TABELA 2. Ocorrência de condição sanitária insatisfatória em *Crassostrea rhizophorae* de um cultivo suspenso na RESEX Marinha Baía do Iguape, Bahia, entre novembro de 2013 e julho de 2015 (n=300).....99

**LISTA DE ABREVIATURAS**

FA	fator acumulação
g	grama
ha	hectare
HE	Hematoxilina e eosina
kg	quilograma
km	quilometro
mg	miligrama
mL	mililitro
NMP	Número Mais Provável
RESEX	Reserva Extrativista
RLO	Organismos assemelhados a Rickettsia
t	tonelada
UFC	Unidade Formadora de Colônias

## RESUMO

O monitoramento e controle da qualidade do ambiente aquático e a avaliação da saúde das ostras produzidas são fundamentais para uma produção segura e sustentável desses bivalves. O presente trabalho objetivou estabelecer o perfil microbiológico, parasitológico e toxicológico e as alterações histopatológicas de ostras *Crassostrea rhizophorae* produzidas na Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape-Bahia. Foram coletadas 600 espécimes de ostra e 120 amostras de água dos viveiros entre novembro de 2013 a novembro de 2015. Os resultados demonstraram que as ostras apresentaram qualidade microbiológica satisfatória conforme as legislações brasileira e internacional. Na determinação de metais tóxicos nos espécimes observou-se contaminação em 6,67% das amostras para chumbo e 13,33% para cádmio sendo este dado associado aos picos pluviométricos. Foram identificados bactérias, protozoários e metazoários, porém nenhum de notificação obrigatória e que não apresentaram danos significativos ao organismo dos bivalves. Conclui-se que as ostras cultivadas na RESEX Marinha Baía do Iguape apresentam bom estado geral de saúde e qualidade microbiológica e parasitária satisfatórias. Além disso, as alterações histopatológicas observadas não apresentam dimensões significativas para caracterização de lesões confirmando a boa saúde das ostras. Ressalta-se a necessidade da adoção de estratégias de manejo, monitoramento e controle de qualidade contínuos, com o fim de reduzir contaminações microbiológicas, parasitológicas e químicas, de fiscalização para evitar que novas fontes de contaminação surjam, bem como a inclusão de limites máximos para metais tóxicos e da determinação de parasitos de notificação obrigatória nos programas de sanidade de moluscos bivalves de forma a manter a inocuidade das ostras destinadas ao consumo, fortalecendo a produção segura e sustentável de ostras nativas e garantir a segurança do consumidor.

Palavras-chave: Aquicultura; *Escherichia coli*; parasitos; metais tóxicos; saúde coletiva; área de conservação.

## ABSTRACT

The monitoring and quality control of the aquatic environment and the evaluation of the health of oysters produced are fundamental to a safe and sustainable production of these bivalves. This study aimed to describe the microbiological profile, parasitological and toxicological and histopathological changes of *Crassostrea rhizophora* e produced in the Marine Extractive Reserve Bay Iguape-BA. We collected 600 species of oyster and 120 samples of water from November 2013 to November 2015. The results showed that the oysters were satisfactory sanitary quality according to Brazilian and international laws. In the determination of toxic metals in the specimens there was contamination of 6.67% for lead and 13.33% for cadmium being associated with this rainfall peaks. Were identified bacteria, protozoa and metazoan, but no notifiable and that showed no significant damage to bivalves. It is concluded that the oysters grown in RESEX Iguape Bay have good general health and microbiological quality and satisfactory parasite. In addition, histopathological changes observed no significant dimensions for the characterization of the lesion confirming the good health of oysters. It emphasizes the need management strategies, monitoring and quality control continuous, to reduce microbiological, parasitological and chemical contamination, supervision to prevent new pollution sources, and the inclusion of maximum limits for toxic metals and parasites to establish mandatory reporting on health programs mollusc order to maintain the safety of oysters for consumption, strengthening the safe and sustainable production of native oysters and ensure food and nutrition security of consumer.

Keywords: Aquaculture; *Escherichia coli*; parasites; toxic metals; public health; conservation area.

## 1. QUALIFICAÇÃO DO PROBLEMA

O cultivo de moluscos é uma atividade produtiva conhecida no mundo ocidental desde a época do domínio do Império Romano. A malacocultura no Brasil apresenta registros desde 1934, tendo sua comercialização difundida a partir de 1971 nas regiões Sudeste e Sul (SILVA; SILVA, 2007).

A ostreicultura tem importante papel na segurança alimentar e nutricional devido o fornecimento de alimentos de alto valor nutritivo e relevante potencial socioeconômico por meio da geração de emprego e renda às comunidades ribeirinhas (MACHADO, 2002; ROCHA et al., 2013a). Com o mercado em expansão, a atividade tem grande perspectiva de consolidação e ampliação para uma escala industrial (BAHIA PESCA, 2012).

Essa atividade merece destaque pelo potencial produtivo impulsionado pelo aumento do consumo mundial de 19,2 kg/ano, cuja produção quantificada pela Pesquisa Pecuária Municipal de 2014 na Região Nordeste foi de 147,38 t, destas 71,28 t proveniente da Bahia, quinto produtor do país, o qual movimentou 920 mil para economia do estado (FAO, 2014; IBGE, 2016).

Apesar da alta produtividade, os ecossistemas costeiros suportam uma ampla gama de atividades econômicas e de lazer e, assim, contribuem ao desenvolvimento das cidades litorâneas, região que sofre grande pressão antrópica gerando impactos pelo lançamento de diversos contaminantes, que podem ter efeito deletério na biota local (PINTO, 2011).

As enfermidades citadas na literatura atingem várias espécies de bivalves sendo relatado como patógenos, vírus, bactérias, fungos, protozoários, parasitos, além de neoplasias hemocíticas de origem desconhecida.

Além disso, o risco de doenças infecciosas oriundas do consumo de ostra constitui-se em um problema amplamente reconhecido há vários anos, pelas agências de saúde, devido à morfologia filtradora que apresenta a capacidade de reter contaminantes bióticos e abióticos, contribuindo para veiculação de agentes nocivos à saúde humana (BUTT; ALDRIDGE; SANDERS, 2004; GARCIA, 2005).

Na maioria dos países latino-americanos carecem de organização territorial, identificando as áreas de aquicultura, incluindo a classificação microbiológica da água, a classificação com base na presença e/ou ausência de doenças listadas pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) ou as leis em cada país. A isto se acrescenta a ausência

de regulamentos ou normas ambientais adequadas, para proteger as águas destinadas a aquicultura dos resíduos, os quais são descarregados no ambiente aquático (OIE, 2015).

A escassez de trabalhos publicados no Brasil no campo da patologia de moluscos possivelmente não reflete a situação patológica atual dos cultivos e bancos naturais (DA SILVA, 2008).

Diante deste desafio é de fundamental importância para que as agências reguladoras e os produtores possam desenvolver a partir dos dados desta pesquisa, estratégias de intervenção e controle de patologias e de contaminantes ao longo das cadeias de produção e comercialização, proporcionando a melhoria da sanidade das ostras beneficiadas, tornando o alimento comercializado nestes viveiros mais seguro.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Aquicultura

No Brasil a Política Nacional de Desenvolvimento Sustentável da Aquicultura e da Pesca foi sancionada pela Lei nº 11.959/2009 que objetiva promover o desenvolvimento sustentável da pesca e da aquicultura como fonte alimentar, emprego, renda e lazer, garantindo o uso sustentável dos recursos pesqueiros, bem como a otimização dos benefícios econômicos decorrentes, em harmonia com a preservação e a conservação do meio ambiente e da biodiversidade; o ordenamento, o fomento e a fiscalização da atividade pesqueira; a preservação, a conservação e a recuperação dos recursos pesqueiros e dos ecossistemas aquáticos; e o desenvolvimento socioeconômico, cultural e profissional dos que exercem a atividade pesqueira, bem como de suas comunidades (BRASIL, 2009a).

Desta forma, a aquicultura é uma das atividades que fazem parte do Desenvolvimento Sustentável<sup>1</sup> e é conceituada como a produção de organismos com hábitat predominantemente aquático, sob sistema de manejo, em qualquer um de seus estágios de desenvolvimento cujas espécies cultivadas incluem peixes, moluscos, crustáceos e plantas aquáticas, características de águas doces, salobras e marinhas (BARROSO et al., 2007; VALENTI, 2002).

A aquicultura é um dos sistemas de produção de alimentos com maior taxa de crescimento no mundo, o que coloca a indústria aquícola em foco pela grande oportunidade de produção de alimentos e de desenvolvimento de negócios (BARROSO et al., 2007).

Em 2013, a aquicultura mundial atingiu recorde de produção atingindo 70,2 milhões de toneladas e comum ritmo de crescimento relativamente maior na África (11,7%) e na América Latina e Caribe (10%), e atualmente fornece quase metade do pescado<sup>2</sup> para consumo humano. Espera-se um aumento de 62% na produção até 2030, devido à estabilização do desempenho produtivo (FAO, 2013; FAO, 2014).

Contribuindo para esse crescimento, o Brasil apresenta vantagens excepcionais para o desenvolvimento da aquicultura por possuir cerca de 8.500 Km de linha de litoral,

---

<sup>1</sup>Desenvolvimento Sustentável- é aquele que atende as necessidades do presente sem comprometer as possibilidades de as gerações futuras atenderem suas próprias necessidades (CMMAD, 1991).

<sup>2</sup>Pescado- denominação genérica que compreende os peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos de água doce ou salgada usados na alimentação humana (BRASIL, 1952).



conter 15 % da água doce disponível no mundo, um ecossistema diversificado e condições climáticas e geográficas favoráveis (ACEB, 2014; GONÇALVES, 2007; NASCIMENTO; MUNAWAR, 2000; OSTRENSKY; BORBHITTI; SOTO, 2008).

A partir de 1968 a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) passou a incluir nas estatísticas a produção aquícola brasileira, o que possibilitou avaliar a situação da indústria nacional, abordando o desempenho e tendências de outros países (BARROSO et al., 2007).

O Brasil ocupa no ranking a 12ª posição na produção mundial de pescado em cativeiro, sendo o segundo maior produtor de bivalves da América Latina e Caribe com produção de bivalves em 2014 de 22091,88 t movimentando 93,33 milhões (BRASIL, 2013a; FAO, 2014; IBGE, 2016).

Segundo o Ministério da Pesca e Aquicultura este segmento mobiliza 800 mil profissionais entre pescadores e aquicultores, e proporciona 3,5 milhões de empregos diretos e indiretos (MPA, 2014).

Paralelo a esses índices, nos últimos anos observa-se o aumento do consumo *per capita* de pescado no Brasil, o que torna cada vez mais dependente da disponibilidade dos produtos da aquicultura e da sua qualidade. A disponibilidade *per capita* mundial de pescado é de 19,2 kg/ano, no entanto, apesar do aumento de consumo, o Brasil teve média *per capita* de apenas 4,032 kg/ano, apresentando a região Nordeste consumo maior que a média nacional 4,965 kg/habitante/ano (FAO, 2014; IBGE, 2010; ROCHA et al., 2013a).

Deste modo, a aquicultura é uma atividade que vem se desenvolvendo progressivamente, impulsionada pela produção de moluscos, sendo um dos setores em expansão, principalmente devido à melhoria das técnicas de cultivo, como forma a expandir sua importância comercial e o seu papel no aumento da segurança alimentar e nutricional<sup>3</sup>, promovendo oportunidade de emprego e renda (OLIVEIRA, 2014; PORTELLA, 2005).

Segundo a FAO (2008), os moluscos, em especial os bivalves, são o terceiro maior grupo de organismos marinhos em termos de produção aquícola por serem economicamente e ecologicamente importantes componentes dos ecossistemas aquáticos

---

<sup>3</sup>Segurança Alimentar e Nutricional- acesso físico e econômico a alimentos suficientes, seguros e nutritivos para satisfazer as suas necessidades dietéticas e preferências alimentares para uma vida ativa e saudável (FAO, 1996).

e uma fonte relativamente barata de proteína animal em comparação com os peixes e crustáceos. Além de apoiar a aquicultura, as suas populações determinam a estrutura das comunidades bentônicas, a ciclagem de nutrientes servem como recursos de presas para níveis tróficos superiores e, em alguns casos, estabilizam e mantêm a qualidade da água nas linhas costeiras (COEN; BISHOP, 2015).

O cultivo de moluscos é uma atividade produtiva conhecida no mundo ocidental desde a época do domínio do Império Romano. No Brasil, essa é uma atividade com registros desde 1934, tendo sua comercialização fortemente difundida a partir de 1971 nas regiões Sudeste e Sul. A malacocultura, que se conceitua como toda a atividade de cultivo ou criação de moluscos para consumo humano, sejam estes marinhos, de águas doces ou terrestres, representa grande parte da produção mundial de produtos marinhos, especialmente por ofertar baixos custos para sua instalação, material de fácil obtenção, facilidade na captação de sementes, manuseio e, ao mesmo tempo um alto índice de rentabilidade, sendo uma alternativa para a pesca artesanal ou para manutenção e reposição dos estoques naturais (AGUDO; SILVA; SILVA, 2007).

Do ponto de vista socioeconômico, o desenvolvimento desse segmento se mostra como uma prática viável para reduzir a pressão sobre os estuários decorrente da coleta desordenada, contribuindo, assim, para a conservação desse ecossistema e, também, proporcionando alternativas econômicas para as comunidades pesqueiras, gerando renda e permitindo sua permanência em seu local de origem, uma vez que essa atividade aquícola possui uma grande identificação com os pescadores e marisqueiras (BAHIA PESCA, 2012; BARROS; BARBIERI, 2012; BRANDINI; SILVA; PROENÇA, 2000).

Entre os moluscos bivalves, as ostras destacam-se por seu valor nutricional e importância econômica, cujo cultivo feito em cativeiro surgiu a partir de um crescente aumento da demanda e da necessidade de preservação do meio ambiente, de forma que, ao longo dos anos, métodos de cultivo e tecnologias pós-colheitas foram aperfeiçoadas, com o objetivo de aumentar o volume e a qualidade da produção (PORTELLA, 2005). De acordo com o boletim estatístico de pesca e aquicultura brasileiro, esta é uma das atividades mais rentáveis e em expansão que teve incremento de produção de 1.174 t em 2008 para 1.233,7 t em 2011 na pesca extrativista continental (BRASIL, 2011).

## **2.2 Ostreicultura na Bahia**

Em 2014, a produção de moluscos bivalves na Região Nordeste atingiu 147,38 t, onde a Bahia despontou como o maior estado produtor dessa região e o quinto nacional

com 71,28 t, contribuindo com 48,36%, dessa produção, favorecido pelo extenso litoral de 1.188 km, cerca de 13% da costa brasileira, e pelo grande número de estuários. Os estuários caracterizam-se pela formação de mangues arbóreos, ricos em numerosas espécies animais utilizáveis na alimentação e, portanto, de relevância sócio-econômica (BAHIA PESCA, 1994; IBGE, 2016).

Na última década houve um incremento no cenário da ostreicultura na Bahia com a implantação de cultivos em áreas, principalmente estuarinas, como no Sul, Baixo-Sul e Baía de Todos os Santos (BTS), bem como a retomada de pesquisas com ações e articulações entre instituições público-privadas e as universidades (OLIVEIRA, 2014).

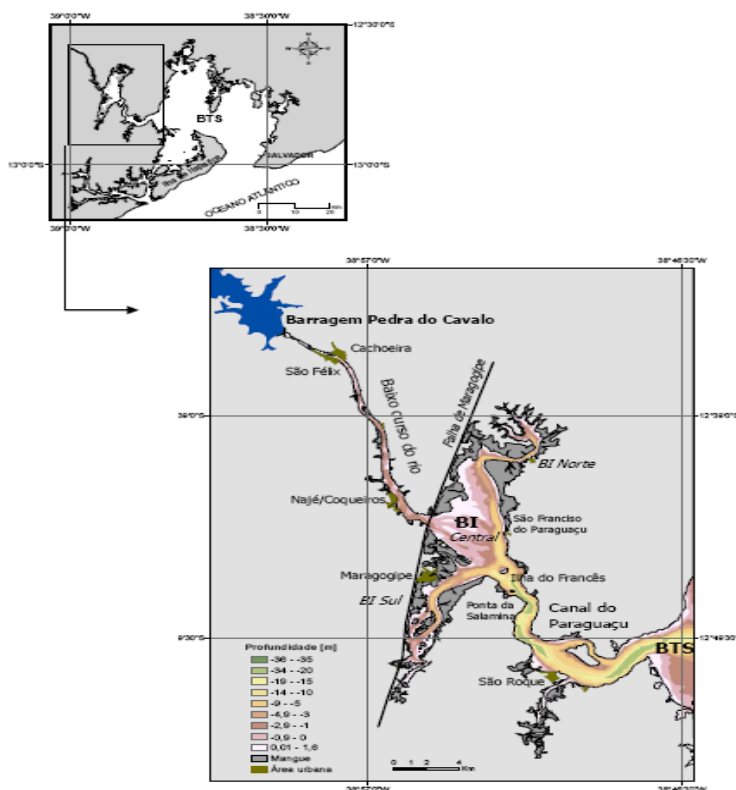
Além disso, o estado conta com a Rede de Ostreicultura Familiar Solidária da Bahia que atua na articulação entre as comunidades ribeirinhas com o foco no fortalecimento do trabalho cooperativo, por meio da capacitação dos produtores, articulando ações de promoção da ostreicultura, monitoramento ambiental, controle sanitário do produto, consumo e comercialização sustentável de ostras com a valorização dos saberes tradicionais e o respeito à diversidade de gênero e etnia (ACCIOLY et al., 2012).

Dentre essas regiões estuarinas destacam-se a BTS que ocupa cerca de 800 km<sup>2</sup> e concentra atividades portuárias e industriais que afetam, sobretudo, a ecologia da região em decorrência da poluição de origem urbana e industrial, acentuada por um intenso processo de ocupação desordenada que vem contaminando e destruindo os manguezais (BAHIA PESCA, 1994). Às margens da BTS, nos municípios de Cachoeira e Maragogipe, situa-se a Reserva Extrativista (RESEX) Marinha Baía do Iguape, onde se concentra a segunda maior produção de ostra em cativeiro do estado. Essa RESEX apresenta uma área aproximada de 10.082,45 ha composta por três setores: Norte, Central e Sul, marcada por colinas e planícies fluvio-marinhas.

Nos manguezais predomina o mangue branco de *Laguncularia racemosa* (L.) Gaert.f, e nas águas internas que favorecem a existência de um grande número de espécies de pescado, trazendo possibilidades produtivas aos agricultores familiares vinculados à pesca, à coleta de marisco e ao cultivo de ostra (BRASIL, 2009b; CARVALHO, 2000; GENZ, 2006; HATJE; ANDRADE, 2009).

Os povoados pertencentes a essa RESEX foram reconhecidos pela Fundação Palmares e pelo INCRA, em junho de 2004, como sendo comunidades remanescentes de quilombo, com a titulação de posse das terras. A vida produtiva é estruturada em torno da

pesca artesanal e da coleta de marisco, da agricultura e das pequenas criações de animais para subsistência e para geração de renda (FARIA, 2006).



**Figura 1.** Localização geográfica da RESEX Marinha Baía do Iguape, Bahia.

Fonte: Genz, 2006

Atualmente, os bivalves beneficiados nessa região, cerca de 10 toneladas/ano, atende a subsistência de famílias das comunidades do entorno da Baía do Iguape e abastecem o mercado de cidades circunvizinhas como Cachoeira, São Félix, Maragogipe e Santo Amaro, além de boa parte do cultivo da ostra ser destinada aos estabelecimentos produtores de alimentos da cidade de Salvador (CRUZ, 2012; FREITAS et al., 2016; IBGE, 2016).

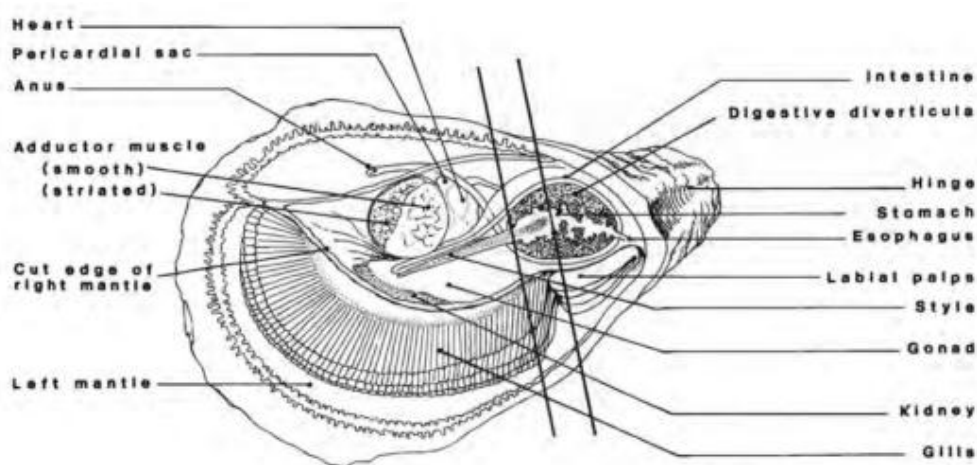
### 2.3 *Crassostrea rhizophorae*

A ostra *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1928), conhecida como ostra nativa ou ostra do mangue ocorre naturalmente no litoral do Caribe ao Uruguai e seus principais habitats são as raízes aéreas do *Rhizophorae mangle* de enseadas, baías e estuários, e os substratos duros como rochas no médio litoral (RIOS, 1994).

As espécies do gênero *Crassostrea* são consideradas eurihalinas e euritéricas podendo habitar diferentes ambientes, sobretudo estuários, onde há interação entre a água salobra e doce, ocorrendo grandes variações de salinidade e com grande aporte de matéria orgânica e alta produtividade primária, sendo recomendado o cultivo suspenso em estruturas fixas em travesseiros, as quais são geralmente instaladas na zona entremarés, cuja vantagem de não expor os moluscos aos predadores do fundo, mantendo a ostra em imersão e expostas conforme a flutuação da maré, adquirindo desta forma maior resistência e permanecendo vivas por mais tempo durante a comercialização, já que mantêm água em seu interior (PEREIRA et al., 2007; SILVA; SILVA, 2007).

As ostras apresentam maior importância econômica devido ao valor nutricional da carne, decorrente do teor de minerais (fósforo, cálcio, ferro e iodo), glicogênio, vitaminas (A, B1, B2, C e D) e proteínas de alto valor biológico, além do uso da concha como matéria prima na fabricação de produtos artesanais, industriais e medicinais (CHRISTO, 2006; OPAS, 2009; PACHECO et al., 2004).

Esses moluscos bivalves apresentam um corpo mole coberto por um manto protegido por duas valvas de carbonato de cálcio, valva inferior côncava e a superior plana, as quais são geralmente alongadas podendo sofrer variações dependendo do seu ambiente de crescimento. Estão unidas em uma das extremidades por um ligamento dobradiço e tem o seu fechamento coordenado pelo músculo adutor (GALTISOFF, 1964; PEREIRA et al., 1998; WHEATON, 2007).



**Figura 2.** Estrutura anômica de ostra do gênero *Crassostrea*.

**Fonte:** Howard e Smith, 2004.

As espécies do gênero *Crassostrea* são classificadas como ovulíparas ou não incubatórias. São animais hermafroditos sequenciais, sendo a gônada primária bissexual, isto é, em um mesmo indivíduo, inicialmente, maturam as células de um sexo e após uma

desova maturam as de outro, assim, ocorre a troca de sexo após cada período de desova (GALTSOFF, 1964; PEREIRA et al., 1998). A reprodução ocorre a partir da fecundação e com o desenvolvimento embrionário forma-se uma larva com o formato “D” chamada véliger ou larva D que permanece de 15 a 20 dias na coluna d’água. Em seguida, as larvas sofrem modificações morfológicas passando para o estágio de pedivéliger que permite a fixação, geralmente na raiz de mangue, e posteriormente, sofrem metamorfose e passam a ser chamadas de sementes, ou juvenis, onde se desenvolvem até a forma de um animal adulto (HELM; BOURNE; LOVATELLI, 2004).

Uma característica estrutural dessa classe é o grande desenvolvimento das brânquias, que são responsáveis pela respiração e filtração do alimento. São animais filtradores que se alimentam de matérias orgânicas e inorgânicas, fitoplâncton e partículas em suspensão na coluna d’água com capacidade de filtrar até 10 litros de água por hora e cerca de 200 litros por dia, podendo absorver e bioacumular patógenos e contaminantes químicos em geral presente no seu habitat. As partículas de detritos e os microrganismos presentes na corrente ventilatória são retidos nos filamentos branquiais e conduzidos, através de batimentos ciliares, até os palpos labiais e à boca, por isto são amplamente utilizados no monitoramento de contaminantes em águas naturais e estuarinas, atuando como biomonitores ambientais (MAMEDE, 2012; PEREIRA et al., 2006; RUPPERT; BARNES, 1996; WARD, 1996).

Deste modo, são vistos como alimento de alto risco, estando amplamente associados a casos de intoxicação e infecção alimentar, ocasionados por manipulação inadequada desde a captura até o processamento, e pelo ambiente de cultivo através da qualidade da água, e presença de poluentes (DELGADO DA SILVA et al., 2002; ICMSF, 2000; RIBEIRO et al., 2009).

#### **2.4 Sanidade de ostra**

As condições do habitats estuarinos e marinhos fornecidas aos moluscos estão cada vez mais sob a ameaça de uma multiplicidade de fatores de estresse e representam riscos a segurança alimentar. Esse é um problema global cada vez mais relevante e que tem demandado o entendimento dos impactos de contaminantes e doenças nos moluscos, de forma a reduzir as perdas de produção decorrentes de doenças (COEN; BISHOP, 2015; SHINN et al., 2015).

Em todo mundo são relatadas enfermidades que afetam os moluscos bivalves comprometendo o extrativismo e a produção, gerando mortalidade em massa e impactos econômicos (BOEHS et al., 2012).

Doenças emergentes ou doenças em rápida expansão em extensão ou incidência geográfica estão relacionadas diretamente com as alterações climáticas, fatores de estresse antropogênicos, contaminantes como metais e antimicrobianos, e ainda pH, CO<sub>2</sub>, temperaturas e salinidade extremas e pouco oxigênio dissolvido (COEN; BISHOP, 2015).

Segundo KINNE (1983) a enfermidade é um desvio negativo do estado normal de um organismo, podendo afetar a dinâmica dos processos metabólicos, reduzir o potencial de crescimento, de reprodução e de resistência ao estresse, conseqüentemente, a sobrevivência do animal, de forma a alterar as funções e estruturas dos ecossistemas e modificar a dinâmica das populações.

Ostras são animais bastante delicados e particularmente vulneráveis a doenças e poluição industrial. Uma variedade de órgãos é afetada pelos agentes patogênicos e, em cada caso, o mecanismo de patogênese pode ser diferente, causando lesão e destruição de tecido, competição por nutrientes, metabolitos tóxicos, ou a interrupção de processos metabólicos e vias biossintéticas (FIGUERAS; FISHER, 1988).

Segundo a FAO (2008) não há informação adequada sobre agentes patogênicos e enfermidades que afetam as espécies nativas de moluscos bivalves. Esse é um dos principais entraves para a consolidação da malacocultura, colocando em alto risco o futuro do desenvolvimento de espécies nativas cultivadas atualmente na América Latina. No Brasil, estudos sobre enfermidades nesses e em outros organismos aquáticos cultiváveis ainda são escassos, mas esta realidade tem se modificado nas últimas décadas em função do aumento e desenvolvimento de sistemas de cultivo e da exploração dos recursos naturais pesqueiros, principalmente nos estados de Santa Catarina, Ceará e Bahia (BOEHS et al., 2012; SABRY; GESTEIRA; BOEHS, 2007).

A espécie *C. rhizophorae* está sendo cultivada no estado da Bahia nos últimos anos, no entanto, há pouca informação sobre as doenças potenciais que podem afetar este bivalve, quer de criação ou no ambiente natural (BRANDÃO; BOEHS; SILVA, 2013). Portanto, ressalta-se a necessidade de incentivar investimentos em pesquisas na ostreicultura, para conhecer os potenciais patógenos presentes na região que possam resultar em mortalidades e epizootias, bem como obter informações que viabilizem a exportação desses moluscos de importância econômica (FAO, 2008; RENAULT, 1995; SABRY, 2010). Além disso, o monitoramento frequente da saúde dos moluscos, tanto em

estoques naturais como em cultivos é primordial para a detecção de patógenos e também para a adoção de estratégias de controle das enfermidades (SABRY, 2010).

As enfermidades citadas na literatura atingem várias espécies de ostras sendo relatado como patógenos, vírus, bactérias, fungos, parasitos, além das alterações e anomalias desencadeadas pela presença de substâncias tóxicas no ambiente aquático.

A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) estabelece como enfermidades de notificação obrigatória para ostras infecções por *Bonamia ostreae*, *Bonamia exitiosa*, *Marteilia refringens*, *Perkinsus marinus* e *Perkinsus olseni* (OIE, 2015).

#### 2.4.1 Micro-organismos

Devido à morfologia de animal filtrador, as ostras obtêm seu alimento da coluna de água pela filtração de pequenas partículas materiais apresentando a capacidade de reter microrganismos. Aproximadamente 75% das espécies bacterianas presentes no seu ambiente permanecem viáveis no trato digestivo dos bivalves, desta forma, as ostras abrigam uma rica e variada microbiota (BUTT; ALDRIDGE; SANDERS, 2004; FARIAS, 2008).

Dentre os microrganismos absorvidos do ambiente aquático pelas ostras ressaltam-se as bactérias nocivas aos bivalves como as pertencentes ao gênero *Vibrio*, *Rickettsiae* e *Chlamydiae* (KINNE, 1983), e espécies patogênicas ao homem, como rotavírus (SANTOS et al., 2002), vírus da hepatite A (HAV) (EVANGELISTA-BARRETO; SOUSA; VIEIRA, 2008), bactérias como *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* (RISTORI et al., 2007), *Pseudomonas*, *Moraxella/Acinetobacter*, *Serratia* sp., *Proteus* sp., *Clostridium* sp., *Bacillus* spp, *Salmonella* sp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (VIEIRA, 2004).

A microbiota presente nas ostras costuma refletir as condições do ambiente, podendo ser influenciada pela temperatura e pela salinidade da água de cultivo, pois as taxas de filtração são aceleradas por esses fatores, além disto, o método de coleta das ostras, a distância entre o local de cultivo, as áreas poluídas e as condições de armazenamento também exercem grande influência sobre sua qualidade sanitária (FARIAS, 2008; FELDHUSEN, 2000).

Cerca de 95% dos coliformes existentes nas fezes humanas e de outros animais são *E. coli* e, por não fazer parte da microbiota normal do pescado é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido, conseqüentemente, indicador de condições higiênico-



sanitárias do local de captura do molusco e de manejo, pois satisfaz todas as exigências de um indicador ideal de poluição sendo sua presença sugestiva da existência de micro-organismos patogênicos (BARBOSA, 2013; FRANCO; LANDGRAF, 2008).

As bactérias relacionadas às Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) em humanos, como *E. coli*, podem se manter viáveis mesmo após a ingestão pelas ostras, devido à adaptação ao ambiente marinho, aos mecanismos de resistência associados à degradação enzimática e ao uso do ambiente intestinal do hospedeiro como fonte nutricional por esses micro-organismos. Este fato justifica as altas contagens bacterianas em moluscos mesmo quando as contagens no ambiente aquático não indicam restrições para coleta e consumo dos bivalves (FARIAS, 2008; SILVA et al., 2003).

A ingestão de ostras, cruas ou levemente cozidas, é uma prática que vem aumentando progressivamente em todas as regiões litorâneas do Brasil, devido às riquezas dos recursos naturais do ecossistema aquático (PEREIRA, 2003). A maioria das incidências de surtos associados ao consumo desses moluscos tem sido reproduzida no mundo todo desde 1898, especialmente relacionados ao seu consumo cru, que favorece a colocação no topo da lista de alimentos associados com DTA (RIPPEY, 1994; SANDE et al., 2010; VIEIRA, 2004).

Esse problema de saúde pública é amplamente reconhecido há vários anos, tanto pela indústria de alimentos, quanto pelas agências de saúde. Sendo assim, a Organização Panamericana de Saúde realiza o monitoramento e classifica os surtos de DTA ocorridos nos países por meio do Sistema Regional de Informação sobre Vigilância Epidemiológica das Enfermidades Transmitidas por Alimentos (SIRVETA). Segundo dados deste Sistema ocorreram 1004 surtos na América do Sul causados pela ingestão de moluscos, a maioria com agente etiológico não identificado (OPAS, 2015).

Dados epidemiológicos do Ministério da Saúde apontam que o pescado é responsável por 1,8% (n=92) dos surtos notificados no Brasil de 2000 a 2014, sendo aparentemente inexpressivos devido à subnotificação dos casos, uma vez que surtos de DTA são de notificação compulsória (BRASIL, 2014). Segundo revisão de SANTOS (2010) são poucos os casos de surtos registrados envolvendo pescado e derivados, a maioria deles são causados por *Vibrio* spp. e pela toxina botulínica.

Em 1816, Pasquier relatou o caso de febre tifoide em grupo de franceses como primeiro surto registrado relacionado ao consumo de ostras cruas (POTASMAN; PAZ; ODEH, 2002).

Dados da literatura apontam que a maior epidemia associada ao consumo de moluscos envolvendo mais de 300.000 casos de hepatite A, ocorreu em Shangai - China, em 1988, causada pelo consumo de moluscos crus capturados de região portuária contaminada por esgotos domésticos (EVANGELISTA-BARRETO; SOUSA; VIEIRA, 2008).

Burkhardt e Calci (2000) investigando 1.266 casos de surtos associados a vírus Norwalk em moluscos entre 1991 e 1998, identificaram que 78 % destes ocorreram devido ao consumo de ostras capturadas na Costa do Golfo, Estados Unidos.

Em estudo em Cananéia, São Paulo, 60% das ostras apresentaram *E. coli* O157:H7 e 10% *Salmonella* (RISTORI et al., 2007).

Vieira, Vasconcelos e Carvalho (2007) avaliando a qualidade de ostras do estuário do Rio Jaguaribe-CE quantificaram bactérias do grupo coliformes termotolerantes com variações de <1,8 a 430 NMP/g e *Vibrio* sp. 330 a >1600 NMP/g, estando as amostras dentro dos padrões de qualidade do *The European Union Shellfish Quality Assurance Programme* (EUSQAP).

Em prospeções na costa de Florianópolis-SC para avaliar a qualidade higiênico-sanitária em ostras *Crassostrea gigas* de fazendas marinhas, os autores observaram contagens de *E. coli* <  $9 \times 10^1$  NMP/g, demonstrando que as ostras dessa região são seguras para consumo, segundo os indicadores microbiológicos (PEREIRA et al., 2006; RAMOS et al., 2010).

Observando elevadas contagens de coliformes totais e *E. coli* em ostras do Complexo Estuarino de Paranaguá-PR, Kolm e Absher (2008) constataram que as ostras coletadas no ambiente e no Mercado Municipal de Paranaguá não podem ser consumidas cruas sem prévia depuração devido a sua baixa qualidade microbiológica.

Estudos realizados na Baía do Iguape-BA determinaram os aspectos sanitários das *C. rhizophorae* e constataram contaminação por *Vibrio parahaemolyticus* (< 3,0 a  $3,5 \times 10^2$  NMP/g) (RODRIGUES; CARVALHO FILHO, 2011), por *E. coli* (< 10 a  $2,4 \times 10^5$  UFC/g) (FREITAS et al., 2014), e *Salmonella* sp. em 8,3% das amostras (EVANGELISTA-BARRETO et al., 2014), demonstrando que as ostras cultivadas nesta região possuem grande potencial de risco àqueles que consumirem estes moluscos crus.

Além dos aspectos patológicos ao homem, algumas bactérias são patogênicas aos bivalves, comprometendo o extrativismo e a produção, acarretando em impactos socioeconômicos, uma vez que esses são moluscos de maior interesse econômico (BOEHS et al., 2012).

Os procariotos pertencentes ao gênero *Rickettsia*, são bactérias, de importância na patologia de bivalves marinhos, as quais podem causar ao molusco reação inflamatória e desorganização da arquitetura das brânquias, infiltração hemocítica, hipertrofia celular, destruição do citoplasma e lise celular e ruptura dos túbulos digestivos (CEUTA, 2010; COVA et al., 2015).

Segundo Fryer e Lannan (1994) essas infecções são frequentemente benignas em animais adultos, embora a tensão resultante de uma carga infecciosa elevada tenha efeito deletério sobre a saúde geral do hospedeiro, principalmente quando há estresse ambiental.

Embora a correlação entre rickettsiose em humanos e o consumo de pescado ainda não esteja bem elucidada Peacock, Ormsbee e Johnson (1971), Renault (1995), e Azevedo e Villalba (1991) ressaltam uma atenção especial ao consumo de ostras cruas que podem estar contaminadas por esses micro-organismos.

Organismos assemelhados a *Rickettsiae* (RLOs) presente em ostras foram registrados em estudos na Espanha, França, Argentina, América Central e China (AZEVEDO; VILLALBA, 1991; CREMONTE; FIGUERAS; BURRESON, 2005; PEACOCK; ORMSBEE; JOHNSON, 1971; RENAULT; COCHENNEC, 1994; SUN; WU, 2004; WU; PAN, 2000).

No Brasil, foram identificados RLOs em ostra nos estados de Santa Catarina, Bahia, Ceará e Sergipe com prevalências que variaram de 3,3 a 30%, não havendo, na maioria dos casos, danos graves ao hospedeiro (AZEVEDO; VILLALBA, 1991; BRANDÃO; BOEHS; SILVA, 2013; DA SILVA; MAGALHÃES; BARRACCO, 2012; DA SILVA et al., 2015; PONTINHA, 2009; SABRY, 2010; ZEIDAN, 2011).

Outras bactérias intracelulares referidas na literatura são do gênero *Chlamydia*, cuja presença nas células epiteliais das glândulas digestivas, manto e brânquias de ostras foram relatadas primeiramente por Harshbarger, Chang e Otto (1977) em estudo na Baía de Chesapeake-USA, e identificado por Nascimento et al. (1986) na Baía de Todos os Santos-Brasil, por Renault e Cochenec (1995) na Costa do Sul da França, e por Crockford e Jones (2012) no litoral da Austrália.

Muitas bactérias patogênicas têm desenvolvido estratégias sofisticadas para contornar os mecanismos de defesa do hospedeiro, encontrando, assim, nichos exclusivos, onde eles podem sobreviver, e do qual eles podem estabelecer a infecção sistêmica bem sucedida (LABREUCHE et al., 2006). É o caso de bactérias pertencente ao gênero *Vibrio*, que são capazes de persistir em tecidos e fluidos de bivalves como

observado por Labreuche et al. (2006) em *Crassostrea gigas* proveniente de Aber-Benoît-França.

#### 2.4.2 Parasitos

Parasitos do grupo de protozoários (*Ciliophora*, *Apicomplexa*, *Perkinsozoae* *Microspora*) e metazoários (*Turbellaria*, *Digenea*, *Cestoda*, *Polychaeta*, *Pinnotheridae* e *Copepoda*) estão entre os mais importantes causadores de enfermidades em moluscos marinhos e vários causam mortalidades em massa (BOEHS et al., 2012).

A associação ecológica entre espécies pode ser considerada como parasitismo, cujo parasita, geralmente o menor das duas espécies, é metabolicamente dependente do hospedeiro (ANDERSON; MAY, 1978).

De acordo com Figueras e Fisher (1988), os principais patógenos de ostras que causam a mortalidade e epizootia são os parasitas internos, os quais entram ou corroem quimicamente a camada epitelial do hospedeiro, por meio de um local vulnerável, geralmente ao longo das brânquias, manto, boca ou sistema digestivo para ocasionar o parasitismo.

Embora não se tenha relatos da ocorrência de surtos de protozooses relacionados à ingestão de moluscos, a ocorrência de infecções de diferentes espécies de bivalves por *Cryptosporidium*, *Giardia* e *Toxoplasma* já foram referidas em diversos países (FAYER; DUBEY; LINDSAY, 2004; LEAL et al., 2008).

Para a expansão do cultivo de ostras em comunidades das regiões costeiras do Brasil destaca-se a necessidade de desenvolver estudos relativos a doenças em moluscos bivalves causadas por parasitos, uma vez que o aumento do cultivo pode desencadear a disseminação desses organismos, através da proximidade e densidade dos espécimes (COVA et al., 2015).

A poluição do meio aquático e fatores antropogênicos podem afetar diretamente a fauna de parasitos, agindo sobre as fases do parasito de vida livre ou em ectoparasitos ligados ao hospedeiro, ou indiretamente, agindo sobre o intermediário ou a população de hospedeiro definitivo (MÖLLER, 1987). Para sistemas parasito-hospedeiro em ambientes estuarinos e marinhos, fatores abióticos, como temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, também são particularmente críticos na formação das interações parasito-hospedeiro (COEN; BISHOP, 2015).

No Brasil, o primeiro registro conhecido de parasitos em bivalves foi feito por Narchi em 1966 com a identificação de bucefalídeos em *Anomalocardia brasiliana* (BOEHS et al., 2012).

Apesar da maioria dos parasitos não apresentarem danos ao hospedeiro, diversos autores em todo mundo relataram deformações e erosões das brânquias, desencadeando o comprometimento das suas funções; reações inflamatórias; desorganização, hiperplasia e necrose de tecidos; ruptura de epitélio do tubo digestivo; inibição do desenvolvimento gonadal; castração parasitária; lesões na concha; e xenomas associados à infecção parasitária nas ostras (BOWER; MCGLADDERY; PRICE, 1994).

Organismos do grupo dos protozoários estão entre os mais importantes causadores de enfermidades em moluscos marinhos e vários causam mortalidades em massa (BOEHS et al., 2012). Esse grupo de parasito se espalhou durante os anos 70 e 80, reduzindo drasticamente a produção nas principais zonas de cultivo de bivalves na Europa e forçando o desenvolvimento de estratégias de gestão para minimizar as perdas (ABOLLO et al., 2008 ).

Shinn et al. (2015) estimaram que no Reino Unido os parasitos são responsáveis por uma perda anual de 5,8-16,5% do valor da produção aquícola em todas as espécies, em sistemas de água doce e marinhos.

Em todo o mundo, bivalves têm sofrido mortes em massa provocadas por protozoários e metazoários que afeta animais jovens e adultos. Dentre os relatos de protozoários em ostras estão *Perkinsus* sp. (CREMONTE; BALSEIRO; FIGUERAS, 2005; SOUDANT; CHU; VOLETY, 2013; VILLALBA et al., 2004), *Bonamia exitiosa* (ABOLLO et al., 2008 ), *Bonamia ostreae* (CULLOTY; MULCAHY, 2007; FRIEDMAN; PERKIN, 1994) *Haplosporidium nelson* (ANDREWS, 1984; BURRESON; STOKES; FRIEDMAN, 2000) e *Marteilia refringens* . Quanto aos metazoários diversos autores apontam sua incidência em ostras como *Urastoma* sp., *Bucephalu* ssp., *Polydora* sp. e *Tylocephalum* sp. (AGUIRRE-MACEDO; KENNEDY, 1999; AGUIRRE-MACEDO et al., 2007; FLEMING, 1986; HANDLEY; BERGQUIST, 1997; SUJA et al., 2014).

Nas últimas décadas, os estudos realizados no Brasil possibilitam estabelecer um panorama de parasitos em moluscos, principalmente os de interesse de exportação e cultivo como *Crassostrea rhizophorae* e *Crassostrea gigas* (BOEHS et al., 2012).

Avaliando parasitos em ostras *C. rhizophorae* e *C. gigas* no litoral Santa Catarina, Sabry e Magalhães (2005) e Da Silva, Magalhães e Barracco (2012) observaram presença

de protozoários *Nematopsis* sp. e *Trichodina* sp., e metazoários turbelários *Tylocephalum* sp. e *Polydora* sp.

Foi evidenciado em estudo nos estuários de Rio Formoso e Barra de Catuama, Pernambuco, 100% de ocorrência de protozoários *Nematopsis* sp. em ostras (BRITO et al., 2010).

No Ceará, estudos com ostra de mangue *C. rhizophorae* apontaram presença de parasitos *Nematopsis* e *Tylocephalum* no estuário do Rio Jaguaribe (SABRY; GESTEIRA; BOEHS, 2007), e de protozoários *Nematopsis* sp. *Trichodina*, *Sphenophrya*, *Ancistrocoma*, *Perkinsus* sp. e metazoários *Polydora polychaete*, *Urastoma* e *Tylocephalum* no estuário do Rio Pacoti (SABRY et al., 2013; SABRY et al., 2009).

A primeira infecção de *C. rhizophorae* por *Perkinsus marinus* na América do Sul foi relatada por Da Silva et al. (2013) em estudo no estuário do rio Paraíba cuja prevalência mensal variou de 70 a 100%.

Queiroga et al. (2015) realizando estudo histopatológico em *C. gasar* provenientes do estuário do Rio Mamanguape–Paraíba, identificaram *Perkinsus* sp., *Nematopsis* sp., *Ancistrocoma* sp., *Urastoma* sp. e *Tylocephalum* sp.

Em Sergipe, no estuário do Rio São Francisco, os resultados da pesquisa mostraram que as ostras *C. gasar* selvagens e cultivadas tiveram altas prevalências de *Perkinsus marinus* e *Perkinsu solseni*, sendo observado maior infecção entre as amostras de ostras cultivadas (DA SILVA et al., 2014).

Diversos estudos realizados no estado da Bahia ao longo das últimas décadas apontam a prevalência de inúmeras espécies de parasitos em ostras, os quais foram associados a danos e mortalidade nos animais.

Na BTS (Bahia), Nascimento et al. (1986) identificam em *C. rhizophorae* os parasitos *Nematopsis* sp., *Ancistrocoma* sp., *Bucephalu* ssp. e *Tylocephalum* sp. ao longo de cinco anos de estudo na região.

*Sphenophrya* sp. (Ciliophora), *Nematopsi* ssp. (Apicomplexa), *Ancistrocoma* sp. (Ciliophora), *Urastoma* sp., (Turbellaria), *Tylocephalum* sp. (Cestoda) e *Bucephalus* sp. (Digenea) foram observados em *C. rhizophorae* no litoral sul da Bahia (ZEIDAN; LUZ; BOEHS, 2012).

Brandão, Boehs e Silva (2013) investigando a saúde de ostras da espécie *C. rhizophorae* de estoques naturais dos estuários dos rios Maraú e Graciosa observaram *Ancistrocoma*, *Trichodina*, *Sphenophrya*, *Nematopsis*, *Urastoma*, *Bucephalus* em fase esporocística, metacercária inespecífica e metacestóide de *Tylocephalum*.

Em estudo com parasitos associados à *C. rhizophorae* provenientes do estuário do rio Graciosa, Bahia, foram observadas infestações do poliqueta *Neanthes succinea* em 4% das ostras, e identificados os protozoários *Nematopsis* sp. e *Ancistrocoma* sp.; o turbelário *Urastoma* sp.; o metacestóide *Tylocephalum* sp. além de um platelminto não identificado (COVA et al., 2015).

Luz e Boehs (2015) identificaram os protozoários *Sphenophrya* sp., *Nematopsis* sp., *Perkinsus* sp., e os metazoários *Urastoma* sp., *Bucephalus* sp., *Tylocephalum* sp. e um cepepoda não identificado em *C. rhizophorae* de cativeiro e de estoques naturais da Baía de Camamu-BA.

#### 2.4.3 Metais tóxicos

Ao longo do século XX, os ecossistemas aquáticos têm sofrido impacto devido à presença de contaminantes decorrentes principalmente da descarga de esgoto urbano, deposição atmosférica, lixiviação e descarte de resíduos industriais. O desenvolvimento urbano, a agricultura e a industrialização têm promovido um aumento contínuo da contaminação por metais nos ecossistemas aquáticos (CHIBA; PASSERINI; TUNDISI, 2011).

Através das influências limnológicas e climáticas, muitos poluentes ambientais como os metais tóxicos podem contaminar o ambiente estuarino trazendo sérias consequências para a vida deste ecossistema e provocando efeitos adversos nos seres humanos (CALDAS; SANCHES FILHO, 2013).

Alguns contaminantes químicos, orgânicos e inorgânicos, têm a capacidade de persistir no ambiente, bioacumular nos tecidos dos animais aquáticos e causar toxicidade aos organismos. As principais classes de elementos e compostos que pertencem a esta categoria são alguns metais como mercúrio (Hg), cádmio (Cd) e chumbo (Pb), bem como os poluentes orgânicos persistentes (HILL, 2004). Estes elementos têm grande capacidade de formar complexos com substâncias orgânicas e pode atingir concentrações até mil vezes maior do que em tecidos biológicos nas matrizes ambientais, isto é, água e sedimentos (SOUZA; WINDMÖLLER; HATJE, 2011).

Organismos bivalves estão no segundo nível trófico dos ecossistemas aquáticos e têm capacidade de acumular os elementos traços essenciais e não essenciais. Vários estudos têm relatado o potencial do uso de organismos bivalves, particularmente mexilhões e ostras, como biomonitores ou biomarcadores para a detecção das

contaminações por metal em sistemas aquáticos devido à interação dos bivalves com o sedimento de manguezais e sua forte capacidade de regular a concentração interna de elementos essenciais a partir de quantidades crescentes no ambiente (BARROS; BARBIERI, 2012; PÁEZ-OSUNA; OSUNA-MARTÍNEZ, 2015).

Wang et al. (2011) apontam que a exposição de um metal pode eventualmente levar a alterações na acumulação de outro metal com propriedades físico-químicas semelhantes. Dessa forma, o potencial de bioacumulação das ostras pode ser observado pela persistência da concentração dos metais tóxicos no organismo, sugerindo diferentes graus de fixação e pouca e/ou nenhuma eliminação, mesmo após longo período de translocação para estações com níveis seguros de substâncias químicas (M.WALLNER-KERSANACH et al., 2000; MEYER; HAGEN; MEDEIROS, 1998).

Desde meados dos anos 1970, os programas de avaliação ambiental em todo mundo têm utilizado moluscos bivalves como agentes de monitoramento de contaminantes químicos em áreas marinhas, empregados como organismos sentinelas em estudos de monitoramento de qualidade do ambiente nas regiões costeiras, sendo esses bivalves também utilizados na avaliação da qualidade da água no Brasil na última década (TORRES et al., 2012b).

Devido à importância das ostras na alimentação de populações costeiras, a avaliação dos teores de metais é de suma importância social, principalmente pelo fato de tal bivalve vir a ser muito mais consumido pela população em geral do que outros mariscos, visto o crescente interesse comercial em torno dessa atividade (BARROS; BARBIERI, 2012).

Em todo o mundo há estudos apontando a contaminação de ostras por metais, cujos valores dosados excedem os limites máximos permitidos para consumo humano, como os elevados valores de cádmio na costa do Qatar (AL-MADFA; ABDEL-MOATI; AL-GIMALY, 1998), na Baía de Cartagena (PABA; ANGULO; PADILLA, 2008) e na Costa da Coreia (MOK et al., 2015); cobre e zinco no Golfo da Califórnia (PÁEZ-OSUNA; OSUNA-MARTÍNEZ, 2015) e na Costa da Croácia (BILANDZIC et al., 2016); cádmio, chumbo e zinco na Indonésia (SARONG et al., 2015).

No Brasil, de um total de 25 regiões metropolitanas, 14 encontram-se em estuários que abrigam os principais polos petroquímicos e sistemas portuários do país, responsáveis por significativas influências na degradação da qualidade dos ambientes e animais aquáticos (QUINÁGLIA, 2006). Cerca de 10 bilhões de litros/ano de efluentes



industriais e 8 bilhões de litros/ano de esgoto sem tratamento são despejados em ecossistemas aquáticos naturais (NASCIMENTO; MUNAWAR, 2000).

A partir de uma avaliação geral, Torres et al. (2012b) concluíram que ostras *C. rhizophorae* criadas em cativeiro apresentou maior índice de bioacumulação quando comparadas as ostras dispostas naturalmente no estuário de Santos-SP, e Barros e Barbieri (2012) observaram nas ostras *C. brasiliiana*, manejadas e comercializadas no Estuário de Cananeia-SP, maior bioacumulação de Pb frente aos outros metais analisados.

Em estudo na Baía de Sepetiba-RJ com *C. rhizophorae* foram observadas altas concentrações de zinco e cádmio no tecido dos animais atingindo valores de 80.724 e 29,82  $\mu\text{g.g}^{-1}$ , respectivamente, sendo esta região considerada pelos autores uma das baías mais contaminadas do mundo (REBELO; REBOUÇAS; PFEIFFE, 2003).

Tureck et al., (2006), estudando a concentração de metais tóxicos em tecidos de ostras *Crassostrea gigas* cultivadas na Baía da Babitonga-SC, observaram amostras com teores de concentração dos metais acima do permitido pela legislação brasileira para níquel (100%), arsênio (83,3%), cobre (16,7%) e cádmio (12,5%).

Ao analisar metais tóxicos em ostras cultivadas no estuário do Rio Vaza Barris-SE, foram encontrados índices de zinco (Zn) de até 50 vezes acima dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, sendo recomendados monitoramento desse metal na região estuarina (SIQUEIRA, 2008).

No estuário de Potengi-RN, as ostras estudadas apresentaram elevadas concentrações de zinco, cobre e chumbo, representando um risco à saúde pública devido ao seu teor de metais tóxicos, uma vez que são fonte alimentar da população local (SILVA et al., 2001).

Existem vários relatos de contaminação de água e organismos aquáticos por metais no estado da Bahia. Em alguns deles foi evidenciada a ocorrência de bioacumulação em moluscos, como por exemplo, os impactos ambientais da BTS provocada pelo despejo de esgoto urbano e efluentes da indústria petroquímica e mineradora, principalmente pela contaminação por chumbo, cádmio e zinco, sendo o estudo de Reis (1975) o primeiro a identificar teores na água de até sessenta vezes superiores ao nível estabelecido pela Organização Mundial de Saúde (ANDRADE; MORAES, 2013; BANDEIRA et al., 2009; CARVALHO et al., 2003; CELINO; QUEIROZ, 2006; EMERENCIANO et al., 2008; PESO-AGUIAR et al., 2000).

Na BTS, foi identificado que as ostras de mangue de áreas associadas à extração e transporte de petróleo tiveram as maiores concentrações relativas de proteínas de estresse

decorrente do impacto ambiental crônico induzido pela exposição à indústria petroquímica local (NASCIMENTO et al., 1998).

Estudos apontam diversas fontes antrópicas de contaminação química na BTS desde a década de 50, impulsionada pelo desenvolvimento da indústria petroquímica levando ao extenso desenvolvimento industrial nos arredores dessa Baía, incluindo o maior complexo petroquímico no hemisfério sul (HATJE; BARROS, 2012), conseqüentemente, gerando impactos para Baía do Iguape.

Essa região estuarina, cujo ambiente é caracterizado por flutuações de salinidade, influencia diretamente a distribuição de contaminantes entre a água, biota e sedimento. Os metais apresentam aumento de sua disponibilidade com a diminuição da salinidade, associada ao efeito na fisiologia dos organismos aquáticos. A disponibilidade de metais para a biota marinha depende da forma química desses metais. Por exemplo, o cobre e o cádmio que estão disponíveis para absorção dos organismos se estiverem presentes como íons (QUINÁGLIA, 2006). Além disso, fatores intrínsecos podem influenciar fortemente a concentração de metal nos organismos, como o tamanho do espécime, que afeta as taxas de acumulação em tecidos biológicos em moluscos como as ostras (CUNNINGHAM; TRIPP, 1975).

Estudo de Amado-Filho et al. (2008) apontaram que dentre as espécies de organismos bentônicos, *C. rhizophorae* apresentaram as mais altas concentrações de Cu, Cd, Ni e Zn, desta forma, como as ostras são utilizadas como fonte alimentar por parte da população do entorno da baía, os níveis de metais encontrados nas ostras da BTS podem constituir um risco para a saúde desta população.

As concentrações de Cd, Pb e As em ostras da BTS foram referidas como relativamente acima dos limites recomendados para marisco no Brasil e para os pontos da Baía do Iguape avaliados observaram-se níveis de chumbo em até 6,5 vezes acima dos limites estabelecidos pelo Regulamento Técnico do MERCOSUL, além disso o chumbo foi o elemento que apresentou o mais alto risco carcinogênico quando avaliada as concentrações e a taxa de consumo nos animais (SOUZA; WINDMÖLLER; HATJE, 2011).

Ao realizar o monitoramento das concentrações de metais tóxicos em ostra *C. rhizophorae* de um cultivo localizado na RESEX Marinha Baía do Iguape, Mamede (2012) observou que as ostras tiveram concentrações de zinco, cobre e cádmio acima do permitido para consumo humano pela legislação brasileira.

Do ponto de vista ecotoxicológico, os metais tóxicos são preocupantes porque em pequenas concentrações são capazes de provocar efeitos graves aos organismos vivos. Bioquimicamente, a toxicidade dos metais traço se dá pela afinidade de cátions com o enxofre, uma vez que o radical –SH está presente em diversas proteínas, uma vez que a atividade enzimática é comprometida quando há ligação com metais, refletindo no metabolismo do ser vivo como um todo (SILVA, 2010).

A presença de metais na água, incluindo os metais não essenciais (por exemplo, Cd) e essenciais (por exemplo, Cu), favorece a captação excessiva destes podendo induzir efeitos tóxicos graves em organismos aquáticos, em vários níveis biológicos: bioquímico, molecular, celular e fisiológico (JI et al., 2015).

Em resposta à contaminação por substâncias químicas, as alterações nos animais aquáticos começam no nível celular/molecular, estendendo-se para tecidos e órgãos desencadeando efeitos secundários que levam a anomalias ou mortalidade, cujas respostas ocorrem antes que as mudanças sejam observadas em populações e ecossistemas (SANDERS, 1990).

A presença dos metais tóxicos podem afetar os componentes celulares e reduzir o metabolismo mitocondrial dos moluscos. Tais efeitos causariam um desequilíbrio no balanço energético destes organismos aquáticos resultando em uma redução geral no metabolismo celular (PABA; ANGULO; PADILLA, 2008). Além disso, a presença de contaminantes no ambiente frequentemente leva a depleção de reservas energéticas dos moluscos como um mecanismo compensatório a altas demandas de energia requeridas pelos processos de detoxificação (DOMINGOS et al., 2007).

As brânquias de bivalves marinhos são o primeiro órgão a sofrer efeitos da poluição por metais devido à sua grande superfície constantemente expostas à água (JI et al., 2015). Por meio de avaliação histopatológica das brânquias de *C. rhizophorae* DOMINGOS et al. (2007) puderam identificar alterações induzidas pela exposição a contaminantes químicos como fusão de filamentos, hiperplasia de células epiteliais, desorganização ou perda de cílios, e áreas necrosadas.

O conhecimento dos efeitos tóxicos causados à biota pela presença de agentes químicos no meio ambiente tem despertado a atenção das autoridades ambientais para o controle e monitoramento de poluentes, assim como a avaliação do perigo potencial às populações humanas (EMERENCIANO et al., 2008).

## 2.5 Monitoramento e controle

O monitoramento de doenças e condições patológicas entre as populações de moluscos bivalves é uma forma importante de reconhecer patógenos potenciais e estabelecer medidas para prevenir futuras epizootias em áreas cultivadas (DA SILVA; MAGALHÃES; BARRACCO, 2012).

A FAO (2004) recomenda que, para obter a qualidade das ostras comercializadas e a segurança do consumidor, deve ser implementado um programa integrado de monitoramento, que englobe: o controle das condições ambientais de cultivo; o manejo correto da produção; as práticas adequadas de higiene; a educação dos manipuladores; e a adoção de medidas eficientes de armazenamento e distribuição.

Assim, surgiu o Código de Boas Práticas para Pescado e Produtos Aquícolas que compreende as diretrizes tecnológicas e as condições essenciais de higiene para promover uma produção aquícola segura para o consumo humano e cumprimento dos conselhos gerais sobre a produção, armazenamento e manuseio do pescado (a bordo ou em terra), além dos cuidados com a distribuição e exposição do pescado no varejo, de forma a satisfazer os requisitos de qualidade, saúde e inocuidade (CODEX ALIMENTARIUS, 2011).

Desta maneira, as agências governamentais de todo o mundo estão implementando, cada vez mais, programas de biossegurança em resposta a expansão da aquicultura e ao aumento dos surtos de doenças transmitidas aos humanos pelo consumo de moluscos (COEN; BISHOP, 2015).

Em muitos países existem normas próprias criadas para uma melhor comercialização de moluscos baseadas principalmente em análises microbiológicas, tanto da água de cultivo, quanto da carne destes animais. Em 1991, o Conselho formado por países integrantes da Comunidade Econômica Europeia criou uma planilha de classificação das zonas de produção de moluscos, baseada em análises do produto que ven sendo usada como referência para outras regiões do mundo (CHRISTO et al., 2008).

Grande parte dos países latino-americanos tem uma Política Nacional de Aquicultura com base em um plano estratégico para o desenvolvimento deste setor que esteja em consenso com todos os atores da atividade e que foque a realidade nacional e regional.

Assim, a FAO recomenda para os países que ainda não implementaram essa política a realização de um programa de sensibilização a nível local sobre o papel da aquicultura na produção de organismos livres de enfermidades e inócuos para o consumo

humano, enfatizando a divulgação da alta qualidade nutricional dos produtos da aquicultura, e a importância como ferramenta social que constitui o cultivo de bivalves para a produção de alimentos de subsistência. Já para os países com uma política nacional de aquicultura implementada, estes devem assumir a responsabilidade de forma descentralizada, requerendo consciência dos agentes para avaliar as potencialidades e os problemas locais na produção aquícola com base em um plano estratégico para o desenvolvimento sustentável da produção de moluscos bivalves sobre as reais necessidades das áreas de subsistência, de crescimento econômico, de sustentabilidade ambiental, de equidade de acesso, entre outras demandas regionais (FAO, 2008).

A biossegurança da produção brasileira de bivalves é regulamentada pelo Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB), instituído pela Instrução Normativa Interministerial nº07/2012 que estabelece o monitoramento, o controle e a fiscalização dos moluscos bivalves provenientes da pesca e da aquicultura, a qual poderá propor o estabelecimento de convênios com as agências e instituições estaduais, municipais e distritais para viabilizar a execução do programa (BRASIL, 2012).

No estado da Bahia o controle e fiscalização de bivalves são realizados pela Agência de Defesa Agropecuária da Bahia - ADAB, e o monitoramento e fomento para o desenvolvimento do setor são executados pela Bahia Pesca, ambos vinculados à Secretaria da Agricultura, Pecuária, Irrigação, Pesca e Aquicultura– SEAGRI.

A fim de proporcionar uma gestão mais ampla e uma melhor governabilidade do setor aquícola, a FAO promove o Crescimento Azul como uma gestão socioeconômica coerente e sustentável da estrutura de recursos hídricos, cujo objetivo é conciliar as prioridades e equilíbrio entre crescimento e preservação e entre a pesca e aquicultura industrial e artesanal, garantindo benefícios justos para as comunidades (FAO, 2014).

Para o MPA o conhecimento das cadeias produtivas da pesca e da aquicultura é extremamente importante para o sucesso das medidas de ordenação e manejo destas atividades no Brasil, como também da necessidade de geração contínua de dados e informações estatísticas de forma que estas possam orientar tanto a implantação de novas políticas públicas para o setor como também os investimentos da iniciativa privada (BRASIL, 2011).

Vale ressaltar que o monitoramento constante da saúde dos animais pode promover a sustentabilidade dos cultivos de ostras, além da necessidade de estudos para esclarecer as relações ecológicas entre os patógenos e as ostras, a buscar possíveis

métodos de controle e avaliar possíveis aspectos zoonóticos associados com o consumo desses animais (BRANDÃO; BOEHS; SILVA, 2013).

BOEHS et al. (2012) acreditam que ações como a realização de novos diagnósticos de patógenos e patologias, a formação de recursos humanos, o fortalecimento dos núcleos de estudos, e atualização de laboratórios de patologia aquícola, o aperfeiçoamento de técnicas de diagnose e o aprimoramento do manejo das enfermidades, podem contribuir significativamente para a sustentabilidade futura da ostreicultura no Brasil.

### 2.5.1 Controle microbiológico

Os programas de monitoramento baseados no exame microbiológico periódico da água de cultivo e dos moluscos bivalves por meio da determinação de micro-organismos indicadores como os coliformes termotolerantes, dentre estes, a bactéria *E.coli*, compõe excelente parâmetro indicador da contaminação por espécies patogênicas, fazendo com que as ostras sejam consideradas bioindicadores da qualidade do ecossistema marinho (FAO, 2004; WANG, 1999).

A quantificação de coliformes é amplamente utilizada para verificar a sanidade de moluscos, mas nem sempre são considerados bons indicadores de qualidade sanitária. Geralmente moluscos e crustáceos cultivados em águas que apresentam adequação aos critérios de coliformes têm um bom histórico de qualidade sanitária, contudo, alguns patógenos humanos ainda podem estar presentes nesses animais, uma vez que esses indicadores nem sempre permitem prever a presença de vírus entéricos, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* ou *Yersinia enterocolítica* (JAY, 2005).

A Resolução CONAMA nº 357/2005 que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, regulamenta a concessão de áreas de cultivo, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Os aspectos microbiológicos descritos nessa resolução estabelecem que em águas salobra ou salina para o cultivo de moluscos bivalves destinados à 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 cinco

amostras (Brasil, 2005). Esses mesmos limites são estabelecidos pelo *National Shellfish Sanitation Program* (NSSP) do FDA (2013).

O PNCMB estabelece que a retirada de moluscos bivalves deve ser baseada no monitoramento de micro-organismos e biotoxinas em moluscos bivalves, bem como em seu controle. Determina o limite de número mais provável (NMP) para *E. coli* em 100 gramas da parte comestível dos moluscos bivalves como um dos critérios para retirada liberada de bivalves das áreas de cultivo, sendo este limite  $< 230 \text{ NMP} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  (BRASIL, 2012).

Quanto aos padrões microbiológicos para produtos destinados ao consumo humano, a legislação sanitária brasileira, por meio da Resolução RDC nº 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabelece para moluscos bivalves in natura limites máximos permitidos de Estafilococos coagulase positiva de até  $1,0 \times 10^3 \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$  e ausência de *Salmonella* sp. em 25g. O limite para coliformes termotolerantes somente é estabelecido para moluscos bivalves cozidos, temperados ou não, industrializados, resfriados ou congelados, sendo este de  $5,0 \times 10 \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$  e o limite estabelecido para *Vibrio parahaemolyticus* de  $1,0 \times 10^3 \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$  para pratos prontos à base de frutos do mar (BRASIL, 2001).

Como estratégias para redução da densidade microbiana e manutenção da microbiota em níveis aceitáveis, os métodos mais utilizados após a lavagem dos animais são a depuração, onde os bivalves são colocados em um fluxo controlado de água desinfetada por um período relativamente curto de tempo (geralmente 24-48 h), e a translocação, cujos animais são transferidos para novos cultivos com água naturalmente limpa onde são mantidos por semanas até o momento da captura. Embora estes métodos sejam razoavelmente eficazes para eliminar ou reduzir a concentração de bactérias da família Enterobacteriaceae presentes no organismo das ostras, são substancialmente menos eficazes contra vírus e toxinas, e tem pouco efeito sobre vibriões, incluindo *V. cholerae* (ROBERTS et al., 2005).

A combinação de novas abordagens de depuração e uma avaliação mais precisa da qualidade para assegurar a eliminação desses micro-organismos deve ser desenvolvida para ajudar a reduzir as toxinfecções decorrentes do consumo de moluscos bivalves contaminados (OLIVEIRA et al., 2011).

### 2.5.2 Controle parasitológico

Surtos de enfermidades parasitárias e mortalidade em massa de bivalves marinhos têm sido registrados em muitas partes do mundo e vem impulsionando pesquisas que visam à identificação e caracterização dos parasitas como agentes etiológicos dessas mortalidades, no entanto as medidas para combater essas enfermidades têm ocorrido de formas emergenciais (BOEHS et al., 2012; ROBLEDO; VASTA; RECORD, 2014).

O Código Sanitário para Animais Aquáticos da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) estabelece regras para melhorar a saúde dos animais aquáticos, bem como o comércio internacional seguro desses animais e seus derivados. As autoridades competentes dos países importadores e exportadores devem seguir as condições sanitárias do Código, bem como controlar e notificar o aparecimento das doenças listadas no Código que para ostras são as infecções por protozoários *Bonamia ostreae*, *Bonamia exitiosa*, *Marteilia refringens*, *Perkinsus marinus* e *Perkinsus olseni* (OIE, 2015).

Para a legislação brasileira, Leal e Franco (2008) apontaram a necessidade de inclusão de análise de parasitos como parâmetros de qualidade nos locais de cultivo de ostras e mariscos, como as fazendas de maricultura, já que essas áreas podem não estar livres da contaminação por protozoários patogênicos, uma vez que alguns estudos apontaram que o monitoramento de bactérias indicadoras de contaminação fecal não é suficiente para assegurar a qualidade e a segurança quanto à contaminação por protozoários neste tipo de alimento.

Várias estratégias foram testadas para atenuar as consequências das epizootias parasitárias sobre a indústria de ostra: biossegurança, modificações de procedimentos de gestão e manejo, reprodução seletiva para obter linhagens resistentes de ostras, uso de ostras triplóides e introdução de espécies exóticas de ostras, uso de quimioterápicos para inibir ou matar as células do parasita e melhoria das técnicas para o diagnóstico confiável de enfermidades parasitárias (FAO, 2008; VILLALBA et al., 2004).

A seleção de áreas apropriadas e o correto manejo do cultivo com periódica limpeza das ostras e das lanternas ou sacolas de cultivo, o manuseio e diminuição da densidade de estocagem têm sido pensado para reduzir a intensidade da infecção de forma a minimizar a prevalência de enfermidades parasitárias e/ou mortalidade (CULLOTY; MULCAHY, 2007; PONTINHA, 2009).

Uma abordagem alternativa para a malacocultura é a restauração em águas afetadas pela presença de patógenos com a introdução de espécies exóticas, que não são suscetíveis a doenças endêmicas. Os moluscos estão entre as espécies mais translocadas



do mundo para a aquicultura, como é o caso das ostras que foram introduzidas para mais de 73 países. No entanto, esse movimento de moluscos podem introduzir outros organismos, incluindo parasitos e algas nocivas para novos ambientes (COEN; BISHOP, 2015; COEN; LUCKENBACH, 2000).

Para a introdução de bivalves no ecossistema, estes devem ser clinicamente saudáveis e não devem originar de uma área com mortalidades não resolvidas e, se necessário, espécies de vetores conhecidos e animais aquáticos selvagens devem ser mantidos em quarentena antes da translocação evitando que um possível patógeno seja transferido para uma nova área (CULLOTY; MULCAHY, 2007).

Dessa maneira, a prevenção da doença pode incluir a terceirização de estoque e alimentos para animais a partir de locais livres da doença certificadas ou assegurar animais sob condições de quarentena até que possam ser verificados como livres de doenças. Monitoramento de doenças envolve avaliações periódicas da qualidade da água em que os moluscos estão crescendo e da saúde dos animais, utilizando técnicas letais incluindo análises microbiológicas, moleculares e histopatológicas, e/ou não-letais como ensaios imunológicos. Quando forem detectados agentes patogênicos na água e/ou nos animais poderá ser interditada para colheita de moluscos na área, assim a translocação de estoque para áreas não infectadas poderá ser proibida. Além disso, equipamentos, tais como barcos, sacolas de moluscos e pinças deverão ser desinfetados antes de serem utilizados em outros locais. Em alguns casos, moluscos colhidos são rotineiramente retransmitidos da água do mar para a depuração antes de ser enviada para o mercado (COEN; BISHOP, 2015; FDA, 2013).

Espécies aquáticas invasoras apresentam uma grande ameaça para os ecossistemas marinhos e o transporte tem sido identificado como a principal via para a introdução de espécies em novos ambientes. O problema aumentou à medida que o comércio e o volume de tráfego foram ampliados ao longo das últimas décadas e, em particular com a introdução de cascos de aço, permitindo aos navios o uso da água em vez de materiais sólidos como lastro. Os efeitos da introdução de novas espécies têm sido devastador em muitas áreas do mundo. Os dados quantitativos mostram que a taxa de bio-invasões continua aumentando a um ritmo alarmante. Assim, além de programas de gestão específicos de moluscos, planos de gestão da água de lastro e outros procedimentos de quarentena também têm sido implementados para minimizar a translocação de doença por navios, tanto na água de lastro ou em espécies-incrustantes do casco, como estratégias de impedir a contaminação entre países/continentes (IMO, 2015).

Em resposta ao aumento de doenças parasitárias, medidas de biossegurança têm sido postas em prática para reduzir a translocação de doenças, e a produção aquícola tem utilizado o cultivo de animais criados seletivamente, na tentativa de obter estirpes de ostras resistentes, no entanto, essa alternativa tem sido altamente controversa, devido à possibilidade de produzir grandes mudanças para cadeias alimentares aquáticas (COEN; BISHOP, 2015; VILLALBA et al., 2004).

Uma alternativa para demorada seletividade tradicional é o desenvolvimento de tecnologia de transmissão de genes e expressão em ostras adultas, uma abordagem refinada para aumentar a resistência da ostra por manipulação genética. Um dos procedimentos testados foi o uso de ostras triploides, que foi desenvolvido na busca de crescimento mais rápido e melhor sabor devido ao conteúdo de glicogênio maior decorrente da gametogênese (VILLALBA et al., 2004).

Introdução de moluscos triplóides, que são, teoricamente, estéreis, pode reduzir ainda mais o risco de espécies não-nativas atingir o status de pragas através da proliferação e propagação e pode ser uma opção por destinar-se a apoiar um setor aquícola com base na oferta de incubação das sementes. Vale ressaltar que a produção de triplóides não é totalmente à prova de falhas, pois indivíduos podem reverter para diplóides reprodutivos através do tempo. O protocolo exige que haja forte justificativa para a introdução de espécies e que as revisões da biologia e ciclo de vida do organismo têm sido conduzidas sem gerar risco significativo nas áreas produtivas. No entanto, mesmo após estes protocolos, introduções não acontecem sem riscos (COEN; BISHOP, 2015).

### 2.5.3 Controle de metais tóxicos

Para proteger o consumidor, a autoridade de controle de moluscos precisa avaliar os níveis de substâncias tóxicas que podem estar presentes nos bivalves, estabelecer os níveis de tolerância estabelecidos para alimentos humanos, investigar a colheita, distribuição e processamento do molusco, e determinar quais ações corretivas devem ser tomadas em caso de contaminações (FDA, 2013).

É importante estabelecer controles permanentes deste metal tóxico e comparar os resultados com os padrões globais, a fim de preservar a saúde dos consumidores e para proteger os ecossistemas marinhos e organismos importantes na região (BILANDZIC et al., 2016).

A Resolução RDC Nº 42, de 29 de agosto de 2013 da ANVISA aprova o Regulamento Técnico sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos a qual estabelece limites para arsênio, chumbo, cádmio, mercúrio e estanho em moluscos bivalves (BRASIL, 2013b).

A legislação brasileira, seja a ambiental ou mesmo a referente aos aspectos sanitários dos alimentos, ainda é pouco contundente com relação aos limites aceitáveis ou permitidos de contaminantes em solos, águas e alimentos, e não contempla diversos aspectos e etapas do processo produtivo necessitando, portanto, ser atualizada para se equiparar aos marcos legais dos demais países produtores de moluscos bivalves. Existe uma carência muito grande de dados nacionais que subsidiem os legisladores e órgãos ambientais sendo, muitas vezes, utilizando valores limites verificados e utilizados em outros países (FERNANDES et al., 2007; OSTRENSKY; BORBHITTI; SOTO, 2008)

Ressalta-se a relevância de implantar um programa de monitoramento dos metais presentes na água e nos moluscos cultivados, pois a concentração destes parâmetros é variável, tanto na água como também nos moluscos, pois o metabolismo destes organismos proporciona que os metais presentes nos tecidos possam ser liberados, novamente para o meio (MIOTTO, 2012).

Estudos indicam que ostras podem ser capazes de reduzir a sua absorção ou eliminar metais por via metalotioneínas, as quais estão envolvidas no sequestro e desintoxicação de certos metais por longos períodos de tempo. Assim, a translocação de ostras é uma ferramenta útil para a identificação de contaminação de vestígios metálicos e para monitorar tendências temporais de tais contaminantes, bem como uma boa estratégia para desintoxicação dos bivalves quando transportados para áreas controladas (M.WALLNER-KERSANACH et al., 2000; WANG et al., 2011).

Estratégias recentes para obter uma visão global das respostas biológicas induzidas pela poluição por metais incluem empregar abordagens de biologia de sistemas, que têm expandido a descoberta de biomarcadores contendo várias técnicas -omic incluindo genômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica (JI et al., 2015).

As medidas mais eficazes, como muitas vezes relatadas, é a prevenção da poluição dos corpos aquáticos por meio de: interrupção das liberações das águas poluídas, ou seja, aumentar o controle de efluentes industriais com desenvolvimento de tecnologia para reciclar os metais e outros poluentes ambientais; substituição de produtos poluentes por biodegradáveis; implantação de sistemas de tratamento de efluentes industriais e domésticos; melhoria da integração entre os serviços de proteção do

ambiente e os órgãos responsáveis por água; e acompanhamento sistemático para identificar as fontes e escalas de lançamentos de efluentes. (HILL, 2004; MIOTTO, 2012; WANG et al., 2014).

Tais medidas são fortemente recomendadas para contribuir para a definição dos limites máximos de carga diária, bem como para modernização ou criação de leis que regulamentem os controles de efluentes industriais e domésticos nos ambientes relacionados aos cultivos de pescado.

Por isso é fundamental que o processo de crescimento das cidades costeiras seja acompanhado por uma expansão adequada de sistemas de captação e tratamento de esgoto com consciência da importância da preservação dos ambientes costeiros. Para isso é fundamental a adoção de políticas de proteção ambiental que garantam o constante monitoramento da qualidade da água. Isso colabora com a expansão da produção de moluscos de alta qualidade na costa do Brasil.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

- Estabelecer o perfil microbiológico, parasitológico e toxicológico e as alterações histopatológicas de ostras *Crassostrea rhizophorae* produzidas na Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, BA.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Avaliar as condições sanitárias do cultivo de ostra em cativeiro.
- Pesquisar coliformes totais e *Escherichia coli* nas ostras e na água de cultivo como indicadores de qualidade microbiológica.
- Identificar a prevalência e parasitos associados à *Crassostrea rhizophorae*;
- Caracterizar, em nível histológico, as principais alterações patológicas detectadas.
- Avaliar a interferência climática e da variação da maré na sanidade das ostras.
- Correlacionar possíveis alterações histopatológicas observadas nas ostras com a contaminação por *E. coli*, parasitos e/ou por metais tóxicos.

#### 4. CAPÍTULO I

Qualidade microbiológica e fatores ambientais de áreas estuarinas da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape (Bahia) destinadas ao cultivo de ostras nativas

Publicação relacionada:

Fernanda Freitas, Gabrielly Sobral Neiva, Edileide Santana Cruz, Jerusa da Mota Santana, Isabella de Matos Mendes Silva, Fábio de Souza Mendonça. Qualidade microbiológica e fatores ambientais de áreas estuarinas da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape (Bahia) destinadas ao cultivo de ostras nativas. Engenharia Sanitária e Ambiental, 2016.

## **Qualidade microbiológica e fatores ambientais de áreas estuarinas da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape (Bahia) destinadas ao cultivo de ostras nativas**

### **Qualidade microbiológica e fatores ambientais de águas estuarinas**

#### **Microbiological quality and environmental factors of estuarine area of Iguape Bay Marine Reserve (Bahia) for cultivation of native oysters**

#### **Microbiological quality and environmental factors of estuarine waters**

##### **Resumo**

Objetivou-se verificar a qualidade microbiológica das águas destinadas ao cultivo de ostra da Baía do Iguape/BA e sua correlação com os fatores ambientais e variações de maré. Foram coletadas 36 amostras de água superficial de três viveiros de cultivo totalizando 12 coletas. A população de coliformes totais e coliformes termotolerantes foi determinada por meio da técnica de tubos múltiplos - Número Mais Provável (NMP 100 mL<sup>-1</sup>). Foram estabelecidas como variáveis ambientais pH, temperatura, salinidade, turbidez, precipitação pluviométrica e maré. Observou-se que a população de coliformes totais e coliformes termotolerantes nos três viveiros monitorados variou de <1,8 a 1600 NMP 100 mL<sup>-1</sup> e <1,8 a 350 NMP 100 mL<sup>-1</sup>, respectivamente, constatando-se que os viveiros apresentam boa qualidade microbiológica da água superficial. Quanto a influencia dos fatores ambientais na densidade microbiana foi obtida correlação positiva quanto à precipitação pluviométrica e negativa para temperatura e turbidez. Considerando os dados do presente estudo verifica-se que a população de coliformes aumentou nos meses mais chuvosos e em maré de sizígia. É necessário realizar o monitoramento microbiológico e ambiental de águas destinadas à aquicultura por favorecer a produção segura e sustentável de ostra, uma vez que os parâmetros de qualidade podem sofrer influências climáticas e variações temporais.

##### **Abstract**

The objective was to verify the microbiological quality of water used in oyster cultivation in Iguape Bay/Bahia and its correlation with environmental factors and tidal variations. Thirty six samples of surface water samples were collected from three oyster cultivation areas, totalizing 12 collections. The concentrations of total and thermotolerant coliforms were determined using the multiple tube test - Most Probable Number (MNP 100 mL<sup>-1</sup>). The environmental variables were assessed in water samples: pH, temperature, salinity, turbidity, rainfall and tidal. Total coliforms and thermotolerant coliforms MNP values ranged from <1.8 to 1600 MNP 100 mL<sup>-1</sup> and from <1.8 to 350 MNP 100 mL<sup>-1</sup>, respectively. The oyster cultivation areas presented good microbiological quality of surface water. The influence of environmental factors on microbial density was obtained as a positive correlation with rainfall and negative correlation with temperature and

turbidity. Considering the data from this study there was an increase of the population of coliforms in the rainy season and spring tide. Thus, it is necessary to carry out microbiological and environmental monitoring of water intended for aquaculture promotes safe and sustainable production of oyster, since the quality parameters can suffer weather influences and seasonal variations.

Palavras-chave: Qualidade da água; Coliformes; Parâmetros físico-químicos; Aquicultura.

Keywords: Water quality; Coliforms; Physical-chemical parameters; Aquaculture.

#### 4.1 Introdução

O Brasil ocupa a 17<sup>a</sup> posição no ranking mundial na produção de pescado em cativeiro, mobiliza 800 mil profissionais entre pescadores e aquicultores, e proporciona 3,5 milhões de empregos diretos e indiretos (BRASIL, 2013a; MPA, 2014). De acordo com o boletim estatístico de pesca e aquicultura, uma das atividades mais rentáveis e em expansão é o cultivo de moluscos bivalves destacando-se a ostreicultura, que teve incremento de produção de 1174 t em 2008 para 1233,7t em 2011 na pesca extrativista continental (BRASIL, 2011).

Observa-se que o aumento do consumo *per capita* de pescado torna-se cada vez mais dependente da disponibilidade dos produtos da aquicultura e da sua qualidade. Segundo a FAO a disponibilidade *per capita* mundial de pescado é de 19,2 kg/ano, no entanto, apesar do aumento de consumo nos últimos anos, o Brasil teve média *per capita* de apenas 4,032 kg/ano, apresentando a região Nordeste consumo maior que a média nacional 4,965 kg/habitante/ano (FAO, 2014; IBGE, 2010; ROCHA et al., 2013b).

Visando atender as exigências do mercado e o cumprimento aos aspectos sanitários, tem-se aumentado a preocupação com a qualidade dos pescados, dentre estes os moluscos bivalves, por parte dos aquicultores e dos órgãos fiscalizadores.

Salienta-se que as áreas de produção de moluscos são muitas vezes localizadas em águas costeiras e em águas rasas de sistemas estuarinos as quais são influenciadas por diversos fatores climáticos e humanos que apresenta variabilidade espacial e temporal (CAMPOS; KERSHAW; LEE, 2013).

Desta forma, a determinação da qualidade do ecossistema aquático e do seu grau de contaminação é considerado um parâmetro relevante para avaliar a sanidade desses animais, além dos impactos da contaminação por esgotos nesse ambiente e na saúde da população ribeirinha (GONZALEZ et al., 2009; KELLER; JUSTINO; CASSINI, 2013; ROCHA et al., 2013b).

A regulamentação de áreas costeiras destinadas ao extrativismo e cultivo de moluscos deve ser baseada em programas de monitoramento microbiológico, considerando-se a determinação de micro-organismos indicadores como os coliformes termotolerantes, dentre estes a bactéria *Escherichia coli*. Ressalta-se que esses patógenos entéricos podem sobreviver por semanas e meses no ambiente aquático, seja na coluna de água, adsorvido em partículas ou acumulados nos sedimentos (BLODGETT, 2010; LEES, 2000).



Segundo a resolução CONAMA nº 357/2005 as águas salobras classe 1, utilizadas para o cultivo de moluscos bivalves destinados à 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 (BRASIL, 2005).

Apesar do marco legal, o Brasil é um país com poucos sistemas de monitoramento de qualidade da água principalmente face às suas dimensões continentais, diferenças geográficas regionais e magnitude dos problemas de poluição, carecendo de informações sobre a qualidade de seus recursos hídricos (VASCO et al., 2010).

Ressalta-se a necessidade de estudos em águas estuarinas destinadas a produção de ostras sobre a contaminação microbiana, considerando que o cultivo de ostras nativas é uma das principais atividades das populações ribeirinhas com implicações sociais e econômicas. Assim, o presente estudo objetivou avaliar a qualidade microbiológica das águas destinadas ao cultivo de ostras da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape-Bahia, e sua correlação com os fatores ambientais e variações de maré.

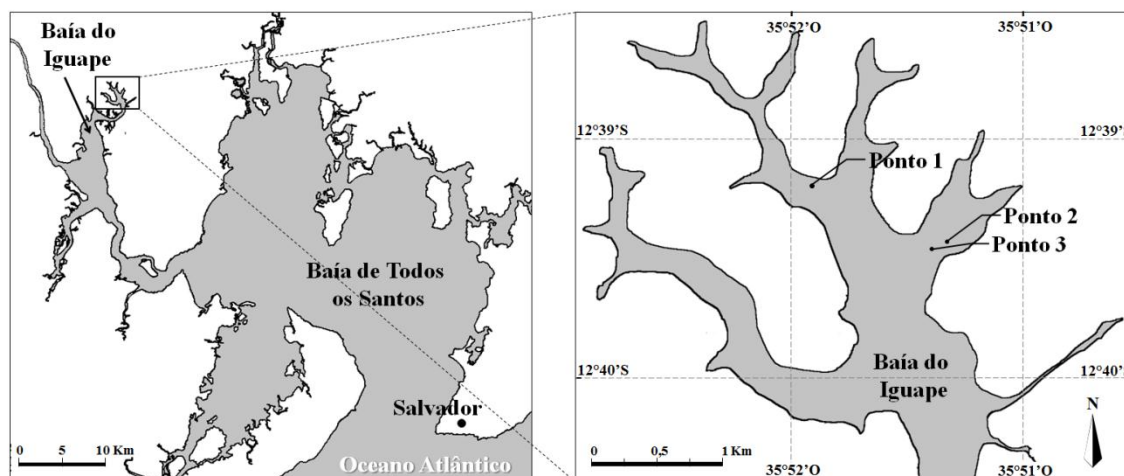
## 4.2 Metodologia

### Área de estudo

A presente pesquisa foi realizada no setor norte da Baía do Iguape, município de Cachoeira – BA. Este estuário é banhado pelas águas do Rio Paraguaçu e da Baía de Todos os Santos e faz parte da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape. Foi criada com o intuito de proteger principalmente os ecossistemas de manguezal e aquáticos, bem como o modo de vida das populações rurais locais assegurando o uso sustentável dos recursos naturais (PROST, 2010). Essa RESEX apresenta uma área aproximada de 10.082,45ha composta por três setores: Norte, Central e Sul, marcada por colinas e planícies fluvio-marinhas. Nos manguezais predominam mangue branco de *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn.f., e nas águas internas que favorecem a existência de um grande número de espécies de pescado, trazendo possibilidades produtivas aos agricultores familiares vinculados à pesca, a coleta de marisco e ao cultivo de ostra.

As amostras de ostras foram oriundas de três viveiros da região, os quais, foram georreferenciados de forma a obter os pontos de coleta representativos da área total de cultivo delimitada pelas bancadas de sistema suspenso de produção: viveiro 1 (12°39'12.00"S, 38°51'55.00"W), viveiro 2 (12°39'27.00"S, 38°51'20.00"W) e viveiro 3 (12°39'28.00"S, 38°51'23.00"W), conforme indicado na figura 1.

Foram realizadas, de novembro de 2013 a outubro de 2014, 12 coletas em cada ponto de amostragem totalizando 36 amostras de água superficial com aproximadamente 30 cm de profundidade, as quais foram colhidas em frascos estéreis por imersão tomando como base o comprimento do braço e a linha da água acima do cotovelo segundo Sá, Barbosa e Gomes (2010). As amostras foram acondicionadas e transportadas sob refrigeração em caixas isotérmicas para posterior análises microbiológicas no Laboratório do Núcleo de Segurança Alimentar e Nutricional da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, campus Santo Antônio de Jesus, por até quatro horas após a coleta.



**Figura 1.** Viveiros de ostras nativas localizados no setor norte da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia.

As variáveis ambientais foram obtidas pela mensuração *in loco* de pH, temperatura, turbidez e salinidade utilizando multiparâmetro portátil Water Quality Meter AK88 (Akso®). A verificação da precipitação pluviométrica acumulada em sete dias que antecederam a coleta foi obtida no Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais- INPE e a identificação da maré pela previsão de marés da Diretoria de Hidrografia e Navegação da Marinha do Brasil.

A qualidade microbiológica da água foi determinada pela quantidade de coliformes totais e coliformes termotolerantes por meio da técnica de tubos múltiplos - Número Mais Provável - ( $\text{NMP} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ ) (BLODGETT, 2010).

Os dados foram tabulados e analisados estatisticamente no software SPSS® versão 17.0. Inicialmente foram realizadas análises descritivas para caracterização do estudo. Utilizou-se média aritmética, desvio padrão, mínimo e máximo para as variáveis quantitativas contínuas e proporção para as variáveis categóricas dicotômicas. Empregou-se o Teste Kolmogorov-Smirnov para avaliar a normalidade dos dados. As variáveis que não apresentaram distribuição normal (coliformes totais, coliformes termotolerantes, turbidez, pH e salinidade) foram transformadas adotando o procedimento de logaritimização para minimizar a falta de homogeneidade da variância.

As correlações entre as variáveis ambientais (salinidade, temperatura, pH, turbidez e precipitação semanal acumulada) e o crescimento microbiano foram obtidas por meio do Teste de correlação de Pearson, e para variável maré foi utilizado o Teste de correlação de Spearman.

A variabilidade dos valores dos NMP de coliformes totais e termotolerantes e os diferentes viveiros foi avaliada pela análise de variância (ANOVA) e Teste de Tukey. Os resultados foram considerados estatisticamente significantes quando apresentaram valor de  $p \leq 0,05$ .

### 4.3 Resultados e Discussão

Observa-se que a população de coliformes totais e coliformes termotolerantes variou de <math><1,8</math> a 1600 NMP 100 mL<sup>-1</sup> e <math><1,8</math> a 350 NMP 100 mL<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabela 1). Avaliando a qualidade da água de estuários em demais estados brasileiros, observamos que a densidade máxima de coliformes termotolerantes do presente estudo foi expressivamente pequena comparada a achados de outros autores que apresentaram valores máximos de 1325 a 4940 NMP 100 mL<sup>-1</sup> (CHRISTO et al., 2008; FARIAS et al., 2010; FORCELINI; KOLM; ABSHER, 2013; KELLER; JUSTINO; CASSINI, 2013; MIGNANI et al., 2013; MORESCO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2012; VIEIRA et al., 2008).

Analisando a carga microbiana entre os viveiros observou-se que não houve diferença espacial significativa na densidade de coliformes totais e termotolerantes pela análise de variância,  $p=0,718$  e  $p=0,496$ , respectivamente. Esses dados diferem dos achados de Doi, Oliveira e Barbieri (2015) que observaram diferença estatística entre onível de contaminação da área mais contaminada das águas estuarinas de Cananéia-SP com a proximidade da cidade.

**Tabela 1.** Perfil microbiológico e variações ambientais de águas estuarinas de cultivo de ostra da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, 2014.

Variáveis	Coliformes Totais (NMP 100mL <sup>-1</sup> )	Coliformes termotolerantes (NMP 100mL <sup>-1</sup> )	pH	Temperatura (°C)	Turbidez (NTU)	Salinidade	Precipitação acumulada (mm)
Média	232,26	36,81	7,17	28,47	46,81	23,58	29,50
DP	497,41	74,73	0,38	2,30	14,10	6,90	23,97
Mínimo	<math><1,80</math>	<math><1,80</math>	7,00	25,0	3,0	2,09	0,00
Máximo	1600,00	350,00	8,38	32,0	62,0	30,00	72,00

A média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes foi de 14,89 NMP 100 mL<sup>-1</sup> para o viveiro 1, 14,63 NMP 100 mL<sup>-1</sup> para o viveiro 2 e de 14,30 NMP 100 mL<sup>-1</sup> para o viveiro 3, apresentando valores de acordo com o preconizado pela legislação vigente para o cultivo de moluscos bivalves destinados a alimentação humana (BRASIL, 2005). Apesar do quantitativo de amostras por viveiro ser menor que a recomendada pela legislação, é válida a comparação a fim de conhecer a qualidade da água dos viveiros ao longo do estudo.

Ressalta-se a importância do monitoramento da água destinada a aquicultura, uma vez que essa pode ser a principal fonte de contaminação dos animais aquáticos. Principalmente dos moluscos bivalves que se tornam um risco em potencial aos consumidores frente a sua característica filtradora e capacidade de bioacumulação de patógenos (BUTT; ALDRIDGE; SANDERS, 2004).

Segundo Ramos et al. (2010) e Mignani et al. (2013), a qualidade microbiológica da água pode ser afetada por inúmeros parâmetros ambientais, como marés, precipitação pluviométrica, salinidade, pH e turbidez. Esses fatores podem influenciar na sobrevivência dos microrganismos no ambiente estuarino, bem como na fisiologia e na adaptação do animal ao ambiente.

Algumas agências reguladoras e fazendas marinhas, principalmente na Europa, tem utilizado modelagem matemática com variáveis ambientais, como precipitação, salinidade e turbidez, para indicar a contaminação em áreas de produção de moluscos,

considerando que essas variáveis são associadas com altas cargas microbianas (GOURMELON et al., 2010).

Analisando a relação dos dados microbiológicos com as variáveis ambientais foi observada correlação positiva entre a precipitação e os coliformes totais e termotolerantes. O presente estudo corrobora com os achados de Ramos et al. (2010) que observaram a contagem média de coliformes totais e termotolerantes nas águas da Baía Sul de Florianópolis foi influenciada pelo acumulado pluviométrico da semana anterior a coleta, e com Keller, Justino e Cassini (2013), Mignani et al. (2013) e Doi; Barbieri e Marques (2014) que obtiveram correlação positiva das densidades de coliformes com a pluviosidade.

A precipitação pluviométrica é o parâmetro mais comumente associado com níveis máximos de organismos indicadores de contaminação fecal devido à ressuspensão dos sedimentos contaminados na coluna de água predominando a distribuição desses organismos em estuários rasos, principalmente durante o período chuvoso (CAMPOS; KERSHAW; LEE, 2013). Assim, a turbidez é um dos parâmetros utilizados para avaliação das características físicas da água, tendo o seu aumento relacionado à presença de partículas em suspensão como, argila e silte, algas e microrganismos (SILVA, 2010).

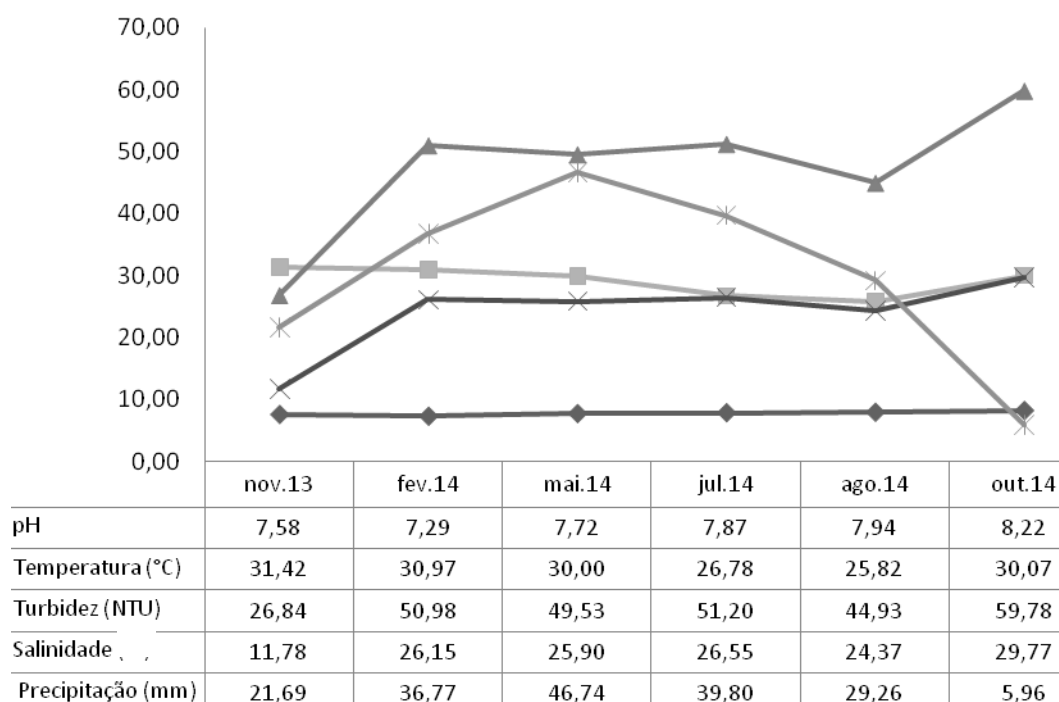
Em contrapartida, a turbidez apresentou maiores valores no mês de outubro onde houve menor índice pluviométrico, com variação de 3,0 a 62,0 NTU (Figura 2). Vasco et al. (2010) avaliando a qualidade da água no estuário do rio Vaza Barris-BA, obtiveram valores de turbidez entre 5,60 e 29,10 NTU relacionando possivelmente à presença de esgotos sanitários e efluentes industriais.

Observou-se correlação negativa forte quanto à turbidez e a população de coliformes totais, ou seja, a concentração desses microrganismos é inversamente proporcional à turbidez (Tabela 2). Segundo Schmitt (2002) em áreas com águas de baixa turbidez, a proporção orgânica dos biodepósitos tende a ser mais elevada potencializando a atividade bacteriana.

Outro parâmetro avaliado foi a salinidade que teve variação de 2 a 30 (Tabela 1). De acordo com a Resolução CONAMA as águas em estudo foram classificadas como salobras, 0,5 a 30 de salinidade, conforme o esperado considerando que a área do estudo se trata de estuário (BRASIL, 2005).

Em pesquisa na mesma região Oliveira (2014) verificou que a salinidade apresentou faixa de 18 a 30 com média de 25,89 ( $\pm 4,86$ ) sendo esta variação menor que a mensurada no presente estudo.

Observou-se tendência significativa na redução da contaminação por coliformes totais e termotolerantes com o aumento da salinidade da água (Tabela 2), corroborando com dados de Moresco et al. (2012) que observaram correlação negativa forte entre este parâmetro ambiental e a detecção de coliformes termotolerantes.



**Figura 2.** Valores médios dos parâmetros ambientais da coluna d'água dos viveiros de ostra da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, 2014.

**Tabela 2.** Correlação de Pearson entre a densidade microbiana das águas estuarinas e os parâmetros ambientais da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, 2014.

Variáveis	Coliformes Totais		Coliformes termotolerantes	
	r	p*	r	p*
pH	-0,200	0,242	-0,075	0,666
temperatura	-0,306	0,069	-0,492	0,002
turbidez	-0,600	0,000	-0,122	0,479
salinidade	-0,625	0,000	-0,106	0,054
precipitação acumulada	0,350	0,037	0,328	0,051

\*correlação significativa  $p < 0,05$ .

As bactérias do grupo coliformes apresentam pouca tolerância à salinidade das águas, sendo que as concentrações de sais podem funcionar como fator limitante para multiplicação microbiana. Sua detecção denota uma contaminação recente e constante de matéria fecal nesse ambiente, constatando a relação inversamente proporcional entre salinidade e população de coliformes (VIEIRA et al., 2008; VIEIRA et al., 2001).

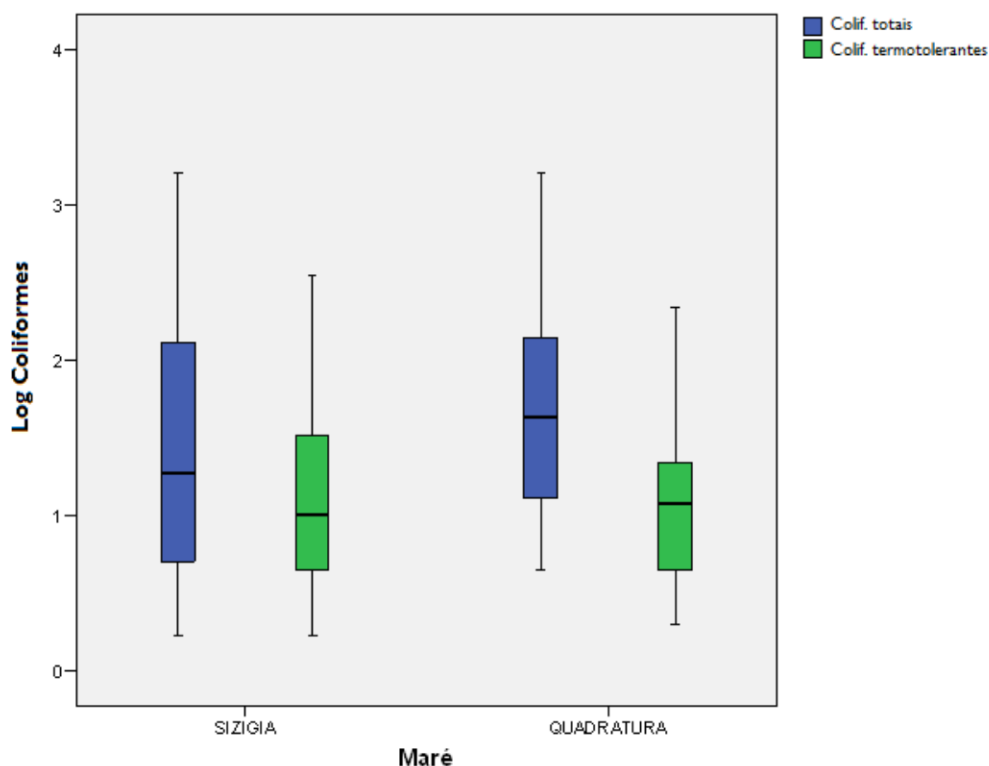
Os valores de pH foram de 7,00 a 8,38 (Tabela 1) estiveram de acordo com a recomendação da legislação vigente (BRASIL, 2005). Dados semelhantes foram observados em Vieira et al. (2008) que registraram valores de pH de 7,2 a 8,2 no estuário do Rio Pacoti, Ceará. Analisando descritivamente os dados de pH e temperatura não houve variações temporais (Figura 2), o qual também foi observado por Vieira; Vasconcelos e Carvalho (2007) que identificaram poucas variações de pH ao longo de um ano em estudo no estuário do Rio Jaguaribe, Ceará.

O pH é um dos indicadores fundamentais na interpretação da condição físico-química da água, permitindo a identificação de possíveis fontes geradoras de poluição. Valores extremos de pH podem afetar a vida aquática e o pH básico pode estar associado à proliferação de algas (VASCO et al., 2010).

Quanto à temperatura, a variável apresentou flutuação de 25 a 32,0 °C com maiores valores nos meses de novembro e fevereiro, e correlação negativa para coliformes termotolerantes (Tabela 2), corroborando com a faixa de temperatura dos achados de Martins et al. (2009) em água superficial do estuário do Rio Bacanga - Maranhão, cuja variação oscilou entre o mínimo de 28°C e o máximo de 31,5°C durante os meses de amostragem, tendo picos de temperatura no mês de outubro considerado período de seca.

A temperatura da água apresentou variação semelhante aos dados apresentados por Silva et al. (2003), Martins et al. (2009) e Oliveira (2014) considerando que estes estudos analisaram águas de estuário de área tropical da região nordeste.

Não houve correlação estatisticamente significativa entre as diferentes marés e a densidade de coliformes totais e termotolerantes, no entanto analisando descritivamente, observa-se maior variação na carga microbiana em marés de sizígia (Figura 3), assim como o estudo de Miquelante e Kolm (2011) que não detectaram variação da densidade desses microrganismos com a mudança de maré. Mignani et al. (2013) e Doi et al (2014) observaram que o número de coliformes foi significativamente diferente nas marés de sizígia e de quadratura.



**Figura 3.** Valores médios de coliformes totais e termololerantes quanto a variação de maré do estuário da Baía do Iguape, Bahia, 2014.

Considerando os dados do presente estudo observa-se a relevância de realizar o monitoramento de águas destinadas ao cultivo de moluscos, uma vez que esses fatores podem sofrer influências climáticas e ocorrer variações temporais.

#### 4.4 Conclusões

Diante dos achados foi possível concluir que os viveiros apresentam boa qualidade microbiológica da água superficial destinada à produção de ostra na Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape.

Os fatores ambientais influenciaram na população microbiana das águas analisadas, as quais apresentaram maiores densidades de coliformes totais com o declínio da salinidade e da turbidez, e maior quantificação de coliformes termotolerantes em menor temperatura e salinidade. Houve correlação positiva apenas quanto à precipitação pluviométrica e a população de coliformes totais e termotolerantes. Em marés de sizígia ocorre tendência de maior variação na densidade microbiana da água.

São necessários maiores investimentos em pesquisas e no monitoramento contínuo da qualidade da água utilizada na aquicultura favorecendo a competitividade e produção segura e sustentável.

#### 4.5 Referências

BLODGETT, R. *Appendix 2 - Most Probable Number from Serial Dilutions*. Bacteriological Analytical Manual. Washington D.C.: Washington 2010.

BRASIL. Resolução CONAMA Nº 357, de 17 de março de 2005 Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *D.O.U.*, 18.03.2005. Brasília, DF. p 58-63. 2005.

BRASIL. *Ministério da Pesca e Aquicultura*. Boletim estatístico da Pesca e aquicultura 2011. Brasília, 2011. p. 60.

BRASIL. *Ministério da Pesca e Aquicultura*. Balanço 2013 Pesca e Aquicultura. Brasília, 2013. p. 12.

BUTT, A. A.; ALDRIDGE, K. E.; SANDERS, C. V. Infections related to the ingestion of seafood Part I: viral and bacterial infections. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 4, p. 201-212, 2004.

CAMPOS, C. J. A.; KERSHAW, S. R.; LEE, R. J. Environmental Influences on Faecal Indicator Organisms in Coastal Waters and Their Accumulation in Bivalve Shellfish. *Estuaries and Coasts* v. 36, p. 834–853, 2013.

CHRISTO, S. W.; ABSHER, T. M.; KOLM, H. E.; CRUZ-KALED, A. C. D. Qualidade da água em área de cultivo de ostras na Baía de Guaratuba (Paraná – Brasil). *Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 14, n. 1, p. 67-71, 2008.

DOI, S. A.; BARBIERI, E.; MARQUES, H. L. D. A. Densidade colimétrica das áreas de extrativismo de ostras em relação aos fatores ambientais em Cananeia (SP). *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 19, n. 2, p. 165-171, 2014.

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

FAO. *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación*. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Roma, 2014. p. 253.

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

FORCELINI, H. C. D.-L.; KOLM, H. E.; ABSHER, T. M. *Escherichia coli* in the Surface Waters and in Oysters of Two Cultivations of Guaratuba Bay - Paraná - Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* v. 56, n. 2, p. 319-326, 2013.

GONZALEZ, M.; GRAÜ, C.; VILLALOBOS, L. B.; GIL, H.; VÁSQUES-SUÁREZ, A. Calidad microbiológica de la ostra *Crassostrea rhizophorae* y agua de extracción, estado Sucre, Venezuela. *Revista ciência FCV-LUZ*, v. 19, n. 6, p. 659-666, 2009.

GOURMELON, M.; LAZURE, P.; HERVIO-HEATH, D.; SAUX, J. C. L.; CAPRAIS, M. P.; GUYADER, F. S. L.; CATHERINE, M.; POMMEPUY, M. Microbial modelling in coastal environments and early warning systems: useful tools to limit shellfish microbial contamination. In: REES, G.; POND, K., *et al* (Ed.). *Safe Management of Shellfish and Harvest Waters*. London: World Health Organization (WHO), 2010. cap. 16, p.22.

IBGE. *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística*. Pesquisa de Orçamentos Familiares - POF 2008/2009. Rio de Janeiro, 2010. p. 282.

KELLER, R.; JUSTINO, J. F.; CASSINI, S. T. Assessment of water and seafood microbiology quality in a mangrove region in Vitória, Brazil. *Journal of Water and Health*, v. 11, n. 3, p. 573-580, 2013.



LEES, D. Viruses and bivalve shellfish. *International Journal of Food Microbiology*, v. 59, p. 81-116, 2000.

MARTINS, A. G. L. D. A.; NASCIMENTO, A. R.; VIEIRA, R. H. S. D. F.; SERRA, J. L.; ROCHA, M. M. R. M. Quantificação e identificação de *Aeromonas spp.* em águas de superfície do estuário do Rio Bacanga em São Luís / MA (Brasil). *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v. 27, n. 1, p. 107-118 2009.

MIGNANI, L.; BARBIERI, E.; MARQUES, H. L. D. A.; OLIVEIRA, A. J. F. C. D. Coliform density in oyster culture waters and its relationship with environmental factors. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, v. 48, n. 8, p. 833-840, 2013.

MIQUELANTE, F. A.; KOLM, H. E. Indicadores microbiológicos de poluição fecal na desembocadura da gamboa Olho D'água, Paraná: subsídio para o monitoramento da balneabilidade no Brasil. *PUBLICATIO UEPG: Biological and Health Sciences*, v. 17, n. 1, p. 21-35, 2011.

MORESCO, V.; VIANCELLI, A.; NASCIMENTO, M. A.; SOUZA, D. S. M.; RAMOS, A. P. D.; GARCIA, L. A. T.; SIMÕES, C. M. O.; BARARDI, C. R. M. Microbiological and physicochemical analysis of the coastal waters of southern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, v. 64, n. 1, p. 40-48, 2012.

MPA. Produção. 2014. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/index.php/aquicultura/producao>>. Acesso em: 20 fev. 2015.

OLIVEIRA, D. R. P.; CASTRO, A. C. L. D.; NASCIMENTO, A. R.; SOARES, L. S.; PORTO, H. L. R. Avaliação do grau de contaminação microbiológica do estuário do Rio Paciência, estado do Maranhão. *Arquivos de Ciências do Mar*, v. 45, n. 1, p. 56-61, 2012.

OLIVEIRA, N. L. D. *Avaliação do crescimento da ostra nativa Crassostrea (sacco, 1897) cultivada em estruturas de sistemas fixos nas localidades de Ponta Grossa (município de Vera Cruz) e Iguape (município de Cachoeira), região do Recôncavo, na Baía de Todos os Santos, Bahia*. 2014. 70 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.

PROST, C. Resex marinha versus polo naval na baía do Iguape. *Novos Cadernos NAEA*, v. 13, n. 1, p. 47-70, 2010.

RAMOS, R. J.; PEREIRA, M. A.; MIOTTO, L. A.; FARIA, L. F. B. D.; JUNIOR, N. S.; 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 Instituto Adolfo Lutz*, v. 69, n. 1, p. 29-37, 2010.

ROCHA, C. M. C. D.; RESENDE, E. K. D.; ROUTLEDGE, E. A. B.; LUNDSTED, L. M. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, v. 48, n. 8, p. 4-6, 2013.

SÁ, M. V. C.; BARBOSA, A. K. T.; GOMES, R. B. Correlação entre *Escherichia coli* e variáveis limnológicas em amostras de água da lagoa da Parangaba. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, v. 14, n. 2, p. 33 - 40, 2010.

SCHMITT, J. F. *Efeito de diferentes condições ambientais em áreas de cultivo sobre alimentação e biodeposição do mexilhão Perna perna*. 2002. 89 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SILVA, A. I. M.; VIEIRA, R. H. S. F.; MENEZES, F. G. R.; FONTELES-FILHO, A. A.; TORRES, R. C. O.; SANT'ANNA, E. S. Bacteria of fecal origin in mangrove oysters (*Crassostrea rhizophorae*) in the Cocó River Estuary, Ceará State, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* v. 34, p. 126-130, 2003.

VASCO, A. N.; RIBEIRO, D. O.; SANTOS, A. C. A. D. S.; JÚNIOR, A. V. M.; TAVARES, E. D.; NOGUEIRA, L. C. Qualidade da água que entra no estuário do rio Vaza Barris pelo principal fluxo de contribuição de água doce. *Scientia Plena*, v. 6, p. 1-10, 2010.

VIEIRA, R. H. S. D. F.; ATAYDE, M. A.; CARVALHO, E. M. R. D.; CARVALHO, F. C. T. D.; FILHO, A. A. F. Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): Isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 45, n. 3, p. 180-189, 2008.

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

VIEIRA, R. H. S. D. F.; VASCONCELOS, R. F.; CARVALHO, E. M. R. D. Quantificação de vibrios, de coliformes totais e termotolerantes em ostra nativa *Crassostrea rhizophorae*, e na água do estuário do Rio Jaguaribe, Fortim-CE. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v. 01, n. 01, p. 01 - 13, 2007.

## 5. CAPÍTULO II

Prevalência e bioacumulação de contaminação fecal em ostras e água de cultivo de uma unidade de conservação ambiental do Brasil

Colaboradores:

Gabrielly Sobral Neiva

Valéria Macedo Almeida Camilo

Jerusa da Mota Santana

Isabella de Matos Mendes Silva

Fábio de Souza Mendonça

**Prevalência e bioacumulação de contaminação fecal em ostras e água de cultivo de uma unidade de conservação ambiental do Brasil**

**Prevalence and bioaccumulation of fecal contamination in oysters and water of a protected area in Brazil**

**RESUMO**

Objetivou-se determinar a qualidade microbiológica de ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo de uma reserva extrativista, por meio de método rápido de contagem Petrifilm™ e da técnica do Número Mais Provável, além da verificação da influencia dos fatores ambientais, pH, temperatura, salinidade e precipitação pluviométrica. As contagens de coliformes totais e termotolerantes nas águas de cultivo variaram de <0,25 a 3,20 log NMP.100mL<sup>-1</sup> e <0,25 a 2,54 log NMP.100mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Observou-se que os viveiros 1 e 2 estavam impróprios para o cultivo de moluscos bivalves segundo a legislação brasileira, influenciado pela contaminação sazonal no período chuvoso. A contagem de *Escherichia coli* na ostra variou de 0,95 a 4,86 log UFC.g<sup>-1</sup>, estando os lotes sanitariamente satisfatórios conforme as legislações brasileira e internacional. Houve correlação negativa entre a temperatura e os micro-organismos existentes na água e positiva entre a temperatura e a densidade microbiana do animal. As ostras bioacumularam micro-organismos indicadores 1,6 vezes a densidade presente na água dos viveiros. É necessária a padronização de limite máximo permitido de micro-organismos entre os órgãos brasileiros, a fim de melhorar a qualidade sanitária da produção nacional de moluscos bivalves.

**Palavras-chave:** coliformes totais e termotolerantes, *Crassostrea*, estuário, fator acumulação.

## ABSTRACT

This study aimed to determine the microbiological quality of *Crassostrea rhizophorae* oyster and water an extractive reserve through method plate count of Petrifilm™ and technique Most Probable Number, as well as verification of the influence of factors environmental, pH, temperature, salinity and rainfall. The counts of total and fecal coliforms in the cultivation of water ranged from  $<0.25$  to  $3.20 \log \text{MPN.100mL}^{-1}$  and  $<0.25$  to  $2.54 \log \text{MPN.100mL}^{-1}$ , respectively. It was observed that the ponds 1 and 2 were unfit for the cultivation of bivalve under brazilian law, influenced by seasonal contamination due to the rainy season. *Escherichia coli* in the oyster counts ranged from  $0.95$  to  $4.86 \log \text{CFU.g}^{-1}$ , with the satisfactory sanitary lots according to brazilian and international laws. There was a negative correlation between temperature and microorganisms existing in water and positively between the temperature and the microbial density of the animal. Oysters accumulated indicator microorganisms 1.6 times the density of the concentration in the water cultivation area. It requires the maximum allowed standardization of microorganisms among brazilian agencies in order to improve the sanitary quality of domestic production of bivalve molluscs.

**Key words:** Total coliforms, Termoloterant coliforms, *Crassostrea*, estuaries, accumulation factor.

## 5.1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é um dos sistemas de produção com maior taxa de crescimento no mundo, principalmente devido à melhoria das técnicas de cultivo que tem impulsionado esse setor a expandir e proporcionar oportunidades de emprego e renda (BARROSO et al., 2007; OLIVEIRA, 2014).

Segundo a FAO (2008) os moluscos bivalves são atualmente o terceiro maior grupo de organismos marinhos em termos de produção aquícola, por ser uma fonte relativamente barata de proteína animal saudável em comparação com os peixes e crustáceos.

O estado da Bahia é o maior produtor de moluscos bivalves do nordeste do Brasil, ocupando a 5ª posição no *ranking* nacional com a produção em 2014 de 71,28 t (IBGE, 2016).

Dentre os bivalves de interesse comercial destacam-se ostras, da espécie *Crassostrea rhizophorae*, conhecida como ostra nativa ou ostra de mangue, que ocorre naturalmente no litoral do Brasil e são frequentemente consumidas cruas nas regiões litorâneas (RIOS, 1994).

As ostras são organismos filtradores que apresentam a capacidade de reter contaminantes bióticos e abióticos, abrigando uma rica e variada microbiota que costuma refletir as condições do ambiente e que pode conter agentes nocivos que causam riscos à saúde do consumidor (BUTT; ALDRIDGE; SANDERS, 2004; GARCIA, 2005).

Assim, as ostras são consideradas alimento de alto risco, estando amplamente associados a casos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) em humanos. A maioria das incidências de surtos associados ao consumo de ostra tem sido reproduzida no mundo desde 1898, especialmente relacionados ao seu consumo *in natura* (OLIVEIRA et al., 2011; RIPPEY, 1994; VIEIRA, 2004).

O programa de monitoramento baseado no exame microbiológico periódico da água de cultivo e dos moluscos bivalves, por meio da determinação de micro-organismos indicadores como os coliformes termotolerantes, dentre estes, a bactéria *Escherichia coli*, indicam contaminação por espécies patogênicas, tornando as ostras bioindicadores da qualidade do ecossistema marinho (FAO, 2004).

Considerando que a segurança do consumidor depende da sanidade do animal, a qual é influenciada pelas condições físico-químicas e microbiológicas do ambiente de origem, do manuseio e da tecnologia pós-captura, bem como da existência de legislação adequada, e considerando a carência de estudos que abordem os aspectos sanitários e a qualidade microbiológica da água de cultivo e de ostras em Unidade de Conservação, objetivou-se determinar a qualidade microbiológica de ostra e da água de cultivo da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, Brasil e a correlação com os fatores ambientais.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no setor norte da RESEX Marinha Baía do Iguape, município de Cachoeira–BA, em três pontos de coleta com o mesmo ecossistema aquático: viveiro 1 (12°39'12.00"S, 38°51'55.00"W), viveiro 2 (12°39'27.00"S, 38°51'20.00"W) e viveiro 3 (12°39'28.00"S, 38°51'23.00"W).

Foram utilizadas ostras *C. rhizophorae*, as quais foram cultivadas em sistema fixo, em duas fases do manejo: adaptação (30 dias de cativeiro) e engorda (300 dias de cativeiro). Estes bivalves foram coletados aleatoriamente sob as mesmas condições de cultivo, de novembro de 2013 a novembro de 2015 em períodos chuvosos e de estiagem, sendo 10 espécimes e 1 amostra de água de cada ponto. O restante das ostras dos travesseiros foi analisado após 12 meses em cativeiro correspondendo aos lotes selecionados.

As ostras foram coletadas diretamente dos travesseiros, acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso devidamente identificados, sendo transportadas vivas para análise no laboratório de Microbiologia do de Segurança Alimentar e Nutricional (SANUTRI) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

As ostras foram lavadas e abertas por inserção do arco das valvas, sendo utilizada para amostragem a carne e o líquido intealvar para a determinação microbiológica de coliformes totais (CT) e *Escherichia coli* (AOAC 991.14) por meio de método rápido de contagem por placas Petrifilm™ EC e *Staphylococcus aureus* por Petrifilm™ STX (3M Company).

As amostras de água subsuperficial, aproximadamente 30 cm de profundidade, foram colhidas em frascos estéreis por imersão, em maré enchente, tomando como base o comprimento do braço e a linha da água acima do cotovelo e a qualidade foi determinada pela densidade de coliformes totais e coliformes termotolerantes por meio da técnica do Número Mais Provável - NMP.

O monitoramento ambiental foi realizado mensurando os parâmetros pH, temperatura e salinidade utilizando multiparâmetros portátil e a precipitação pluviométrica acumulada em sete dias que antecederam a coleta foi obtida no Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais.

Os fatores de acumulação (FA) foram calculados como a média geométrica da densidade de *E. coli* em bivalve dividida pela densidade média geométrica do indicador fecal encontrado na água provenientes de amostras coletadas no mesmo momento.

Os dados foram analisados estatisticamente no software SPSS® versão 20.0 utilizando Teste de correlação de Pearson e análise de variância ANOVA.

### **5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Ao longo do monitoramento ambiental a temperatura da água dos viveiros variou de 25,0 a 33°C e o pH apresentou variação entre 7,00 e 8,64. A salinidade apresentou valores entre 2,09 e 33,1‰, sendo esta classificada predominantemente como água salobra conforme a Resolução CONAMA nº357/2005 (BRASIL, 2005). Não foi



observada diferença significativa dos parâmetros físico-químicos entre os pontos amostrais (Tabela 1).

As variáveis ambientais observadas no presente estudo apresentaram comportamento semelhante aos estudos realizados no setor norte da Baía do Iguape por GENZ (2006) que observou salinidade entre 23 e 26‰ e temperatura entre 28,2 e 30,6°C e OLIVEIRA (2014) que obteve salinidade na faixa de 18 a 30‰ e temperatura média de 25,89 ( $\pm 4,86$ ).

A determinação da qualidade do ecossistema aquático e seu grau de contaminação são considerados relevante para avaliar a sanidade das ostras, além dos impactos da contaminação por esgotos nesse ambiente e na saúde da população ribeirinha (KELLER; JUSTINO; CASSINI, 2013; ROCHA et al., 2013b).

As contagens de CT e termotolerantes nas águas de cultivo variaram de  $<0,25$  a  $3,20 \log \text{NMP} \cdot 100\text{mL}^{-1}$  e  $<0,25$  a  $2,54 \log \text{NMP} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ , respectivamente. Avaliando a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes na água observou-se que os viveiros 1 e 2 apresentaram resultados que os tornam impróprios para o cultivo de moluscos bivalves, segundo a legislação (BRASIL, 2005) por ultrapassar  $1,94 \log \text{NMP} \cdot 100\text{mL}^{-1}$  de coliformes termotolerantes no percentil 90% (Tabela 1), o qual foi influenciado pelas elevadas contagens microbianas dos meses de julho de ambos os anos, caracterizando uma contaminação sazonal decorrente do período chuvoso.

O presente estudo corrobora o de DOI; OLIVEIRA e BARBIERI (2015) ao analisarem água do estuário de Cananéia-SP quando observaram média geométrica geral dos coliformes termotolerantes dentro do limite estabelecido, no entanto apenas 78,10% estavam abaixo do critério estipulado em relação ao percentil, indicando que a água apresentava contaminação microbiológica.

Apesar de não existirem parâmetros para CT na legislação brasileira, uma vez que sua presença não indica necessariamente presença de enteropatógenos, é possível utilizar esse grupo de micro-organismos para determinar a densidade da microbiota do animal e a carga bacteriana do ambiente aquático no momento da coleta, uma vez que esses coliformes também estão presentes em ambientes e persistindo por tempo superior que as bactérias patogênicas de origem intestinal, além de apresentar a capacidade de se multiplicar na água com altos teores de nutrientes como é o caso dos estuários (KOLM; ANDRETTA, 2003).

Diante dessa inexistência de limites na legislação brasileira para coliformes totais em águas destinadas ao cultivo de moluscos foram utilizados os valores de referência do *National Shellfish Sanitation Program* da agência sanitária americana (FDA). Seguindo esses parâmetros, ao analisar os dados obtidos é possível observar contagens médias abaixo do limite estabelecido, no entanto 16,67% das amostras do ponto 1 apresentaram resultados acima do critério de segurança, o qual determina que apenas 10% das amostras podem apresentar densidade de coliformes totais  $> 2,36 \log \text{NMP} \cdot 100\text{mL}^{-1}$  (FDA, 2013).

Considerando esses critérios internacionais de avaliação da qualidade por coliformes totais, a água do ponto 1 não apresenta contaminação intermitente nem fonte de poluição pontual. Ressalta-se a importância da padronização de coliformes totais e termotolerantes para determinação da qualidade sanitária das águas destinadas à aquicultura, além disso, os aspectos ambientais como pluviosidade necessitam ser observados, sendo que estratégias de monitoramento e controle devem ser aplicadas em caso de oscilação da densidade microbiana em consequência das chuvas, uma vez que a qualidade da água em uma área pode flutuar com a descarga de um rio ou com a precipitação na região que pode causar o escoamento de quantidades maciças de fezes

humanas ou animais, provenientes de superfícies de terra adjacentes (poluição não pontual), para a área de cultivo por meio da drenagem hídrica (FDA, 2013).

Avaliando a qualidade microbiológica das ostras observou-se que todos os lotes analisados apresentaram contagem de *S. aureus*  $<1 \log \text{ UFC.100g}^{-1}$ , estando de acordo o limite estabelecido pela RDC nº 12/2001 que é de até  $3 \log \text{ UFC.g}^{-1}$  (BRASIL, 2001) e de acordo com os limites de *E. coli* de  $1,30 \log \text{ UFC.100g}^{-1}$  e  $2,36 \log \text{ UFC.100g}^{-1}$  para partes comestíveis de moluscos segundo as normas do FDA (FDA, 2013) e do *Codex Alimentarius* (CODEX, 2008), respectivamente, de tal modo que os lotes de ostras analisados estavam sanitariamente satisfatórios conforme as legislações brasileira e internacional (Tabela 2).

Segundo os critérios do Ministério da Pesca e Aquicultura, a área em estudo atende aos requisitos de inocuidade e qualidade, por apresentar densidade de *E. coli*  $<2,36 \log \text{ UFC.100g}^{-1}$  em todos os lotes, permitindo a retirada dos locais de cultivo, sem restrições, de moluscos bivalves destinados ao consumo humano (BRASIL, 2012).

Quanto aos indicadores microbiológicos das ostras ao longo do monitoramento dos três viveiros foi possível observar maiores contagens de coliformes totais e *E. coli* nos pontos 1 e 2 (Tabela 2), no entanto, não houve diferença significativa entre os pontos amostrais. Além disso, foi observada maior densidade microbiana na água que nas ostras, conforme observado em estudos de DOI; OLIVEIRA e BARBIERI (2015) e SANDE et al. (2010).

Avaliando a qualidade microbiológica de *C. rhizophorae* no setor sul da Baía de Iguape, EVANGELISTA-BARRETO et al. (2014) observaram que as contagens de coliformes totais e termotolerantes nas amostras de ostra variou de  $3,34$  a  $6,11 \log \text{ NMP.100 g}^{-1}$  e  $0,95$  a  $5,66 \text{ NMP/100 g}^{-1}$ , respectivamente. Tais dados apontam que o setor sul dessa baía apresenta maior contaminação fecal quando comparada ao setor

norte, área do presente estudo, está atribuído à proximidade do canal de São Roque, e conseqüentemente, maior exposição aos contaminantes, uma vez que a Baía do Iguape é uma área de conservação ambiental que apresenta menor população ribeirinha e inexistência de instalação de indústrias.

Ressalta-se que a microbiota da carne da ostra está intimamente relacionada com as condições ambientais, a distância entre o local de captura/ cultivo e áreas contaminadas e a qualidade sanitária da água, sendo esta última o ponto chave para obtenção de um produto com boa qualidade microbiológica (FELDHUSEN, 2000).

Realizando a correlação entre os parâmetros ambientais e microbiológicos nota-se que a temperatura apresentou significativa correlação negativa com CT ( $r = -0,407$ ,  $p = 0,001$ ) e coliformes termotolerantes ( $r = -0,583$ ,  $p = 0,001$ ) na água e positiva nos animais com a densidade de CT ( $r = 0,209$ ,  $p = 0,018$ ) e *E.coli* ( $r = 0,264$ ,  $p = 0,041$ ).

A absorção de micro-organismos por bivalves é controlada pela taxa de filtração da água, a qual é acelerada principalmente pelo aumento da temperatura (SOLIC et al., 1999), elevando a densidade microbiana desses animais nos períodos mais quentes, e conseqüentemente, aumentando sua contaminação.

Quanto à salinidade obteve-se correlação negativa significativa com CT da água ( $r = -0,582$ ,  $p = 0,001$ ) e da ostra ( $r = -0,372$ ,  $p = 0,003$ ) e *E.coli* da ostra ( $r = -0,468$ ,  $p = 0,001$ ), e a pluviosidade apresentou correlação positiva apenas para os coliformes termotolerantes da água ( $r = 0,255$ ,  $p = 0,049$ ).

VIEIRA et al. (2008) apontaram que as concentrações de sais podem funcionar como fator limitante para multiplicação microbiana, uma vez que as bactérias do grupo coliformes apresentam pouca tolerância à salinidade das águas.

O aumento na precipitação pluviométrica pode contribuir para a lixiviação, por meio do escoamento de dejetos do entorno da baía, uma vez que a comunidade ribeirinha

não dispõe de saneamento, contribuindo para o aumento dos níveis dos indicadores fecais na água, como também observado por DOI; OLIVEIRA e BARBIERI (2015), MIGNANI et al. (2013) e VIEIRA et al. (2008).

No presente estudo não houve correlação significativa entre a densidade bacteriana da água e de *C. rhizophorae* para coliformes totais e termoloterantes/*E. coli*, assim como observado no estudo de SANDE et al. (2010) com a mesma espécie de bivalve em Ilhéus-BA. Além disso, nossos dados evidenciaram elevada densidade microbiana na água em alguns períodos do ano, o que levou a condenação da qualidade dos viveiros 1 e 2. A baixa contagem de *E. coli* nos lotes de ostra, determinaram a boa qualidade sanitária da produção, apesar da exposição dos animais aos contaminantes aquáticos.

KOLM e ANDRETTA (2003) e FARIAS (2008) ponderam quanto as correlações entre a microbiota da água e dos animais aquáticos, uma vez que a determinação microbiana da água reflete a contaminação pontual no momento da coleta, enquanto que a análise da ostra reflete as alterações bióticas e abióticas ocorridas por longos períodos devido às características e atividade do animal.

A bioacumulação e eliminação cinética de enterobactérias pelos moluscos bivalves varia com a espécie do animal, o seu estado fisiológico, os tipos de micro-organismos e condições ambientais. Para micro-organismos indicadores de contaminação fecal o fator de acumulação entre a água e molusco pode atingir concentrações de 100 vezes maiores nos bivalves que no ambiente (BURKHARDT; CALCI, 2000; GOURMELON et al., 2010).

Obtivemos FA médio de 1,60 para coliformes termotolerantes, ou seja, os animais em estudo apresentam baixa taxa de acumulação de micro-organismos indicadores presentes na água dos viveiros, comparado com outros estudos realizados no mundo.

Ressalta-se que a taxa de acumulação não é dependente apenas da concentração de coliformes na água, mas sim da relação do micro-organismo sobre as partículas totais ingeridas pelo animal (CABELLI; HEFFERNAN, 1970), a qual não foi evidenciada no presente estudo.

Segundo GREENING e WOLF (2010) as bactérias são geralmente eliminadas naturalmente no prazo de 2-3 dias, observamos que, apesar da elevação sazonal da densidade de coliformes termotolerantes na água dos viveiros, a capacidade de autodepuração favoreceu a qualidade sanitária dos animais, principalmente, os espécimes com tamanho comercial.

Foi observada variação do fator de acumulação de coliformes termotolerantes em ostras do gênero *Crassostrea* em alguns estudos. No Golfo do México-USA, BURKHARDT e CALCI (2000) observaram FA de *E. coli* 4,4 e SHIEH et al. (2003) detectaram FA de coliformes 28 vezes maior nas ostras que na água; e DEROLEZ et al. (2013) obtiveram FA médio de 30,5 no lago Thau-França.

Quanto ao FA médio dos animais observamos que os espécimes em adaptação ( $3,41 \pm 1,17$ ) apresentam maior FA que os de engorda ( $0,74 \pm 0,20$ ), de forma que houve correlação negativa significativa com a salinidade (Pearson  $r = -0,863$  e  $p = 0,027$ ) e com o tempo dos animais em cativeiro (Pearson  $r = -0,896$  e  $p = 0,016$ ) com a bioacumulação.

A capacidade de filtração é influenciada pela salinidade, como observado no presente estudo, no qual as ostras apresentaram maior FA quando a salinidade estava mais próxima ao ótimo, abaixo de 28‰. Tais dados corroboram os de GUZMÁN-AGÜERO et al. (2013) cujos achados demonstraram que taxas de filtração e de depuração de ostras nativas diminuíram significativamente com o aumento da salinidade. Isso ocorre devido à característica adaptativa do gênero *Crassostrea* às mudanças do ambiente estuarino, a qual reduz seu metabolismo para manter as concentrações

osmóticas dos seus fluidos corporais em níveis aceitáveis para um bom desenvolvimento fisiológico (FUNO et al., 2015).

A comparação de conteúdo bacteriano em ostras e das águas de cultivo é de particular interesse para as agências sanitárias, no entanto, ainda não estão disponíveis índices mais precisos de qualidade da água e de segurança microbiológica dos bivalves, e assim garantir a saúde dos consumidores (KERSHAW; CAMPOS; KAY, 2012; OLIVEIRA et al., 2011).

#### **5.4 CONCLUSÃO**

Diante dos resultados obtidos na presente pesquisa observamos que as ostras cultivadas na RESEX Marinha Baía do Iguape apresentam qualidade sanitária satisfatória segundo os parâmetros da legislação brasileira e internacional, e que, apesar dos episódios sazonais de contaminação das águas dos viveiros, os animais apresentaram baixa taxa de bioacumulação, resultando na sua inocuidade, de forma que podem ser usados como fonte de emprego e renda para a população ribeirinha beneficiária da Unidade de Conservação.

Salienta-se que a determinação da qualidade e a liberação dos bivalves para comercialização devem ser pautadas na avaliação dos fatores ambientais e da sanidade animal.

A divergência de parâmetros na legislação brasileira aponta para a necessidade de padronização pelos órgãos ambiental e sanitário, destacando a avaliação dos parâmetros microbiológicos do ambiente e do animal em conjunto, a fim de melhorar os critérios de monitoramento, obtendo um maior respaldo acerca da qualidade sanitária da produção nacional de moluscos bivalves para consumo humano.

## 5.5 AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão de bolsa e à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo auxílio financeiro.

## 5.6 REFERÊNCIAS

- BRASIL. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. D.O.U. Brasília, DF: Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 53 p. 2001.
- BRASIL. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. D.O.U. Brasília, DF: Resolução CONAMA Nº 357, de 17 de março de 2005 58-63 p. 2005.
- BRASIL. Institui o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB), estabelece os procedimentos para a sua execução e dá outras providências. D. O. U. Brasília,DF: Instrução Normativa Interministerial nº 7, de 8 de maio de 2012 2012.
- BURKHARDT, W.; K. R. CALCI. Selective accumulation may account for shellfish-associated viral illness. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, n.4, p.1375–1378. 2000.
- BUTT, A. A., et al. Infections related to the ingestion of seafood Part I: viral and bacterial infections. **The Lancet Infectious Diseases**, v.4, p.201-212. 2004.
- CABELLI, V. J.; W. P. HEFFERNAN. Accumulation of *Escherichia coli* by the Northern Quahaug. **Applied Microbiology**, v.19, n.2, p.239-244. 1970.
- CODEX. Standard for live and raw bivalve molluscs. CODEX STAN 292-2008: Codex Alimentarius: 1-7 p. 2008.
- DEROLEZ, V., et al. Impact of weather conditions on *Escherichia coli* accumulation in oysters of the Thau lagoon (the Mediterranean, France). **Journal of Applied Microbiolog**, v.114, n.2, p.516-525. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/jam.12040>>.
- DOI, S. A., et al. Determinação de coliformes na água e no tecido mole das ostras extraídas em Cananéia, São Paulo, Brasil. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v.20, n.1, p.111-118. 2015.
- EVANGELISTA-BARRETO, N. S., et al. Presença de enteropatógenos resistentes a antimicrobianos em ostras e sururus da Baía do Iguape, Maragogipe (Bahia). **Revista acadêmica**, v.12, n.1, p.1-10. 2014.
- FAO. Report of the Joint FAO/IOC/WHO Expert Consultation on Biotoxins in Bivalve Molluscs. Oslo, Norway: Food and Agriculture Organization of United Nation: 40 p. 2004.
- FARIAS, H. **Qualidade higiênico-sanitária na cadeia produtiva de ostras, *Crassostrea sp.*, cultivadas na Baía de Guaratuba, PR, Brasil**. Programa de Pós – Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008. 94 p.
- FDA. National Shellfish Sanitation Program (NSSP). Guide for the Control of Molluscan Shellfish: Food and Drug Administration: 438 p. 2013.



- FELDHUSEN, F. The role of seafood in bacterial foodborne diseases. **Microbes and Infection**, v.2, p. 1651–1660. 2000.
- FUNO, I. C. D. S. A., et al. Influência da salinidade sobre a sobrevivência e crescimento de *Crassostrea gasar*. **Boletim Instituto da Pesca**, v.41, n.4, p.837 – 847. 2015.
- GARCIA, A. N. **Contaminação microbiológica na área de cultivo de moluscos bivalves de anchieta (Espírito Santo, Brasil)**. Departamento de Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2005. 68 p.
- GENZ, F. **Avaliação dos efeitos da barragem pedra do cavalo sobre a circulação estuarina do Rio Paraguaçu e Baía de Iguape**. Programa de Pós-Graduação Em Geologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2006. 266 p.
- GOURMELON, M., et al. Microbial modelling in coastal environments and early warning systems: useful tools to limit shellfish microbial contamination. In: G. Rees, K. Pond, *et al* (Ed.). **Safe Management of Shellfish and Harvest Waters**. London: World Health Organization (WHO), 2010, p.22
- GREENING, G. E.; S. WOLF. Calicivirus Environmental Contamination. In: G. S. Hansman, X. J. Jiang, *et al* (Ed.). **Caliciviruses: Molecular and Cellular Virology**. Norfolk, UK: Caister Academic Press, 2010. Calicivirus Environmental Contamination, p.25-44
- GUZMÁN-AGÜERO, J. E., et al. Feeding physiology and scope for growth of the oyster *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951) acclimated to different conditions of temperature and salinity. **Aquaculture International**, v.21, p.283–297. 2013. Disponível em doi: 10.1007/s10499-012-9550-4.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Pecuária Municipal**. 2016. Disponível em: <  
<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=3940&n=0&u=0&z=t&o=21&i=P>  
>. Acesso em: 25.01.2016.
- KELLER, R., et al. Assessment of water and seafood microbiology quality in a mangrove region in Vitória, Brazil. **Journal of Water and Health**, v.11, n.3, p.573-580. 2013. Disponível em doi: 10.2166/wh.2013.245.
- KOLM, H. E.; L. ANDRETTA. Bacterioplankton in different tides of the perequê tidal creek, Pontal do Sul, Paraná, Brasil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.34, p.97-103. 2003.
- MIGNANI, L., et al. Coliform density in oyster culture waters and its relationship with environmental factors. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v.48, n.8, p.833-840. 2013.
- OLIVEIRA, J., et al. Microbial contamination and purification of bivalve shellfish: Crucial aspects in monitoring and future perspectives e A mini-review. **Food control**, v.22, p.805-816. 2011. Disponível em doi: 10.1016/j.foodcont.2010.11.032.
- OLIVEIRA, N. L. D. **Avaliação do crescimento da ostra nativa *Crassostrea (sacco, 1897)* cultivada em estruturas de sistemas fixos nas localidades de Ponta Grossa (município de Vera Cruz) e Iguape (município de Cachoeira), região do Recôncavo, na Baía de Todos os Santos, Bahia**. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2014. 70 p.
- RIOS, E. C. **Seashells of Brazil**. Rio Grande: Editora da FURG. 1994
- SANDE, D., et al. Prospecção de moluscos bivalves no estudo da poluição dos rios Cachoeira e Santana em Ilhéus, Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.47, n.3, p.190-196. 2010.
- SHIEH, Y. C., et al. Molecular surveillance of enterovirus and norwalk-like virus in oysters relocated to a municipal-sewage-impacted Gulf estuary. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, n.12, p.7130–7136. 2003.

SOLIC, M., et al. The rate of concentration of faecal coliforms in shellfish under different environmental conditions. **Environment International**, v.25, n.8, p.991-1000. 1999.

VIEIRA, R. H. S. D. F., et al. Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): Isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.45, n.3, p.180-189. 2008.

Tabela 1 - Médias e desvios-padrão da densidade microbiana da água de viveiros de *Crassostrea rhizophorae* e variáveis ambientais da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, Brasil, 2015

Parâmetro	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Limite legislação
Média geométrica Coliformes totais (log NMP.100mL <sup>-1</sup> )	1,60 (0,93)	1,52 (0,68)	1,48 (0,67)	1,85*
Média geométrica Coliformes termotolerantes (log NMP.100mL <sup>-1</sup> )	1,21 (0,63)	1,26 (0,55)	1,16 (0,53)	1,15* 1,63**
Percentil coliformes termotolerantes	2,01	1,97	1,85	1,94**
Pluviosidade (mm.semana)	39,74	39,74	39,74	-
Temperatura (°C)	28,75 (2,21)	29,55 (2,34)	29,31 (2,21)	-
Salinidade (‰)	25,83 (6,91)	26,50 (6,83)	26,55 (5,98)	0,5 a 30
pH	7,83 (0,39)	7,85 (0,37)	7,85 (0,35)	6,5 a 8,5

\*FDA – NSSP/2013; \*\* CONAMA nº357/2005

Tabela 2 - Densidade microbiana de *Crassostrea rhizophorae* (log UFC.100g<sup>-1</sup>) cultivadas na Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, Brasil, 2013 – 2015

	Ponto 1		Ponto 2		Ponto 3	
	CT	<i>E.coli</i>	CT	<i>E. coli</i>	CT	<i>E. coli</i>
Média monitoramento	2,76	1,43	2,73	1,38	2,69	1,22
Mediana monitoramento	2,69	0,97	2,61	1,00	2,83	0,97
DP monitoramento	0,92	0,69	0,91	0,88	0,65	0,41
Mínima monitoramento	1,38	0,95	1,26	0,95	1,08	0,95
Máxima monitoramento	4,96	3,11	5,26	4,86	3,68	2,49
Lote 1	1,30	<1	1,78	<1	2,04	<1
Lote 2	1,30	<1	1,48	<1	1	<1
Lote 3	170	1	2,11	1	1,48	<1
Lote 4	1	<1	1,30	<1	<1	<1
Lote 5	1,60	<1	<1	<1	1,48	<1

## 6. CAPÍTULO III

Parasitos na ostra *Crassostrea rhizophorae* cultivada na Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, Brasil

Colaboradores:

Guisla Boehs

Valéria Macedo Almeida Camilo

Jamile da Conceição Souza

Isabella de Matos Mendes Silva

Fábio de Souza Mendonça

Manuscrito a ser submetido à revista Brazilian Journal of Veterinary Parasitology.

**Parasitos na ostra *Crassostrea rhizophorae* cultivada na Reserva Extrativista  
Marinha Baía do Iguape, Bahia, Brasil**

**Parasites of the oyster *Crassostrea rhizophorae* cultivated in the Marine Extractive  
Reserve of Iguape Bay, Bahia, Brazil**

**Resumo**

O presente estudo investigou parasitos na ostra *Crassostrea rhizophorae* cultivada na Baía do Iguape, Bahia, Brasil no período de novembro de 2013 a julho de 2015. Foram coletados 300 espécimes em três pontos, os quais foram abertos, examinados macroscopicamente e fixados em formalina a 10%. Estes foram processados por técnica histológica de rotina, com inclusão em parafina e coloração com hematoxilina de Harris e eosina. Os cortes histológicos foram examinados e descritos utilizando microscopia de luz. Foi observada a ocorrência dos seguintes patógenos: organismos assemelhados a *Rickettsia* (RLOs), *Nematopsis* sp. (Apicomplexa), e *Urastoma* sp. (Turbellaria), além de uma metacercária e um metazoário, ambos não identificados. As prevalências variaram de 3,3 a 80%. A salinidade foi o fator abiótico que mais influenciou na ocorrência das infecções parasitárias, tendo esse fator apresentado correlação negativa para a presença total de parasitos ( $r = -0,438$ ). Apesar da elevada prevalência de parasitos, principalmente de *Nematopsis* sp., não foi evidenciado nenhum patógeno constante na lista de notificação obrigatória da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE). Concluiu-se que nenhum dos parasitos causou danos expressivos ao hospedeiro, o que atesta o bom estado geral de saúde de *C. rhizophorae* nessa região sob condição de cultivo.

Palavras-chave: ostra, histopatologia, *Nematopsis*, bivalve, área de conservação, ostreicultura.

**Abstract**

This study investigated parasites in the oyster *Crassostrea rhizophorae* from a farmed in the Iguape Bay, Bahia, Brazil from November 2013 to July 2015. We collected 300 specimens in three points, which were opened, examined macroscopically, and then fixed in formalin 10%. The routine histological techniques, with embedded in paraffin and stained with Harris hematoxylin and eosin, was used. The histological sections were examined and described using optical microscopy. The occurrence of the following pathogens was observed: *Rickettsia*-like organisms (RLOs), *Nematopsis* sp. (Apicomplexa) and *Urastoma* sp. (Turbellaria) plus a metacercariae and a metazoan, both unidentified. The prevalences ranged from 3.3 to 80%. Salinity was the abiotic factor that most influenced the occurrence of parasitic infections, and this factor presented negative correlation to the overall presence of parasites ( $r = -0.438$ ). Although the high prevalence of parasites, especially *Nematopsis* sp., it has not shown any constant pathogen in the obligatory notification of the World Organisation for Animal Health (OIE). We concluded that none of the parasites caused significant harm to the host, which attests that these cultivated oysters were in a healthy condition.

**Keywords:** oyster, histopathology, *Nematopsis*, bivalves, conservation area, oyster farming

## 6.1 Introdução

O cultivo de moluscos, e conseqüentemente, o incremento na demanda da introdução e transferência de diferentes espécies, aumentam o risco de propagação de parasitos e doenças em todo o mundo (BOWER et al., 1994), cujos impactos podem ocasionar efeitos significativos em termos de viabilidade e sustentabilidade da produção aquícola (SHINN et al., 2015).

O estudo das enfermidades que afetam os moluscos bivalves de interesse econômico é relevante tanto para a gestão de estoques naturais quanto para a aquicultura, além de ser útil para a avaliação da qualidade sanitária para o consumo humano (BOEHS et al., 2010). Conforme Boehs et al. (2012), protozoários (Ciliophora, Apicomplexa, Perkinsozoa e Microspora) e metazoários (Turbellaria, Digenea, Cestoda, Polychaeta, Pinnotheridae e Copepoda) estão entre os principais patógenos de ostras do litoral brasileiro, sendo que alguns destes apresentam potencial epizootico e, portanto, podem causar mortalidade em massa.

No Brasil, a produção de bivalves em 2014 foi de 22.091,88 t, movimentando 93,33 milhões de reais, onde o estado da Bahia despontou como o quinto produtor nacional, sendo favorecido pelo extenso litoral de 1.188 km, representando 13,2% da costa brasileira (IBGE, 2016). Esta região apresenta grande número de estuários, cujas bordas caracterizam-se pela formação de mangues arbóreos, ricos em numerosas espécies utilizadas na comercialização e na alimentação de subsistência, com destaque a bivalves como ostras (BAHIA PESCA, 1994).

A ostra *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) é cultivada, de forma extensiva, em alguns estuários do estado da Bahia, envolvendo principalmente comunidades extrativistas tradicionais, como é o caso da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape (LUZ; BOEHS, 2015).

Os primeiros achados de parasitos em *C. rhizophorae* na Bahia foram relatados por Nascimento et al. (1986) na Baía de Todos os Santos, e mais recentemente por Boehs et al (2009) e por Luz e Boehs (2015) na Baía de Camamu, Sande et al. (2010) na região estuarina do rio Cachoeira (Ilhéus), Zeidan et al. (2012) e Brandão et al. (2013) no litoral sul do estado e ainda por Cova et al. (2015) no estuário do rio Graciosa (Taperoá).

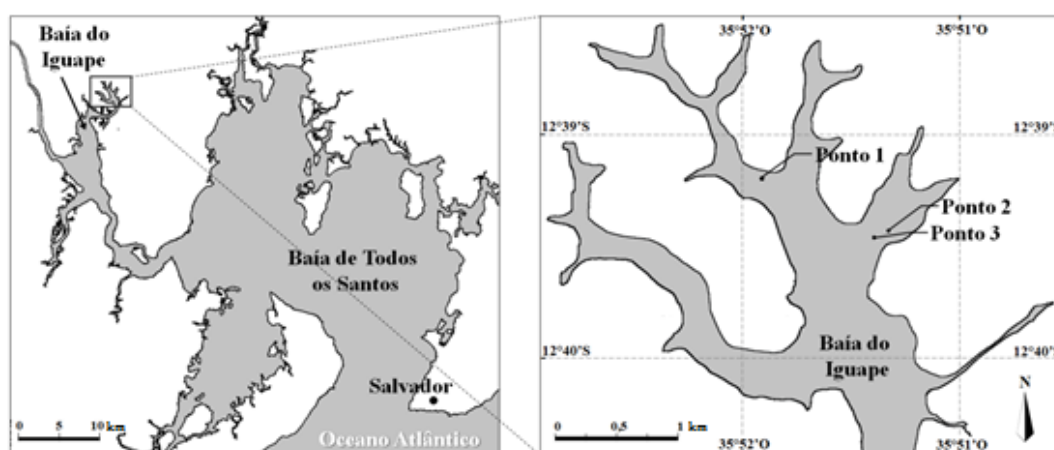
A expansão do cultivo de ostras em comunidades nas regiões costeiras do Brasil destaca a necessidade de estudos relativos a doenças em moluscos bivalves causadas por parasitos, uma vez que o aumento do cultivo pode desencadear a disseminação desses organismos, através da proximidade e densidade dos espécimes (COVA et al., 2015). Diante do exposto e da escassez de estudos deste tema na região estuarina do rio Paraguaçu, o presente estudo investigou parasitos na ostra *C.rhizophorae* cultivadas na Baía do Iguape, Bahia, Brasil.

## 6.2 Material e métodos

### *Delineamento amostral*

A presente pesquisa foi realizada no setor norte da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, município de Cachoeira, Bahia, devidamente autorizado pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio (nº 42081-1).

Os exemplares, provenientes de sistema suspenso tipo bancada, foram coletados em três pontos de coleta, considerados representativos da área total de cultivo, os quais apresentaram distância máxima de 1 km entre si, a saber: Ponto 1 (12°39'12.00"S, 38°51'55.00"W), Ponto 2 (12°39'27.00"S, 38°51'20.00"W) e Ponto 3 (12°39'28.00"S, 38°51'23.00"W) (Figura 1).



**Figura 1.** Pontos de coleta nos viveiros de cultivo da ostra *Crassostrea rhizophorae* localizados no setor norte da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, 2014.

As coletas (N = 10) foram realizadas entre novembro de 2013 e julho de 2015, tendo sido colhidos 10 espécimes por ponto, totalizando 300 animais. Em cada coleta, foram mensuradas *in locu* a temperatura e a salinidade da água, utilizando um

equipamento multiparâmetros portátil WaterQuality Meter AK88 (Akso®). Os dados da precipitação pluviométrica acumulada mensal foi obtida no Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais- INPE.

#### *Análise parasitológica*

Os processamentos dos tecidos foram realizados no Núcleo de Segurança Alimentar e Nutricional (SANUTRI) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e no Laboratório de Histologia da Fundação Oswaldo Cruz. As ostras foram inicialmente lavadas em água corrente, abertas mediante inserção com uma faca entre as valvas, com secção do músculo adutor, para a separação do animal da concha. Posteriormente, estas foram examinadas macroscopicamente e fixadas em formalina a 10% por 24 horas. Em seguida, foi removida uma secção transversal de tecidos de, aproximadamente, 5 mm, contendo manto, brânquias, gônada e glândula digestiva. Os tecidos passaram por processamento histológico de rotina, com desidratação em série etílica crescente, diafanização em xileno e inclusão em parafina, com posterior obtenção de cortes com 5 µm de espessura utilizando micrótomo, sendo em seguida corados com hematoxilina de Harris e eosina (HE) (HOWARD; SMITH, 2004). As sessões de tecidos foram examinadas e descritas utilizando microscópio de luz, tendo sido avaliada a presença dos parasitos e os locais de infecção.

A prevalência dos parasitos foi calculada segundo Bush et al. (1997), definida como o número de ostras infectadas dividida pelo número total de ostras coletadas e expressa em porcentagem. Para a determinação da intensidade de infecção, fez-se a contagem visual do número de parasitos por corte histológico.

Para o tratamento estatístico, foi realizada análise descritiva, seguida pelo teste de Mann-Whitney para verificar diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em escala temporal e espacial dos dados. Para verificar possível correlação da ocorrência dos parasitos em relação aos parâmetros ambientais, aplicou-se o teste de correlação de Spearman utilizando o programa SPSS versão 20.

### **6.3 Resultados**

A temperatura da água variou de 25,7 a 32,2°C e a salinidade entre 8,9 e 33‰. Não houve diferença significativa na variação desses parâmetros entre os pontos amostrais. Os acumulados mensais de pluviosidade variaram entre 48,3 e 342,5 mm,



sendo que os menores e maiores valores foram observados em novembro de 2014 e em fevereiro de 2015, respectivamente (Tabela 1).

Não foram observadas evidência macroscópica de alterações nos tecidos, nem de presença de parasitos, entretanto a análise microscópica mostrou os seguintes parasitos: organismos assemelhados a *Rickettsia* (RLOs), *Nematopsis* sp. (Apicomplexa), *Urastoma* sp. (Turbellaria), além de uma metacercária e um metazoário, ambos não identificados em função de evidências morfológicas insuficientes para tal.

**Tabela 1.** Temperatura (°C) e salinidade (‰) dos três pontos de coleta e precipitação pluviométrica acumulada (mm) da RESEX Marinha Baía do Iguape, Bahia, novembro de 2013 e julho de 2015.

Coleta	Ponto 1		Ponto 2		Ponto 3		Pluviosidade
	T	S	T	S	T	S	
Nov/13	30,0	8,9	32,1	13,3	32,2	13,2	78,2
Fev/14	30,3	25,8	31,5	26,4	31,2	26,3	120,7
Mai/14	27,2	27,8	28,9	25,3	28,9	24,7	152,1
Jul/14	26,6	25,8	27,0	26,8	26,8	27,0	178,1
Ago/14	25,7	24,1	25,8	24,3	26,0	24,8	91,9
Out/14	29,9	29,1	30,5	30,1	29,9	30,2	51,1
Nov/14	28,6	31,9	28,7	32,1	28,9	32,3	48,3
Fev/15	31,3	32,5	31,6	33,0	31,1	33,0	107,9
Abr/15	30,8	27,9	31,5	28,4	30,8	28,7	342,5
Jul/15	27,5	24,7	28,1	25,5	27,4	25,5	127,8

A presença de parasitos em *C. rhizophorae* foi evidenciada em todas as campanhas e nos três pontos amostrais. A análise microscópica evidenciou que dos 300 exemplares analisados, 56,7% (n=170) apresentaram algum parasito. As prevalências específicas estão apresentadas na Tabela 2.

Observou-se semelhança estatística na prevalência dos parasitos entre os pontos amostrais ( $p=0,209$ ). Quanto à análise temporal, houve diferença significativa ( $p = 0,001$ ) nas prevalências nas diferentes campanhas de coletas. Foi também possível notar que a coleta de julho de 2014 apresentou a maior prevalência em termos de infecção parasitária, resultado este que foi decorrente da elevada prevalência de *Nematopsis* sp. e de *Urastoma* sp. (Tabela 2). Coincidentemente, nesse mês houve um declínio da salinidade, por sua vez, causado pela alta precipitação pluviométrica no período (178,1mm). Os resultados desse período geraram uma correlação negativa fraca entre a presença total de parasitos ( $r= -0,438$ ;  $p=0,015$ ) e esse parâmetro. Essa correlação foi também evidenciada quando

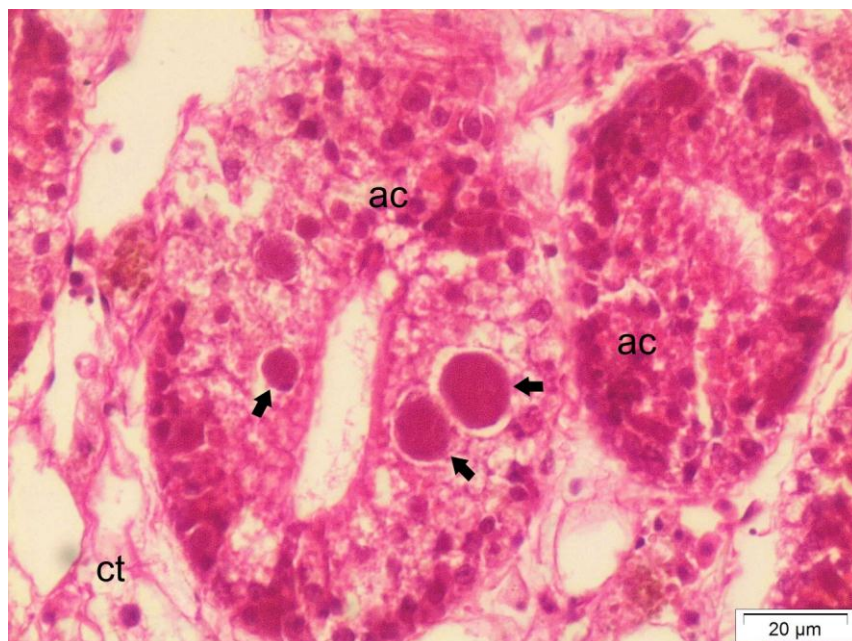
analisada separadamente para *Nematopsis* sp. ( $r = -0,408$ ;  $p = 0,025$ ) e para *Urastoma* sp. ( $r = -0,445$  e  $p = 0,014$ ).

**Tabela 2.** Prevalência (%) de parasitos em *Crassostrea rhizophorae* em um cultivo suspenso na RESEX Marinha Baía do Iguape, Bahia, entre novembro de 2013 e julho de 2015 (n = 300). RLOs – Organismos assemelhados a *Rickettsia*; NI = não identificado.

Coleta	RLOs	<i>Nematopsis</i> sp.	<i>Urastoma</i> sp.	Metazoário NI	Metacercária NI	Total
Nov/13	3,3	73,3	3,3	0	0	76,7
Fev/14	0	80,0	0	0	0	80,0
Mai/14	0	32,3	6,5	0	0	38,7
Jul/14	0	80,0	30,0	0	3,3	83,3
Ago/14	0	48,3	10,3	0	0	55,2
Out/14	0	60,0	6,7	0	0	66,7
Nov/14	0	70,0	0	0	0	70,0
Fev/15	0	26,7	0	3,3	0	26,7
Abr/15	0	30,0	0	3,3	0	33,3
Jul/15	0	33,3	3,3	0	0	36,7

RLOs foram observados em apenas uma ostra (0,3%), tipicamente com localização intracelular no epitélio da glândula digestiva, com presença de várias colônias por corte histológico, sendo de uma a cinco colônias por ácido (Figura 2). Essa infecção foi observada em amostras correspondentes a novembro de 2013, tendo este mês apresentado a menor salinidade do período.

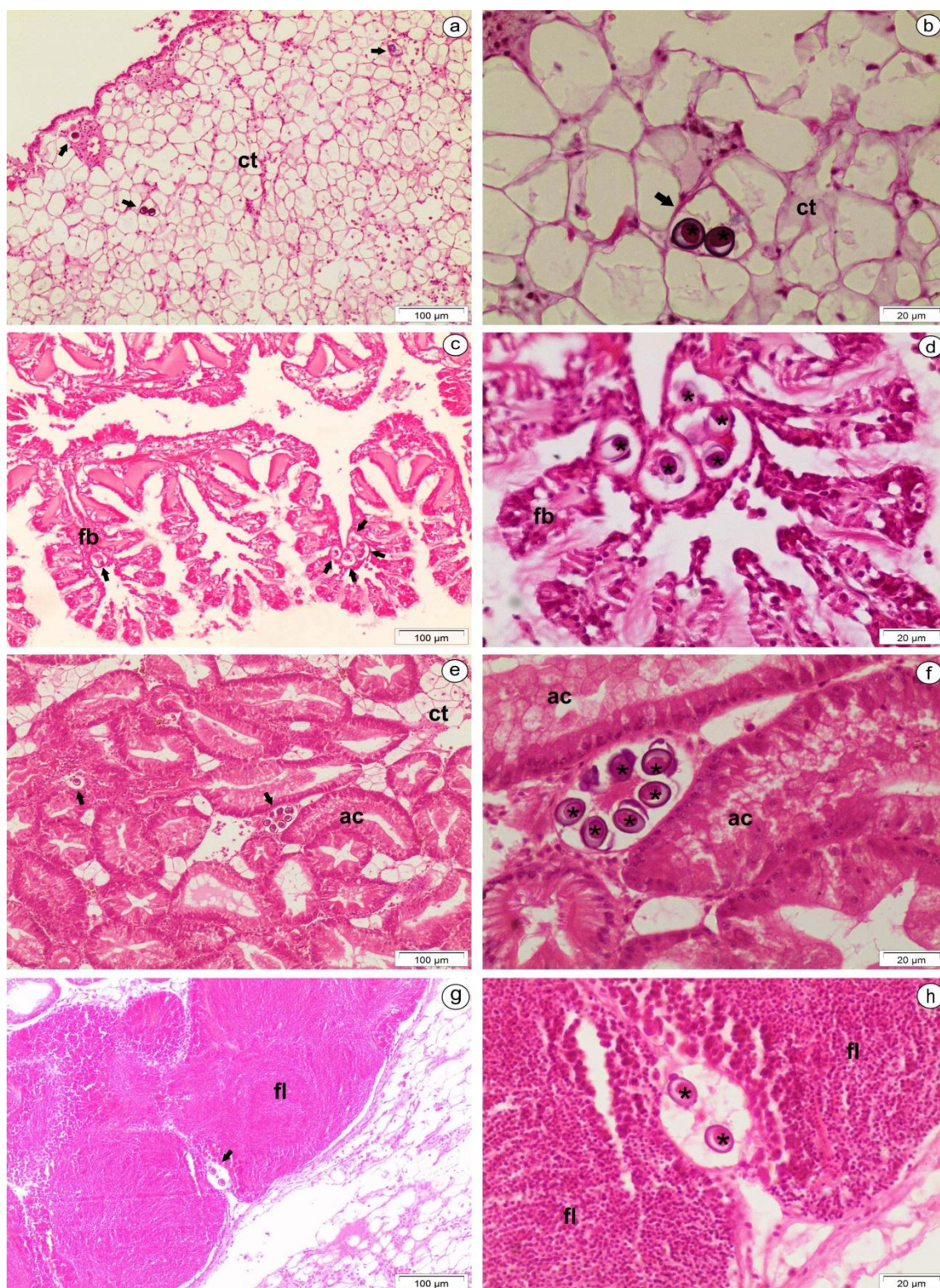
*Nematopsis* sp. ocorreu em 53,3% (n=160) das ostras, com intensidade de infecção variando de 1 a 92 parasitos/sessão histológica. Os meses em que se observou a maior intensidade de infecção foram: novembro de 2013, fevereiro de 2014 e julho de 2014, que foram coincidentes com as mais altas prevalências desse parasito no período amostral. Os órgãos mais infectados por esse parasito foram o manto (77%), brânquias (40%) e glândula digestiva (27,2%). Nas gônadas, a prevalência foi de apenas 1,3% e em outros locais, esse parasito não foi observado. A quantidade de oocistos/fagócito variou de 1 a 6, todos contendo, tipicamente, 1 esporozoítio (Figura 3).



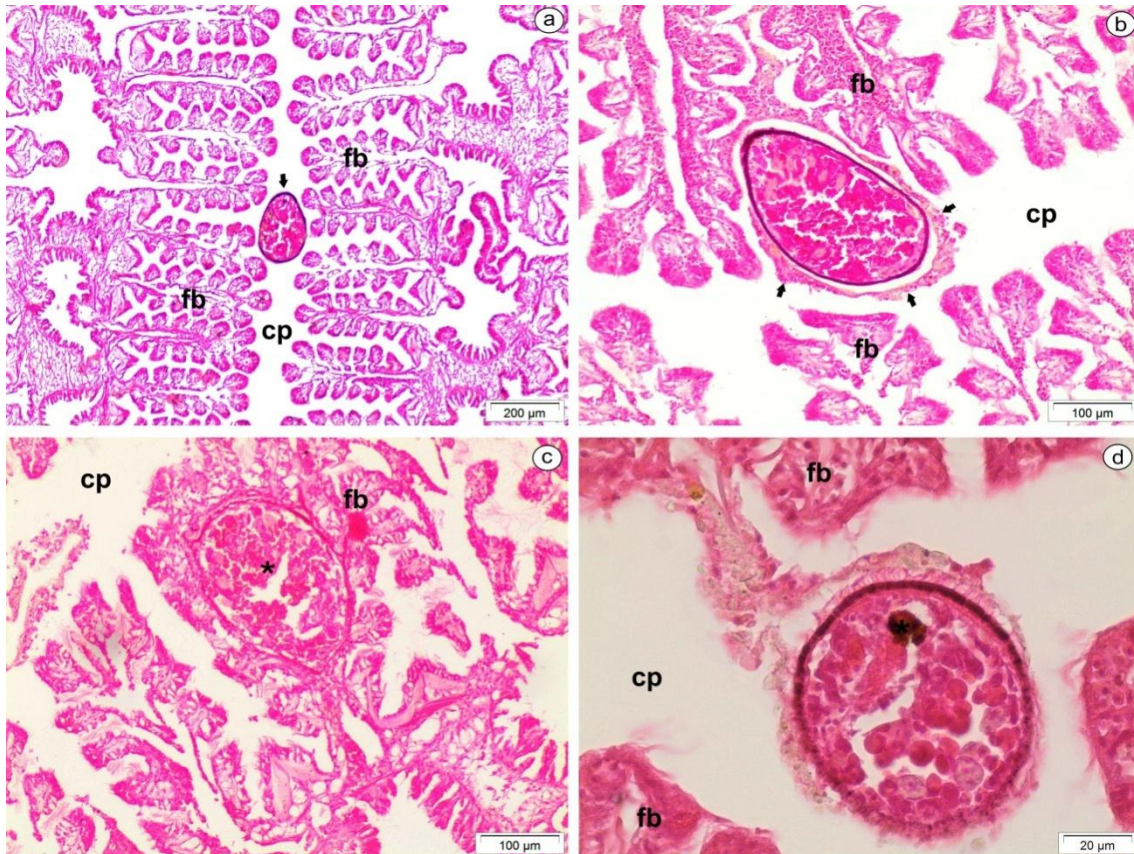
**Figura 2.** Fotomicrografia de *Crassostrea rhizophorae* com ocorrência de organismos assemelhados a *Rickettsia*- RLOs (setas) nos ácinos serosos (ac) da glândula digestiva circundado por tecido conjuntivo (ct). Coloração: HE.

Nas campanhas de 2015 observou-se diminuição da prevalência de *Nematopsis* sp. em relação aos anos de 2013 e 2014. Foi interpretado que esse declínio esteve associado ao aumento da precipitação pluviométrica mensal neste ano, com a qual o parasito esteve negativamente correlacionado ( $r = -0,146$ ;  $p = 0,011$ ).

*Urastoma* sp. apresentou prevalência de 6% ( $n=18$ ) e ocorreu em intensidade de 1 a 2 parasitos por sessão histológica, tendo sido observado apenas nas brânquias (Figura 4). Na análise desse turbelário entre viveiros, ficou evidenciado que a maior prevalência ocorreu no Ponto 1, que diferiu dos outros dois pontos ( $p=0,018$ ), o que foi atribuído à localização geográfica deste ponto por estar mais na entrada da baía, sofrendo uma influência mais direta das marés, além de apresentar uma profundidade maior em relação aos outros dois locais. Quanto à análise temporal, observou-se que 50% de *Urastoma* sp. ocorreram na campanha de julho de 2014, estabelecendo-se correlação negativa entre a prevalência deste parasito e a salinidade ( $r = -0,445$ ;  $p=0,014$ ).

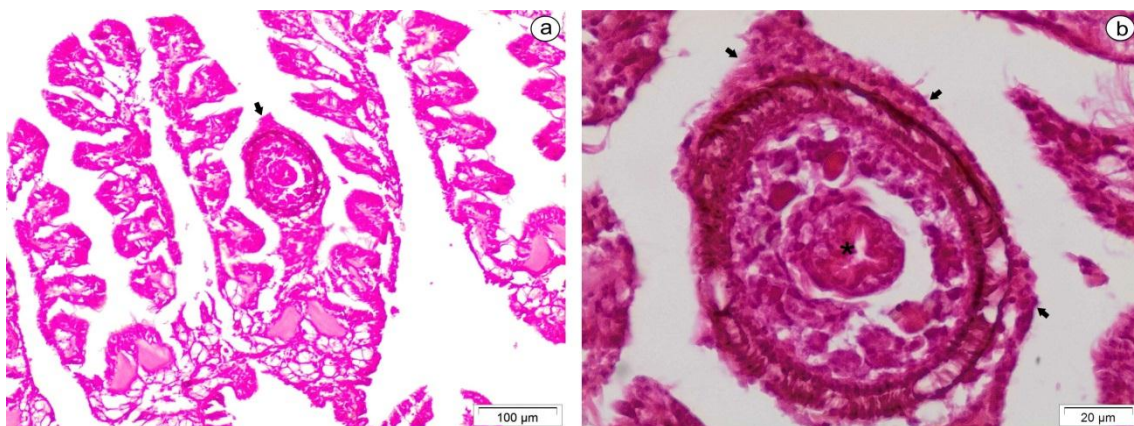


**Figura 3.** Fotomicrografia de *Crassostrea rhizophorae* com ocorrência de *Nematopsis* sp. (setas) com quantidades variáveis de oocistos (\*) por fagócito, em diferentes locais de infecção. a-b) tecido conjuntivo (ct) do manto permeado por tecido adiposo; c-d) filamentos branquiais (fb); e-f) glândula digestiva entre ácinos (ac); g-h) gônada masculina, entre folículos (fl). Coloração: HE.



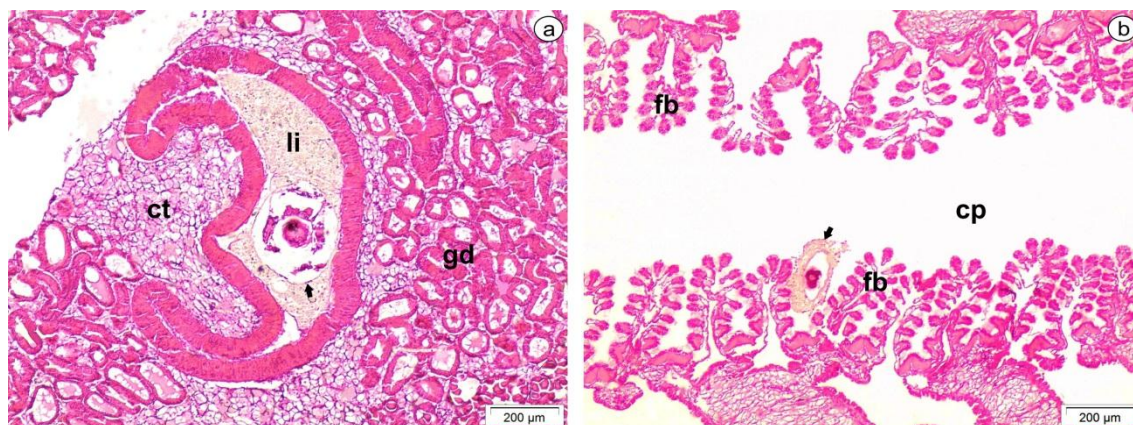
**Figura 4.** Fotomicrografia de *Urastoma* sp. nas brânquias de *Crassostrea rhizophorae*. a) na cavidade palial (cp), entre os filamentos branquiais (fb); b) parcialmente envolto pelo epitélio branquial; c) totalmente envolto (\*), em aparente processo de encapsulação; d) idem ao exemplar da figura “b”, mostrando ocelo evidente. Coloração: HE.

Em apenas uma ostra foi identificada uma metacercária (Digenea) (0,3%) fixada ao filamento branquial, com evidência de encapsulamento pelo hospedeiro (Figura 5).



**Figura 5a-b.** Fotomicrografia de metacercárias localizadas nas brânquias de *Crassostrea rhizophorae*. ventosa (\*) e processo de encapsulação (seta). Coloração: HE.

Dos espécimes estudados, 0,7% (n=2) apresentaram metazoários não identificados parcialmente digeridos localizados no intestino e nas brânquias (Figura 6).



**Figura 6.** Fotomicrografia de metazoários não identificados em *Crassostrea rhizophorae*. a) no lúmen intestinal (li), parcialmente digerido. Observa-se na figura, em torno do intestino, tecido conjuntivo (ct) e glândula digestiva (gd); b) na cavidade palial (cp) encaixado entre os filamentos branquiais (fb). Coloração: HE.

#### 6.4 Discussão

*Crassostrea rhizophorae* apresentou bactérias, protozoários e metazoários, porém, nenhum de notificação obrigatória à Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) (OIE, 2015) e, de modo geral, pôde-se constatar boa saúde dessa ostra na região sob a condição de cultivo.

As baixas salinidades tendem a deprimir o sistema imunológico dos moluscos, mas não afetam negativamente os parasitos e por isso podem ser associadas ao aumento da incidência de doenças (COEN; BISHOP, 2015). Essa associação talvez justifique a correlação negativa entre a salinidade e a prevalência de parasitos observada neste estudo, assim como nos achados apontados por Sabry et al. (2013) em *C. rhizophorae* cultivada no estuário do Rio Pacoti, Ceará.

Protozoários do gênero *Nematopsis* são parasitos frequentemente relatados pela sua elevada prevalência em moluscos bivalves (BOEHS et al., 2012). Sua ocorrência já foi evidenciada ao longo de toda a costa do Atlântico, seja no Uruguai (CREMONTE et al., 2005), no Golfo do México (AGUIRRE-MACEDO et al., 2007), além de inúmeros relatos no Brasil, o que intensifica a preocupação do risco da propagação desse parasito pelo mundo.

Os estudos na costa brasileira apontam para prevalências próximas ou até de 100% desse parasito em *C. rhizophorae*: 41,2% na Baía de Todos os Santos, Bahia

(NASCIMENTO et al., 1986), 60% em Florianópolis, Santa Catarina (SABRY; MAGALHÃES, 2005) e na Baía de Camamu, Bahia (LUZ; BOEHS, 2015), 87% no estuário do Rio Jaguaribe, Ceará (SABRY et al., 2007), 95,5% em três municípios do litoral sul da Bahia (ZEIDAN et al., 2012) e 100% no estuário do Rio Formoso, assim como na Barra de Catuama, Pernambuco (BRITO et al., 2010). A elevada ocorrência destes parasitos nessa espécie, assim como em outros bivalves, pode estar associada à presença conspícua de crustáceos em áreas de ocorrência de *C. rhizophorae*, uma vez que estes artrópodes são os hospedeiros definitivos de *Nematopsis* (BOEHS et al., 2010).

*Nematopsis* sp. são intraparasitários, isto é, ocorrem dentro de fagócitos, sendo que apresentam oocistos em quantidade variável, mas contendo sempre apenas um único esporozoíto; estes podem se mover dentro do tecido conjuntivo para a maioria dos órgãos, mas são mais frequentemente observados nas brânquias e no manto (BOWER et al., 1994), o que foi confirmado no presente estudo. Além disso, oocistos, em baixa prevalência, foram identificados na gônada, o que é considerada uma infecção rara para este órgão, no entanto, Cova et al. (2015) relataram prevalência de 35,9% nesse órgão em *C. rhizophorae* cultivada em sistema espinhel (*longline*) no sul do estado da Bahia.

Quanto aos sinais histopatológicos de reação do hospedeiro, foi detectada apenas desconfiguração de tecidos, inclusive das brânquias, em alguns espécimes com alta intensidade de infecção, assim como relatado por Sabry et al. (2007) em *C. rhizophorae* proveniente do Ceará, cujos exemplares apresentavam sinais histopatológicos de reação focal. Apesar das evidências da infecção por *Nematopsis* ser geralmente associada a uma resposta inflamatória focal sem efeitos significativos para a saúde, em diversos estudos também constatou-se *Nematopsis* sp. em vários órgãos além das brânquias no litoral do Nordeste, como na Bahia (COVA et al., 2015; LUZ; BOEHS, 2015), na Paraíba (QUEIROGA et al., 2015) e em Sergipe (DA SILVA et al., 2015). Brito et al. (2010) e Ceuta e Boehs (2012) sugerem que este agente é patogênico e provoca lesões, atrofia e destruição de tecidos.

A ocorrência de colônias de RLOs no epitélio da glândula digestiva, sem alterações microscópicas significativas ou sinais de resposta do hospedeiro foi visto em vários moluscos bivalves (BOEHS et al., 2010; BRANDÃO et al., 2013; CEUTA; BOEHS, 2012; COVA et al., 2015; CREMONTE et al., 2005; DA SILVA et al., 2012). No entanto, quando ocorre elevada intensidade de infecção por esses procariontes, estes apresentam importância na patologia de bivalves marinhos, já que podem ocorrer perdas de microvilosidades, destruição do citoplasma e lise celular, resultando em

desconfiguração dos tecidos branquiais, hipertrofia, necrose, infiltração hemocítica ao redor das lesões epiteliais e ruptura dos túbulos digestivos (AZEVEDO; VILLALBA, 1991).

Apesar da baixa prevalência observada nos estudos, a ocorrência de RLOs em bivalves merece atenção além dos danos ao animal, uma vez os moluscos podem agir como reservatórios de *Rickettsia* no ambiente marinho, principalmente em estágio larvais ou juvenis cultivadas sob condições de incubação (SUN; WU, 2004). Conforme Renault (1995), essas bactérias são potencialmente patogênicas ao homem, podendo causar infecções alimentares, principalmente quando as ostras são consumidas cruas embora a correlação entre rickettsiose em humanos e o consumo de pescado ainda não esteja bem elucidada.

A presença de RLOs identificada no mês de novembro de 2013 pode ser justificada pela baixa salinidade mensurada no período, pois em geral bactérias resistem por mais tempo em ambientes com baixa salinidade (JAY, 2005). Além disso, a taxa de filtração de *C. rhizophorae* pode ter sido influenciada por esse fator exógeno, de forma a favorecer maior absorção de microrganismos, dentre estes, bactérias.

Quanto aos metazoários, metacercárias em baixa prevalência foram observadas em estudos anteriores, sendo em *Anomalocardia brasiliana* e em *Iphigenia brasiliana* na Bahia (BOEHS et al., 2010), em *A. brasiliana* de Santa Catarina (DA SILVA; et al., 2012) e em *C. rhizophorae* do Ceará (SABRY et al., 2013) e na Bahia (BRANDÃO et al., 2013). Estes parasitos geralmente não causam danos significativos ao hospedeiro, por utilizarem os moluscos como segundo hospedeiro intermediário (BOEHS et al., 2012; BOWER et al., 1994).

Turbelário *Urastoma* sp., encontrado nos filamentos branquiais e na cavidade palial, já havia sido relatado em ostras de diferentes estuários da região Nordeste do Brasil, sempre nas brânquias, com prevalências que variaram de 2 a 56,6% (COVA et al., 2015; DA SILVA et al., 2015; LUZ; BOEHS, 2015; QUEIROGA et al., 2015; SABRY et al., 2013; ZEIDAN et al., 2012).

Não foram observados danos aos animais avaliados ocasionados pela ocorrência de *Urastoma* sp. devido ao baixo grau de infecção, sendo estes geralmente relatados como comensais (ZEIDAN et al., 2012). No entanto, foi evidenciada reação de defesa (infiltração hemocitária) com encapsulamento de 76% (19/25) desse metazoário identificado nos exemplares, fato também relatado por Cáceres-Martínez et al. (2010) na costa o Pacífico-México. Esse resultado, porém, divergiu das observações feitas no litoral



brasileiro por Sabry et al. (2013) no Ceará e por Zeidan et al. (2012) e Cova et al. (2015) na Bahia, que relataram ausência de reações de defesa do hospedeiro. Conforme Queiroga et al. (2015), esses organismos são de vida livre e podem habitar as cavidades do corpo e brânquias de bivalves sem penetrar nos tecidos. Segundo esses autores, como resultado das mudanças ambientais, eles podem tornar-se mais prevalentes e com elevado grau de infecção. Ressalta-se que os fatores abióticos podem não apenas determinar os nichos de parasitos e seus hospedeiros, mas também suas interações, bem como determinar os impactos sobre as doenças em bivalves, especialmente em ostras (COEN; BISHOP, 2015).

### 6.5 Conclusão

Baseado em nossos resultados podemos concluir que na RESEX Marinha Baía do Iguape apesar da elevada prevalência de parasitos, principalmente de *Nematopsis* sp. em *C. rhizophorae*, não foram evidenciados parasitos de notificação obrigatória à OIE. Além disso as ostras aparentemente mantiveram a dinâmica dos processos metabólicos, e conseqüentemente, o bom estado geral de saúde. Dessa forma, pode-se inferir um satisfatório estado de conservação dessa RESEX, quanto a parasitos, o que respalda o potencial produtivo da região.

### 6.6 Referências Bibliográficas

AGUIRRE-MACEDO, M. L.; SIMÁ-ÁLVAREZ, R. A.; ROMÁN-MAGAÑA, M. K.; GÜEMEZ-RICALDE, J. I. Parasite survey of the eastern oyster *Crassostrea virginica* in Coastal Lagoons of the Southern Gulf of Mexico. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 19, p. 270-279, 2007.

AZEVEDO, C.; VILLALBA, A. Extracellular giant rickettsiae associated with bacteria in the gill of *Crassostrea gigas* (Mollusca, Bivalvia). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 58, p. 75-81, 1991.

BAHIA PESCA. Governo do Estado da Bahia. **Perfil do setor pesqueiro (litoral do Estado da Bahia)**. Salvador, 1994. p. 75.

BOEHS, G.; LENZ, T. M.; VILLALBA, A. Xenomas in *Crassostrea rhizophorae* (Ostreidae) from Camamu Bay, Bahia, Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 69, n. 2, p. 457-458, 2009.

BOEHS, G.; MAGALHÃES, A. R. M.; SABRY, R. C.; CEUTA, L. O. Parasitos e patologias de bivalves marinhos de importância econômica da costa brasileira. In:

SILVA-SOUZA, A. T.; LIZAMA, M. L. A., et al (Ed.). **Patologia e Sanidade de Organismos Aquáticos**. Maringá: ABRAPOA, 2012. p.165-194.

BOEHS, G.; VILLALBA, A.; CEUTA, L. O.; LUZ, J. R. Parasites of three commercially exploited bivalve mollusc species of the estuarine region of the Cachoeira river (Ilhéus, Bahia, Brazil). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, p. 43–47, 2010.

BOWER, S. M.; MCGLADDERY, S. E.; PRICE, I. M. Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish. **Annual Review of Fish Diseases**, v. 4, p. 1-199  
1994.

BRANDÃO, R. P.; BOEHS, G.; SILVA, P. M. D. Health assessment of the oyster *Crassostrea rhizophorae* on the southern coast of Bahia, northeastern Brazil. **Brazilian Journal Veterinary Parasitology**, v. 22, n. 1, p. 84-91, 2013.

BRITO, L. O.; BARROS, J. C. N. D.; GÁLVEZ, A. O.; BARROS, F. N. D. Presence of Nematopsis sp. (Protozoa, Apicomplexa) in the oyster, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828), cultivated in the state of Pernambuco, Brazil. **World Aquaculture**, p. 60-62, 2010.

BUSH, A.; LAFFERTY, K.; LOTZ, J.; SHOSTAK, A. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **Journal of Parasitology**, v. 83, n. 4, p. 575-583, 1997.

CÁCERES-MARTÍNEZ, J.; VÁSQUEZ-YEOMANS, R.; PADILLA-LARDIZÁBAL, G. Parasites of the pleasure oyster *Crassostrea corteziensis* cultured in Nayarit, Mexico. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 22, n. 3, p. 141-151, 2010.

CEUTA, L.; BOEHS, G. Parasites of the mangrove mussel *Mytella guyanensis* (Bivalvia: Mytilidae) in Camamu Bay, Bahia, Brazil. **Brazilian Journal Biology**, v. 72, n. 3, p. 421-427, 2012.

COEN, L. D.; BISHOP, M. J. The ecology, evolution, impacts and management of host–parasite interactions of marine molluscs. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. in press, 2015.

COVA, A. W.; JÚNIOR, M. S.; BOEHS, G.; SOUZA, J. M. D. Parasitos na ostra-do-mangue *Crassostrea rhizophorae* cultivada no estuário do rio Graciosa em Taperoá, Bahia. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 24, n. 1, p. 21-27, 2015.

CREMONTE, F.; BALSEIRO, P.; FIGUERAS, A. Occurrence of *Perkinsus olseni* (Protozoa: Apicomplexa) and other parasites in the venerid commercial clam *Pitar rostrata* from Uruguay, southwestern Atlantic coast. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 64, p. 85-90, 2005.

DA SILVA, P. M.; MAGALHÃES, A. R. M.; BARRACCO, M. A. Pathologies in commercial bivalve species from Santa Catarina State, southern Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 92, n. 3, p. 571–579, 2012.

DA SILVA, P. M.; SCARDUA, M. P.; VIEIRA, C. B.; ALVES, A. C.; DUNGAN, C. F. Survey of pathologies in *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) oysters from cultured and wild populations in the São Francisco Estuary, Sergipe, Northeast Brazil. **Journal of Shellfish Research**, v. 34, n. 2, p. 289-296, 2015.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Pecuária Municipal**. 2016. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=3940&n=0&u=0&z=t&o=21&i=P>>. Acesso em: 25.01.2016.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

LUZ, M. D. S. A.; BOEHS, G. Parasites in the oyster *Crassostrea rhizophorae* from farmed and natural stocks in the Bay of Camamu, Bahia, northeastern Brazil. **Journal of Parasitology and Vector Biology**, v. 7, n. 6, p. 120-128, 2015.

NASCIMENTO, I. A.; SMITH, D. H.; KERN II, F.; PEREIRA, S. A. Pathological findings in *Crassostrea rhizophorae* from Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. **J. Invertebr. Pathol**, v. 47, n. 3, p. 340-349, 1986.

OIE. World Organisation for Animal Health. **Aquatic Animal Health Code**. 2015. p.

QUEIROGA, F. R.; VIANNA, R. T.; VIEIRA, C. B.; FARIAS, N. D.; SILVA, P. M. D. Parasites infecting the cultured oyster *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) in Northeast Brazil. **Parasitology**, v. in press, 2015.

RENAULT, T. **Pathogens in aquaculture : specific pathogens or human contamination risks**. Colloques Internationaux de l'année Pasteur : Microbes, environnement, Biotechnologies. La Tremblade, France: 155-157 p. 1995.

SABRY, R. C.; GESTEIRA, T. C. V.; BOEHS, G. First record of parasitism in the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* (Bivalvia: Ostreidae) at Jaguaribe River estuary – Ceará, Brazil. **Brazilian Journal Biology**, v. 67, n. 4, p. 755-758, 2007.

SABRY, R. C.; GESTEIRA, T. C. V.; MAGALHÃES, A. R. M.; BARRACCO, M. A.; GUERTLER, C.; FERREIRA, L. P.; VIANNA, R. T.; SILVA, P. M. D. Parasitological survey of mangrove oyster, *Crassostrea rhizophorae*, in the Pacoti River Estuary, Ceará State, Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 112, p. 24–32, 2013.

SABRY, R. C.; MAGALHÃES, A. R. M. Parasitas em ostras de cultivo (*Crassostrea rhizophorae* e *Crassostrea gigas*) da Ponta do Sambaqui, Florianópolis, SC. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v. 57, n. supl. 2, p. 194-203, 2005.

SANDE, D.; MELO, T. A.; OLIVEIRA, G. S. A.; BARRETO, L.; TALBOT, T.; BOEH, G.; ANDRIOLI, J. L. Prospecção de moluscos bivalves no estudo da poluição dos rios Cachoeira e Santana em Ilhéus, Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 3, p. 190-196, 2010.

SHINN, A. P.; PRATOOMYOT, J.; E.BRON, J.; PALADINI, G.; BROOKER, E. E.; BROOKER, A. J. Economic costs of protistan and metazoan parasites to global mariculture. **Parasitology**, v. 142, p. 196–270, 2015.

SUN, J.; WU, X. Histology, ultrastructure, and morphogenesis of a rickettsia-like organism causing disease in the oyster, *Crassostrea ariakensis* Gould. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 86, p. 77–86, 2004.

ZEIDAN, G. C.; LUZ, M. D. S. A.; BOEHS, G. Parasites of economically important bivalves from the southern coast of Bahia State, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 21, n. 4, p. 391-398, 2012.

## 7. CAPÍTULO IV

Aspectos sanitários e histopatológicos de *Crassostrea rhizophorae* cultivadas na Reserva Extrativista Marinha Bahia do Iguape, Bahia, Brasil.

Colaboradores:

Guisla Boehs

Valéria Macedo Almeida Camilo

Fábio Oliveira Santos

Isabella de Matos Mendes Silva

Fábio de Souza Mendonça

## **Aspectos sanitários e histopatológicos de *Crassostrea rhizophorae* cultivada na Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, Brasil**

### **Health and histopathological aspects of *Crassostrea rhizophorae* cultivated in the Marine Extractive Reserve of Iguape Bay, Bahia, Brazil**

#### **RESUMO**

Objetivou-se avaliar a condição de saúde e correlacionar as alterações histopatológicas de *Crassostrea rhizophorae* com a contaminação por bactérias do grupo coliformes, parasitos, metais tóxicos e/ou estresse climático, utilizando a determinação de coliformes totais e *Escherichia coli*, mensuração de chumbo, cádmio, temperatura, salinidade e pluviosidade, além da observação parasitológica e histológica dos espécimes. Foram utilizados 300 exemplares de *C. rhizophorae* de um cultivo em sistema fixo (bancada), que foram coletados entre novembro de 2013 e novembro de 2015. Observou-se que as ostras do período chuvoso apresentaram maior contaminação e que houve correlação das alterações histopatológicas, tanto com as variáveis ambientais quanto com a presença de metais tóxicos. As alterações histopatológicas observadas não apresentam dimensões significativas para caracterização como lesões. A análise sanitária global das ostras demonstra a necessidade de estabelecimento de limites máximos para metais tóxicos e de parasitos de notificação obrigatória no Programa Nacional de Controle de Moluscos Bivalves. Ressalta-se a importância do monitoramento ambiental e da saúde animal frequente como estratégia de controle da produção de ostras e, conseqüentemente, do incremento na malacocultura e maior segurança à saúde dos consumidores.

**Palavras-chave:** ostra, monitoramento, *Escherichia coli*, parasitos, metais tóxicos

#### **ABSTRACT**

This study aimed the health condition and correlate the histopathological changes of *Crassostrea rhizophorae* with contamination of coliform, parasites, toxic metals and / or environmental stress, using the determination of total coliforms and *Escherichia coli*, measurement for lead, cadmium, temperature, salinity and rainfall, as well as parasitological and histological observation of specimens. They used 300 *C. rhizophorae* from a farmed of a growing fixed system, which were collected between November 2013 and November 2015. It was noted that the oysters of the rainy season had higher contamination and correlation of histopathology, both environmental variables and with the presence of toxic metals. Histopathological changes observed no significant dimensions to characterize as injuries. The global health analysis of oyster demonstrates the need to include limits for toxic metals and parasites to establish mandatory reporting in the National Program of Bivalve Mollusks Control. It emphasizes the importance of environmental monitoring and frequent animal health and control strategy of production

of oysters and consequently the increase in malacocultura and greater safety to consumer health.

**Keywords:** oyster, monitoring, *Escherichia coli*, parasites, toxic metals.

## 7.1 INTRODUÇÃO

As condições dos habitats estuarinos e marinhos fornecidas aos moluscos estão sob ameaça de uma multiplicidade de fatores de estresse e representam riscos à segurança alimentar e nutricional. Esse é um problema global cada vez mais relevante e que tem demandado o entendimento dos impactos de contaminantes e doenças nesses organismos, de forma a reduzir as perdas de produção decorrentes de doenças (COEN; BISHOP, 2015; SHINN et al., 2015).

Em todo mundo são relatadas enfermidades que afetam os moluscos bivalves, comprometendo o extrativismo e a produção, gerando mortalidade em massa e impactos econômicos (BOEHS et al., 2012).

Doenças emergentes ou doenças em rápida expansão em extensão ou incidência geográfica estão relacionadas diretamente com as alterações climáticas, fatores de estresse antropogênicos e contaminantes, como metais, antimicrobianos, pH, CO<sub>2</sub>, temperaturas e salinidade extremas e pouco oxigênio dissolvido (COEN; BISHOP, 2015).

Segundo KINNE (1983), a enfermidade é um desvio negativo do estado normal de um organismo, podendo afetar a dinâmica dos processos metabólicos, reduzir o potencial de crescimento, de reprodução e de resistência ao estresse, conseqüentemente, a sobrevivência do animal, de forma a alterar as funções e estruturas dos ecossistemas e modificar a dinâmica das populações.

Ostras são organismos bastante delicados e particularmente vulneráveis a doenças e à poluição industrial. Uma variedade de órgãos é afetada pelos agentes patogênicos e, em cada caso, o mecanismo de patogenicidade pode ser diferente, causando lesão e destruição de tecido, competição por nutrientes, metabólitos tóxicos, ou a interrupção de processos metabólicos e vias biossintéticas (FIGUERAS; FISHER, 1988).

Segundo a FAO (2008), não há informação adequada sobre agentes patogênicos e enfermidades que afetam as espécies nativas de moluscos bivalves. Esse é um dos principais entraves para a consolidação da malacocultura, colocando em alto risco o futuro do desenvolvimento de espécies nativas cultivadas atualmente na América Latina.

É importante ressaltar, que apesar da aquicultura apresentar grande importância socioeconômica em muitos países, incluindo o Brasil, essa atividade ao longo dos anos é também responsável pelo transporte de espécies entre países, aumentando o risco de introdução de enfermidades e conseqüentemente, a redução das populações de moluscos, bem como trazendo riscos de contaminação para as espécies nativas (MAGALHÃES; FERREIRA, 2006). Além disso, a intensificação desse setor, associada com o aumento do consumo de produtos da malacocultura, pode levar a um outro problema agudo: o do risco de contaminação de humanos por patógenos (RENAULT, 1995).

No Brasil, estudos sobre enfermidades em ostras e em outros organismos aquáticos cultiváveis ainda são escassos e não refletem a situação patológica atual, mas esta realidade tem se modificado nas últimas décadas em função do aumento e desenvolvimento de sistemas de cultivo e da exploração dos recursos naturais pesqueiros, principalmente nos estados de Santa Catarina, Ceará e Bahia (BOEHS et al., 2012; SABRY; GESTEIRA; BOEHS, 2007).

Dada essa perspectiva, há uma necessidade de estudos interdisciplinares com foco nos agentes causadores de enfermidades em moluscos bivalves como forma de mitigar os agravos à saúde desses animais e reduzir as mortalidades em massa por meio da prevenção. Assim, o presente trabalho objetivou avaliar a condição de saúde e correlacionar as alterações histopatológicas de *Crassostrea rhizophorae* com a contaminação por bactérias do grupo coliformes, parasitos, metais tóxicos e/ou estresse climático.

## **7.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **Delineamento amostral**

A presente pesquisa foi realizada no setor norte da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, município de Cachoeira – BA, uma Unidade de Conservação, onde está situado o Núcleo Produtivo de Ostreicultura. O estudo foi autorizado pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio (nº 42081-1).

Os exemplares, provenientes de sistema suspenso tipo bancada, foram coletados em três pontos de coleta, considerados representativos da área total de cultivo, os quais apresentavam distância máxima de 1 km entre si, a saber: Ponto 1 (12°39'12.00"S,



38°51'55.00"W), Ponto 2 (12°39'27.00"S, 38°51'20.00"W) e Ponto 3 (12°39'28.00"S, 38°51'23.00"W) (Figura 1).

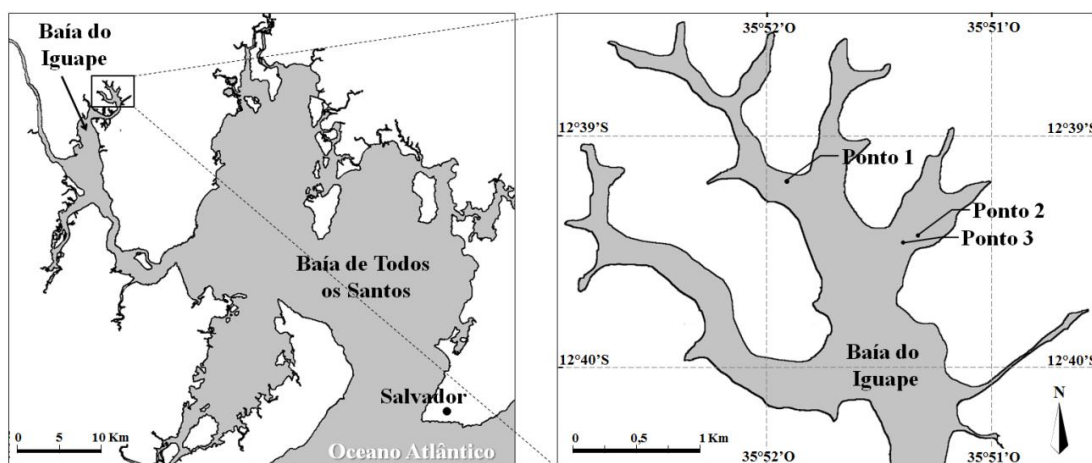


Figura 1. Pontos de coleta nos viveiros de cultivo da ostra *Crassostrea rhizophorae* localizados no setor norte da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, 2014.

Foram utilizadas para o experimento ostras de espécie *Crassostrea rhizophorae*, de um cultivo em sistema suspenso fixo. Os exemplares foram coletados de novembro de 2013 a novembro de 2015 em períodos chuvosos e de estiagem. Para cada campanha foram colhidos 10 espécimes e 1 amostra de água de cada ponto, totalizando 300 animais.

As amostras de ostra foram coletadas diretamente dos travesseiros, acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso, devidamente identificadas, sendo transportadas vivas para análise nos laboratórios onde ocorreram os experimentos.

As ostras foram inicialmente lavadas em água corrente, abertas mediante inserção com uma faca entre as valvas e secção do músculo adutor, para separação do animal da concha. De cada animal foram obtidas três (3) porções a serem destinadas as análises microbiológica, histológica e química.

Os experimentos foram realizados no Laboratório do Núcleo de Segurança Alimentar e Nutricional (SANUTRI) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e no Laboratório de Histologia da Fundação Oswaldo Cruz.

### **Análise microbiológica**

A determinação microbiológica de coliformes totais (CT) e *Escherichia coli* (AOAC 991.14) nas ostras foi realizada por meio de método rápido de contagem em

placas Petrifilm™ EC visando a identificação de microrganismos indicadores no molusco cultivado.

### **Análise química**

As amostras foram liofilizadas por *overnight* (Liofilizador Terroni LS 30000) e cinco animais de cada ponto de coleta foram homogeneizados formando *pool* de amostra para obtenção da unidade analítica, a qual foi, posteriormente, triturada e peneirada para retirada de alíquotas de 100 mg em triplicata. Realizou-se digestão com HNO<sub>3</sub> concentrado e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em bloco digestor, com aquecimento entre 50 e 140°C. Após o resfriamento das soluções das amostras, estas foram filtradas e transferidas para balões volumétricos de 25 mL avolumadas com água ultrapura. A determinação de chumbo e cádmio foi realizada empregando espectrômetro de emissão óptica com plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP-OES) VISTA PRO (Varian, Mulgrave, Austrália) conforme metodologia de referência 200.3 da Environmental Protection Agency (EPA, 1991).

### **Análise histológica**

Os cortes de ostras foram fixados em formalina a 10% por 24 horas. Em seguida, foi removida uma secção transversal de tecidos de, aproximadamente, 5 mm, contendo manto, brânquias, gônada e glândula digestiva. Os tecidos passaram por processamento histológico de rotina, com desidratação em série etílica crescente, diafanização em xileno e inclusão em parafina, com posterior obtenção de cortes com 5 µm de espessura utilizando micrótomo, sendo que foram corados com hematoxilina de Harris e eosina (HE) (HOWARD; SMITH, 2004). Os cortes foram examinados e descritos utilizando microscópio de luz comum, tendo sido avaliada a presença dos parasitos, alterações histopatológicas e presença de *brown cells* (células marrons).

### **Monitoramento ambiental**

Em cada coleta, foram mensuradas *in locu* a temperatura e a salinidade da água, utilizando um equipamento multiparâmetros portátil WaterQuality Meter AK88 (Akso®). A precipitação pluviométrica acumulada mensal foi fornecida pelo Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais- INPE.

### Análise estatística

Para o tratamento estatístico, foi realizada análise descritiva, seguida pelo teste exato de Fisher para verificar diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em escala temporal e espacial dos dados. Para verificar uma possível correlação da presença de alterações histopatológicas em relação aos parâmetros ambientais e aos contaminantes químicos, aplicou-se o teste de correlação ponto bisserial, assim como a Análise Multivariada (MANOVA), utilizando o programa SPSS versão 20.

### 7.3 RESULTADOS

A área de cultivo das ostras apresentou temperatura de 25,7 a 32,2°C, salinidade de 8,87 a 33‰; e precipitação pluviométrica mensal foi de 48,32 a 342,50 mm (Tabela 1).

Na análise microbiológica, a contagem de *Escherichia coli* variou de  $<10$  a  $2,0 \times 10^5$  UFC.g<sup>-1</sup>, com contaminação de 4,67% (14/300) das ostras analisadas, estando acima dos limites para consumo sem tratamento de  $2,3 \times 10^2$  UFC.g<sup>-1</sup> segundo o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves- PNCMB (BRASIL, 2012) e também segundo as normas para moluscos bivalves consumidos crus do *Codex Alimentarius* (CODEX, 2008).

Quanto às infecções parasitárias, observamos que em 56,7% das ostras havia a presença de organismos assemelhados a *Rickettsia* (RLOs), *Nematopsis* sp. (Apicomplexa), *Urastoma* sp. (Turbellaria), além de uma metacercária e um metazoário não possíveis de serem identificados.

A dosagem de chumbo (Pb) detectada nas ostras variou de 0,00 a 5,67 mg.kg<sup>-1</sup> e cádmio de 0,21 a 3,08 mg.kg<sup>-1</sup>, as quais apresentaram contaminação de 6,67% e 13,33% para Pb e Cd, respectivamente, de acordo com o Regulamento técnico MERCOSUL que estabelece limites máximos de 1,5 mg.kg<sup>-1</sup> de Pb e 2,0 mg.kg<sup>-1</sup> de Cd por quilo de molusco bivalve (BRASIL, 2013b), atingindo, assim, valores 3,5 vezes maiores que os tolerados para Pb e 2,5 vezes maiores que os tolerados para Cd.

Tabela 1. Aspectos sanitários e alterações histopatológicas em *Crassostrea rhizophorae* e fatores abióticos da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia, Brasil, 2013-2015.

Coleta	nov/13	fev/14	mai/14	jul/14	ago/14	out/14	nov/14	fev/15	abr/15	jul/15
<i>E.coli</i> (UFC.g <sup>-1</sup> )										
mínimo	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
máximo	2,0x10 <sup>5</sup>	1,4x10 <sup>3</sup>	2,1x10 <sup>2</sup>	3,0x10 <sup>1</sup>	4,0x10 <sup>1</sup>	1,4x10 <sup>2</sup>	2,0x10 <sup>1</sup>	4,2x10 <sup>2</sup>	8,0x10 <sup>2</sup>	2,0x10 <sup>1</sup>
Média Pb (mg.kg <sup>-1</sup> )	0,28	0,29	0,77	0,81	0,74	0,61	0,34	3,13	1,47	0,01
Média Cd (mg.kg <sup>-1</sup> )	0,60	0,45	0,84	0,75	0,55	0,47	0,56	1,92	1,77	0,82
Prevalência parasitos (%)	76,7	80	38,7	83,3	55,2	66,7	70	26,7	33,3	36,7
Infiltração manto	0	6,7	0	0	0	0	0	0	0	0
Hipertrofia gameta masculino	0	0	3,2	6,7	0	0	0	0	0	0
Desconfiguração brânquias	0	16,7	6,5	23,3	13,8	10,0	26,7	20,0	50,0	46,7
Hiperplasia manto	0	0	0	0	3,4	0	0	0	0	0
Hiperplasia brânquias	0	0	0	0	0	3,3	3,3	0	0	0
<i>Brown cells</i>	0	3,3	0	0	62,1	30	50	50	20	76,7
Temperatura média (°C)	31,4	31,0	28,3	26,8	25,8	30,1	28,7	31,3	31,0	27,7
Salinidade média (‰)	11,79	26,15	25,96	26,55	24,37	29,77	32,07	32,83	28,33	25,23
Pluviosidade acumulada (mm)	78,20	120,70	152,10	178,10	91,88	51,05	48,32	107,90	342,50	127,82

Avaliando a sanidade global das ostras, foi possível observar que 18,3% (55/300) apresentaram condições insatisfatórias para o consumo segundo a legislação brasileira vigente, sendo que destas, 70,9% estavam contaminadas por metais tóxicos, 25,5% por *E. coli* e 3,6% por ambos os contaminantes. Não houve associação significativa entre os pontos amostrais e a contaminação, segundo o teste exato de Fisher ( $p=0,462$ ).

No período entre fevereiro e abril de 2015 foi observada a maior contaminação na *C. rhizophorae* (Tabela 2), com associação significativa da contaminação e os meses de coleta ( $p=0,001$ ), decorrente principalmente dos picos pluviométricos neste período. Observou-se correlação positiva da baixa qualidade das ostras e os parâmetros ambientais, temperatura ( $r=0,389$ ;  $p=0,001$ ), salinidade ( $r=0,135$ ;  $p=0,019$ ) e pluviosidade ( $r=0,384$ ;  $p=0,001$ ).

Tabela 2. Ocorrência de condição sanitária insatisfatória em *Crassostrea rhizophorae* de um cultivo suspenso na RESEX Marinha Baía do Iguape, Bahia, entre novembro de 2013 e julho de 2015 (n=300).

Coleta	<i>E. coli</i>	Cádmio	Chumbo	Total
Novembro/13	16,7	0	0	16,7
Fevereiro/14	16,7	0	0	16,7
Mai/14	0	0	16,1	16,1
Julho/14	0	0	0	0
Agosto/14	0	0	0	0
Outubro/14	0	0	0	0
Novembro/14	0	0	0	0
Fevereiro/15	6,7	33,3	66,7	66,7
Abril/15	3,3	33,3	50,0	66,7
Julho/15	0	0	0	0

As alterações histopatológicas foram observadas em 72 espécimes, a saber: desconfiguração de brânquias (21,3%), hipertrofia de gameta masculino (1%), hiperplasia de brânquias (0,7%), infiltração de manto (0,7%) e hiperplasia de manto (0,3%) (Figura 2).

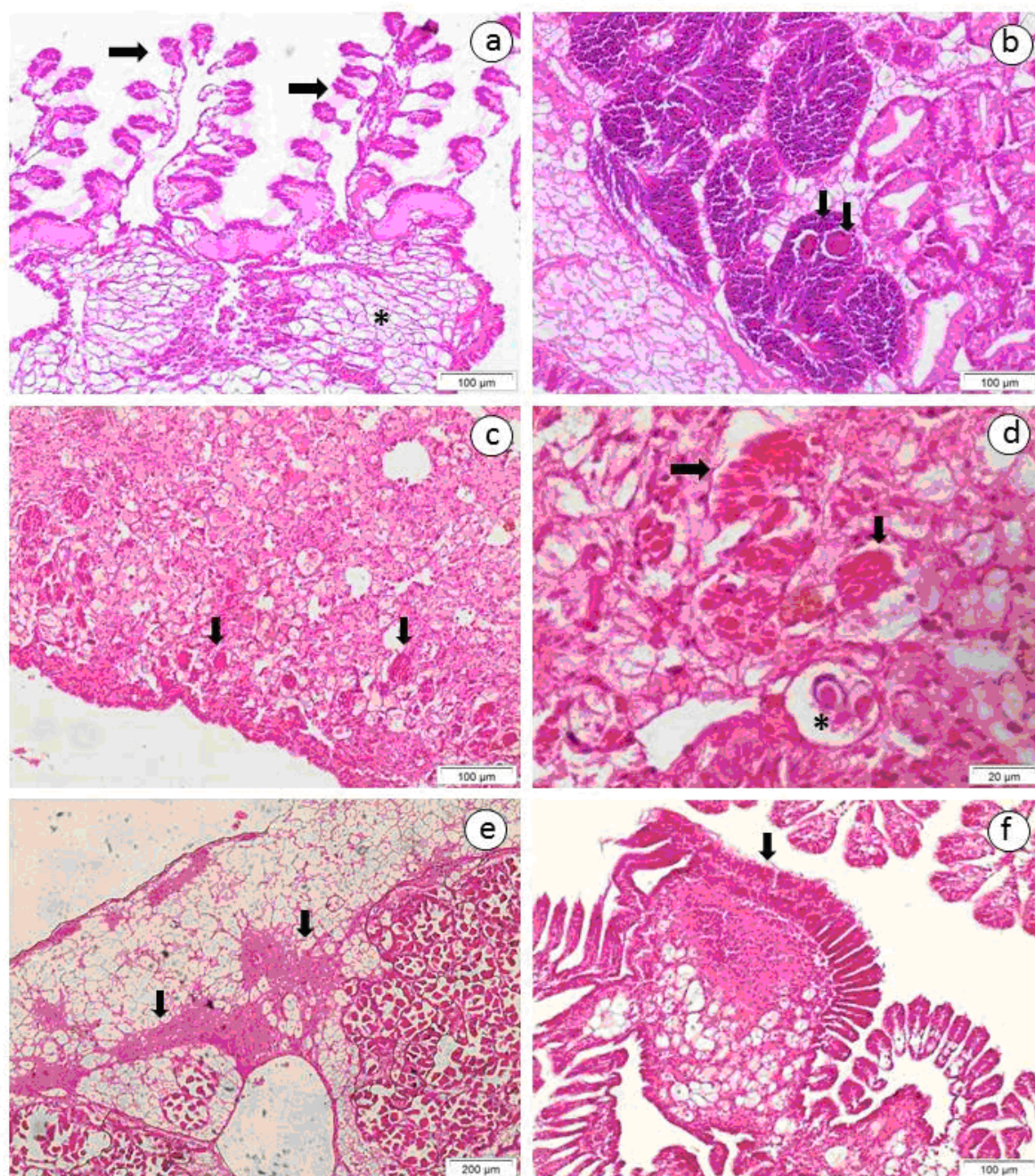


Figura 2. Fotomicrografia de alterações histopatológicas em *Crassostrea rhizophorae*. a) desconfiguração de brânquias (seta) com septo interlamelar aumentado (\*); b) hiperplasia de gametas masculinos; c-d) hiperplasia de células do manto (seta) com presença de *Nematopsis* sp. (\*); e) infiltração de manto; f) hiperplasia de brânquias (seta). Coloração:HE.

Observou-se, por meio da MANOVA, que o chumbo ( $p=0,013$ ), a salinidade ( $p=0,020$ ) e a pluviosidade ( $0,002$ ) foram considerados agentes de efeito principal frente às essas alterações histopatológicas.

*Brown cells* (BC) tiveram ocorrência de 29% (87/300) nas ostras, sendo que o mês de julho de 2015 foi o de maior prevalência. A intensidade de ocorrência variou de 2 a 505 células, sendo que em novembro de 2014 foram observadas maiores quantidades de BC nas ostras. Essas células foram observadas em glândula digestiva (28%), manto (27,7%), brânquias (23,3%) e gônada (0,3%), tendo sido a glândula digestiva o órgão com maior concentração de BC (Figura 3). O cádmio e os fatores abióticos foram considerados como agentes associados à presença de BC na *C. rhizophorae* e foram interpretados como decorrentes do estresse animal em resposta às variações ambientais e exposição ao metal tóxico. Além disso, verificou-se que houve associação significativa da concentração de cádmio com a quantidade de BC nos animais ( $p=0,001$ ).

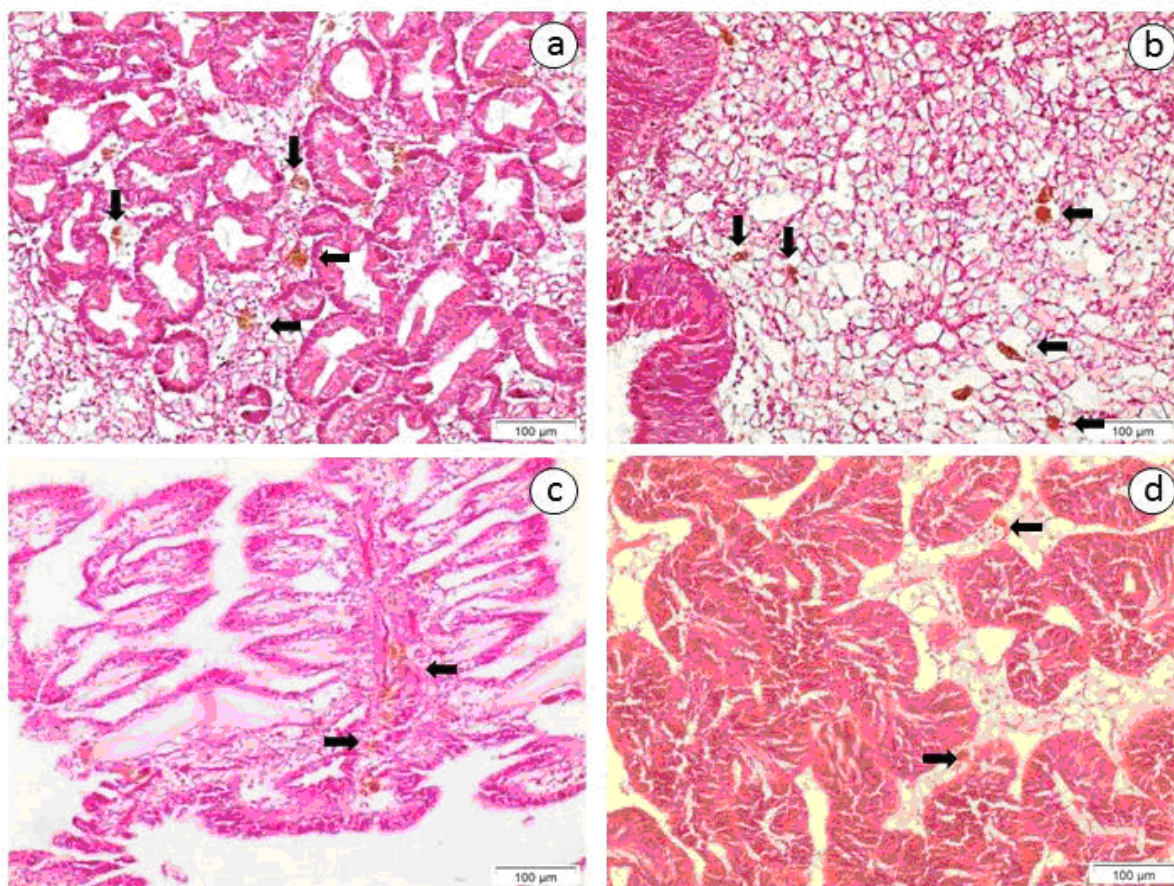


Figura 3. Fotomicrografia de *Crassostrea rhizophorae* com ocorrência de *brown cells* (setas), em diferentes órgãos. a) glândula digestiva entre ácinos; b) tecido conjuntivo do manto; c) brânquias; d) gônada masculina, entre folículos. Coloração: HE.

## 7.4 DISCUSSÃO

A segurança do consumidor depende da sanidade do animal, que, por sua vez, depende das condições físicas, químicas e microbiológicas do ambiente de origem, do manuseio e da tecnologia pós-captura, soma-se a isto a inexistência de legislação adequada, que norteiem a fiscalização de todas as etapas de produção (RAMOS, 2007).

Segundo o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves – PNCMB (BRASIL, 2012), o qual estabelece limites microbiológicos para esse pescado, as ostras produzidas na RESEX Marinha Baía do Iguape apresentam condições sanitárias satisfatórias por evidenciar baixo percentual de animais contaminados. É possível observar essa boa qualidade em diversos estudos no litoral brasileiro por DOI; OLIVEIRA e BARBIERI (2015) em Cananéia-SP, por VIEIRA; VASCONCELOS e CARVALHO (2007) em Fortim-CE e por SILVA et al. (2003) em Fortaleza-CE. Ressalta-se que estudos recentes no estado da Bahia acerca da qualidade microbiológica das ostras apontam para condições sanitárias insatisfatórias de produção e consumo (EVANGELISTA-BARRETO et al., 2014; SANTOS et al., 2016; SILVA NETA et al., 2015), o que difere dos dados desta pesquisa.

Assim, avaliando conjuntamente as contaminações microbiológicas e químicas de *C. rhizophorae* na região em estudo, observa-se uma expressiva contaminação dos animais no período com maior precipitação pluviométrica. Foi interpretado que o aumento na precipitação pluviométrica contribuiu para a lixiviação dos contaminantes por meio do escoamento de dejetos e poluentes do entorno da baía, uma vez que a comunidade ribeirinha não dispõe de saneamento básico, além de que pratica-se a pecuária nas áreas do entorno do manguezal, que muito provavelmente contribuiu com o aumento dos níveis dos indicadores fecais nas ostras, como também observado por DOI; OLIVEIRA e BARBIERI (2015), MIGNANI et al. (2013) e VIEIRA et al. (2008). Além disso, deve-se levar em conta a capacidade inata dos bivalves, incluindo as ostras, de absorver e bioacumular agentes patogênicos e toxigênicos presentes no seu habitat, como já apontado em estudos anteriores (HATJE; BARROS, 2012; HILL, 2004; TORRES et al., 2012a).

Segundo CAMPOS; KERSHAW e LEE (2013), a precipitação pluviométrica é o parâmetro mais comumente associado com níveis máximos de organismos indicadores de contaminação fecal devido à ressuspensão dos sedimentos contaminados na coluna de água. Segundo esses autores, há o predomínio desses organismos em estuários rasos, principalmente durante o período chuvoso, como observado nos resultados microbiológicos do presente estudo.



Além dos patógenos, a contaminação por metais tóxicos nesses moluscos evidencia a ocorrência de bioacumulação dos contaminantes químicos, apesar da região não estar sujeita diretamente a uma intensa atividade industrial, porém essa baía recebe águas da Baía de Todos os Santos, cujos relatos (EMERENCIANO et al., 2008) evidenciam a elevada contaminação química, principalmente por chumbo, cádmio e zinco, decorrente da indústria petroquímica e acidentes com mineração.

Os contaminantes lançados nos corpos d'água pelas atividades agrícolas, portuárias, industriais e de mineração do entorno da Baía de Todos os Santos, geram impactos nos ecossistemas costeiros com efeitos deletérios na biota local e representam ameaça potencial à biodiversidade, bem como aos ecossistemas (OLIVEIRA; MARINS, 2011; PINTO, 2011). Esta contaminação química apontada nessa região corrobora com os relatos de KRULL et al. (2014), SANTOS et al. (2013), HATJE e BARROS (2012) e DA ROCHA et al. (2012).

Ressalta-se que para um alimento ser considerado seguro deve-se observar os perigos de origem física, química e biológica presentes para assegurar a segurança alimentar e nutricional dos consumidores (OPAS, 2006). Apesar das recomendações da FAO (2004) para implementação de programa integrado de monitoramento para obtenção da qualidade das ostras comercializadas e a segurança do consumidor, a inexistência de parâmetros mais abrangentes nos programas de monitoramento e controle para moluscos bivalves reflete na escassez de trabalhos com uma avaliação integrada dos agentes biológicos e químicos e a condição de saúde desses animais de interesse comercial.

Para a avaliação do estado de saúde de bivalves, a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) estabelece a avaliação de parasitos (OIE, 2015). De acordo com os dados do presente estudo, não houve presença de protozoários ou metazoários de notificação obrigatória, bem como não houve associação da presença destes com as alterações histopatológicas, inferidos com base na baixa intensidade de infecção parasitária e na integridade dos tecidos observados, levando a concluir que as ostras estavam aparentemente saudáveis. BOEHS et al. (2012), DOMINGOS et al. (2007) e RIBA et al. (2005) relatam que a exposição a contaminantes e a agentes patogênicos, bem como a mudanças ambientais, podem causar alterações histopatológicas, que serviriam como indicadores de enfermidades ou respostas do organismo dos bivalves a essas exposições.

A hipertrofia do gameta masculino apresentou características semelhantes à hipertrofia gametocítica viral (VGH) descrita por BOWER; MCGLADDERY e PRICE (1994), o que sugere a presença de um vírus das famílias Papillomaviridae ou Polyomaviridae. A baixa prevalência e intensidade não causaram danos teciduais, como evidenciado em estudos em

Carnaubeiras-MA por DANTAS-NETO (2015) e no litoral de Santa Catarina por SABRY et al. (2011) e DA SILVA; MAGALHÃES e BARRACCO (2012).

A baixa prevalência de infiltrações no manto (Tabela1) demonstrou que essa alteração não foi caracterizada como lesão, uma vez que os tecidos encontravam-se íntegros. É possível que estas estivessem relacionadas à degradação de produtos (gametas) da reprodução, já que, em todos os casos, tratava-se de fêmeas em final de desova. Igualmente, a presença pontual de algumas células hipertrofiadas na borda do manto, não foi interpretada como um processo patológico.

Dentre as lesões histopatológicas já identificadas nas brânquias, encontra-se a hiperplasia das células epiteliais do epitélio respiratório, as quais em estágio avançado causam graves perturbações respiratórias e de osmorregulação, podendo ocasionar a morte do animal (SOUZA, 2015). No entanto, observou-se no presente estudo, que essa alteração foi pontual e em apenas duas ostras, tendo sido interpretada como não apresentando risco para a saúde dos mesmos.

A desconfiguração de brânquias foi a alteração histopatológica de maior ocorrência, tendo sido observada em alguns animais associada ao aumento dos septos interlamelares (Figura 2). A possibilidade dessa desconfiguração ter ocorrido em função da presença de *Urastoma* sp. foi considerada, no entanto não houve associação estatística para essa correlação. Segundo BOWER; MCGLADDERY e PRICE (1994), apesar de *Urastoma* não causar danos aparentes, em circunstâncias adversas, a presença desse turbelário pode causar alterações ao hospedeiro.

Ressalta-se que as brânquias foram as mais afetadas pelas alterações histopatológicas, principalmente pela presença de metais tóxicos, pois segundo JI et al. (2015) as brânquias dos bivalves são o primeiro órgão a sofrer efeitos da poluição por metais, incluindo chumbo e cádmio, devido à sua grande superfície constantemente exposta à água estuarina.

A associação significativa da quantidade de BC e a concentração de cádmio e variações ambientais reforçam a função dessas células de metabolização e detoxificação de substâncias tóxicas e a adaptação de bivalves às condições adversas no ambiente. Os estudos de RIBEIRO (2014) e ZAROOGIAN e JACKIM (2000) confirmaram a função excretora das BC e seu papel na remoção de resíduos biológicos, além da relação da expressão e a distribuição das BC no organismo com a função desempenhada por cada órgão com as condições às quais o indivíduo está exposto.

A correlação entre as alterações histopatológicas e de BC nas ostras com a concentração de metais aponta para a resposta do animal à presença dos agentes toxigênicos,

tendo ainda sido influenciada pelas mudanças climáticas. Os elementos não essenciais estão entre os principais elementos tóxicos encontrados nos corpos d'água e podem acumular-se em bivalves, causando-lhes prejuízos fisiológicos (ANACLETO et al., 2015). Além disso, o estresse ambiental interfere na estrutura e função dos sistemas animais, uma vez que a poluição e a degradação nos sistemas estuarinos afetam a comunidade bêntica, principalmente em interação com as variações de salinidade, que é um fator de controle para presença de contaminantes químicos (KRULL et al., 2014).

Em conclusão, *C. rhizophorae* da RESEX Marinha Baía do Iguape apresentou boa condição de saúde segundo parâmetros da OIE e da legislação brasileira e as alterações histopatológicas observadas não apresentam dimensões significativas para caracterização de lesões. A análise sanitária global dos animais demonstra a necessidade de inclusão de limites máximos para metais tóxicos e de parasitos de notificação obrigatória no PNCMB, uma vez que apenas os parâmetros microbiológicos não permitem assegurar a sanidade desses animais e conseqüentemente, garantir a segurança da saúde dos consumidores desses bivalves.

Diante das ferramentas de controle da sanidade animal utilizada no presente estudo, ressalta-se a importância do monitoramento sistemático ambiental e da saúde animal como estratégia de controle da produção de ostras e, conseqüentemente, do incremento da malacocultura visando maior segurança à saúde dos consumidores.

## 7.5 REFERÊNCIAS

ANACLETO, P.; MAULVAULT, A. L.; NUNES, M. L.; CARVALHO, M. L.; ROSA, R.; MARQUES, A. Effects of depuration on metal levels and health status of bivalve molluscs. **Food Control**, v. 47, p. 493-501, 2015.

BOEHS, G.; MAGALHÃES, A. R. M.; SABRY, R. C.; CEUTA, L. O. Parasitos e patologias de bivalves marinhos de importância econômica da costa brasileira. In: SILVA-SOUZA, A. T.; LIZAMA, M. L. A., et al (Ed.). **Patologia e Sanidade de Organismos Aquáticos**. Maringá: ABRAPOA, 2012. p.165-194.

BOWER, S. M.; MCGLADDERY, S. E.; PRICE, I. M. Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish. **Annual Review of Fish Diseases**, v. 4, p. 1-199 1994.

BRASIL. Instrução Normativa Interministerial nº 7, de 8 de maio de 2012. **Institui o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB), estabelece os procedimentos para a sua execução e dá outras providências**. U., D. O., 09.05.2012. Brasília,DF. p 2012.

BRASIL. Resolução RDC N° 42, de 29 de agosto de 2013. **Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos.**D.O.U., 30.08.2013. Brasília,DF. p 33-35. 2013.

CAMPOS, C. J. A.; KERSHAW, S. R.; LEE, R. J. Environmental Influences on Faecal Indicator Organisms in Coastal Waters and Their Accumulation in Bivalve Shellfish. **Estuaries and Coasts** v. 36, p. 834–853, 2013.

CODEX. Codex Alimentarius. **Standard for live and raw bivalve molluscs.** CODEX STAN 292-2008, 2008. p. 1-7.

COEN, L. D.; BISHOP, M. J. The ecology, evolution, impacts and management of host-parasite interactions of marine molluscs. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. in press, 2015.

DA ROCHA, G. O.; GUARIEIRO, A. L. N.; DE ANDRADE, J. B.; EÇA, G. F.; DE ARAGÃO, N. M.; AGUIAR, R. M.; KORN, M. G. A.; BRITO, G. B.; MOURA, C. W. N.; HATJE, V. Contaminação na Baía de Todos os Santos. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 5, p. 583-610, 2012.

DA SILVA, P. M.; MAGALHÃES, A. R. M.; BARRACCO, M. A. Pathologies in commercial bivalve species from Santa Catarina State, southern Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 92, n. 3, p. 571–579, 2012.

DANTAS-NETO, M. P. **Patógenos na ostra *Crassostrea rhizophorae* de estuários da costa setentrional do nordeste brasileiro.** 2015. 113 (Doutorado). Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

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

DOMINGOS, F. X. V.; AZEVEDO, M.; SILVA, M. D.; RANDIA, M. A. F.; FREIRE, C. A.; ASSIS, H. C. S. D.; RIBEIRO, C. A. O. Multibiomarker assessment of three Brazilian estuaries using oysters as bioindicators. **Environmental Research**, v. 105, p. 350-363, 2007.

EMERENCIANO, D. P.; SILVA, H. F. O. D.; CARVALHO, G. C. D.; CRUZ, Â. M. F. D.; MOURA, M. D. F. V. D. **Análise da ocorrência de metais: bário, cádmio, chumbo, cobre, cromo, estanho, níquel e zinco, em mexilhão (*Anomalocardia brasiliana*) coletados no Estuário Potengi/Jundiá - RN.** Publica IV 01 - 09 p. 2008.

EPA. **Sample Preparation Procedure for Spectrochemical Determination of Total Recoverable Elements in Biological Tissue.** Method 200.3. U.S. Environmental Protection Agency. 1991.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; PEREIRA, A. F.; SILVA, R. A. R. D.; FERREIRA, L. T. B. Presença de enteropatógenos resistentes a antimicrobianos em ostras e sururus da Baía do Iguape, Maragogipe (Bahia). **Revista acadêmica**, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2014.

FAO. Food and Agriculture Organization of United Nation. **Report of the Joint FAO/IOC/WHO ad hoc Expert Consultation on Biotoxins in Bivalve Molluscs**. Oslo, Norway, 2004. p. 40.

FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación **Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura. Factores que afectan su sustentabilidad en América Latina**. Roma, 2008. p. 377.

FIGUERAS, A. J.; FISHER, W. S. Ecology and evolution of bevalve parasites. **American Fisheries Society Special Publication**, v. 18, p. 130-137, 1988.

HATJE, V.; BARROS, F. Overview of the 20th century impact of trace metal contamination in the estuaries of Todos os Santos Bay: Past, present and future scenarios. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, p. 2603-2614, 2012.

HILL, M. K. **Understanding Environmental Pollution**. New York: Cambridge University Press, 2004.

HOWARD, D. W.; SMITH, C. S. **Histological Techniques for Marine Bivalve Mollusks**. Woods Hole, Massachusetts: U.S. Department of Commerce, 2004. 102

JI, C.; WANG, Q.; WU, H.; TAN, Q.; WANG, W.-X. A metabolomic investigation of the effects of metal pollution in oysters *Crassostrea hongkongensis*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 90, p. 317-322, 2015.

KINNE, O. **Diseases of Marine Animals**. Hamburg: Biologische Anstalt Helgoland, 1983.

KRULL, M.; ABESSA, D. M. S.; HATJE, V.; BARROS, F. Integrated assessment of metal contamination in sediments from two tropical estuaries. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 106, p. 195-203, 2014.

MAGALHÃES, A. R. M.; FERREIRA, J. F. Patologias e manejo em malacocultura. In: SILVA-SOUZA, A. (Ed.). **Sanidade de Organismos Aquáticos no Brasil**. Maringá, 2006. p.79-94.

MIGNANI, L.; BARBIERI, E.; MARQUES, H. L. D. A.; OLIVEIRA, A. J. F. C. D. Coliform density in oyster culture waters and its relationship with environmental factors. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 48, n. 8, p. 833-840, 2013.

OIE. World Organisation for Animal Health. **Aquatic Animal Health Code**. 2015. p.

OLIVEIRA, R. C. B.; MARINS, R. V. Dinâmica de metais-traço em solo e ambiente sedimentar estuarino como um fator determinante no aporte desses contaminantes para o ambiente aquático: Revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 2, p. 88-102, 2011.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde. **Higiene dos Alimentos – Textos Básicos**. Brasília, 2006. p. 64.

PINTO, A. B. **Utilização de parâmetros microbiológicos para avaliação do impacto da**

**contaminação por petróleo e derivados em sedimentos marinhos.** 2011. 70 (mestrado). PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (MICROBIOLOGIA APLICADA), Universidade Estadual Paulista, RIO CLARO.

RAMOS, R. J. **Monitoramento bacteriológico de águas do mar e de ostras (*Crassostrea gigas*) em áreas de cultivo na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina.** 2007. 117 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis

RENAULT, T. **Pathogens in aquaculture : specific pathogens or human contamination risks.** Colloques Internationaux de l'année Pasteur : Microbes, environnement, Biotechnologies. La Tremblade, France: 155-157 p. 1995.

RIBA, I.; BLASCO, J.; JIMÉNEZ, T.; GONZÁLEZ DE CANALES, M. L.; ANGEL DEL ALLS, T. Heavy metal bioavailability and effects: II. Histopathology-bioaccumulation relationships caused by mining activities in the gulf of Cádiz (SW, Spain). **Chemosphere**, v. 58, p. 671-682, 2005.

RIBEIRO, M. M. **Expressão de células marrons no bivalve marinho *Lucina pectinata* (Mollusca) de estoque natural e sob estresse férrico induzido.** 2014. 86 (Mestrado). Pós-Graduação em Sistemas Aquáticos Tropicais, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus.

SABRY, R. C.; DA SILVA, P. M.; GESTEIRA, T. C. V.; PONTINHA, V. A.; MAGALHÃES, A. R. M. Pathological study of oysters *Crassostrea gigas* from culture and *C. rhizophorae* from natural stock of Santa Catarina Island, SC, Brazil. **Aquaculture**, v. 60, p. 43-50, 2011.

SABRY, R. C.; GESTEIRA, T. C. V.; BOEHS, G. First record of parasitism in the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* (Bivalvia: Ostreidae) at Jaguaribe River estuary – Ceará, Brazil. **Brazilian Journal Biology**, v. 67, n. 4, p. 755-758, 2007.

SANTOS, L. F. P.; TRIGUEIRO, I. N. S.; LEMOS, V. A.; FURTUNATO, D. M. D. N.; CARDOSO, R. D. C. V. Assessment of cadmium and lead in commercially important seafood from São Francisco do Conde, Bahia, Brazil. **Food Control**, v. 33, p. 193-199, 2013.

SANTOS, S. S. D.; BARRETO, L. M.; SILVEIRA, C. S. D.; REIS, N. A.; LIMA, K. A.; SOUZA, J. D. S. D.; EVANGELISTA-BARRETO, N. S. Condições sanitárias de ostras produzidas e comercializadas em Taperoá, Bahia e o efeito da depuração na redução da carga microbiana. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 3, n. 2, p. 49-60, 2016.

SHINN, A. P.; PRATOOMYOT, J.; EBRON, J.; PALADINI, G.; BROOKER, E. E.; BROOKER, A. J. Economic costs of protistan and metazoan parasites to global mariculture. **Parasitology**, v. 142, p. 196–270, 2015.

SILVA, A. I. M.; VIEIRA, R. H. S. F.; MENEZES, F. G. R.; FONTELES-FILHO, A. A.; TORRES, R. C. O.; SANT'ANNA, E. S. Bacteria of fecal origin in mangrove oysters (*Crassostrea rhizophorae*) in the Cocó River Estuary, Ceará State, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology** v. 34, p. 126-130, 2003.

SILVA NETA, M. T.; REZENDE, R. P.; , B. M. M.; BOEHS, A. G. Microbiological quality and bacterial diversity of the tropical oyster *Crassostrea rhizophorae* in a monitored farming system and from natural stocks. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 4, p. 15754-15768, 2015.

SOUZA, N. A. D. **Resposta metabólica da ostra *Crassostrea gigas* na presença do parasita *Amyloodinium ocellatum***. 2015. 53 (Mestrado). Instituto Português do Mar e da Atmosfera, Universidade do Algarve, Faro.

TORRES, R. J.; CESAR, A.; PEREIRA, C. D. S.; CHOUERI, R. B.; ABESSA, D. M. S.; NASCIMENTO, M. R. L. D.; FADINI, P. S.; MOZETO, A. A. Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and mercury in oysters (*Crassostrea rhizophorae*) from two Brazilian estuarine zones. **International Journal of Oceanography**, v. 2012, p. 6-8, 2012.

VIEIRA, R. H. S. D. F.; ATAYDE, M. A.; CARVALHO, E. M. R. D.; CARVALHO, F. C. T. D.; FILHO, A. A. F. Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): Isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 3, p. 180-189, 2008.

VIEIRA, R. H. S. D. F.; VASCONCELOS, R. F.; CARVALHO, E. M. R. D. Quantificação de vibrios, de coliformes totais e termotolerantes em ostra nativa *Crassostrea rhizophorae*, e na água do estuário do Rio Jaguaribe, Fortim-CE. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 01, n. 01, p. 01 – 13, 2007.

ZAROOGIAN, G. E.; JACKIM, E. In vivo metallothionein and glutathione status in an acute response to cadmium in *Mercenaria mercenaria* brown cells. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 127, n. 3, p. 251-261, 2000.

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos dados obtidos no presente trabalho conclui-se que as ostras *Crassostrea rhizophorae* cultivadas na Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape-BA apresentam bom estado geral de saúde e qualidade microbiológica e parasitária satisfatória segundo os parâmetros da legislação brasileira e internacional. Além disso, as alterações histopatológicas observadas não apresentam dimensões significativas para caracterização de lesão confirmando a boa saúde das ostras.

Ressalta-se a necessidade de estratégias de manejo na região, como rodízio de viveiros, suspensão temporária da captura nos períodos de maior pluviosidade e implementação de sistema de depuração. Além disso, é fundamental o monitoramento e controle de qualidade sistemáticos com vistas a redução das contaminações microbiológicas e químicas, bem como a fiscalização para evitar que novas fontes de contaminação surjam, translocação das ostras para áreas controladas minimizando as concentrações de microorganismos, parasitos e metais tóxicos. A inclusão de limites máximos para metais tóxicos e da presença de parasitos de notificação obrigatória nos programas de sanidade de moluscos bivalves contribuirá para manter a inocuidade das ostras destinadas ao consumo, fortalecendo assim a produção segura e sustentável de ostras nativas, e favorecendo a segurança dos consumidores.

Os resultados gerados por esta pesquisa é de fundamental relevância para que os ostreicultores dessa RESEX utilizem essas informações como ferramenta para subsidiar as estratégias de intervenção e controle dos contaminantes ao longo das cadeias de produção e comercialização, promovendo a melhoria da qualidade das ostras beneficiadas. Além disso, as contribuições científicas inéditas acerca da pesquisa de parasitos na região, bem como, a avaliação das alterações histopatológicas e suas correlações com os agentes patogênicos, toxigênicos e ambientais possibilitam o fortalecimento da pesquisa e a produção de conhecimento que fomentará estudos futuros.



## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOLLO, E.; RAMILO, A.; CASAS, S. M.; COMESAÑA, P.; CAO, A.; CARBALLAL, M. J.; VILLALBA, A. First detection of the protozoan parasite *Bonamia exitiosa* (Haplosporidia) infecting flat oyster *Ostrea edulis* grown in European waters. **Aquaculture** v. 274, p. 201–207, 2008
- ACCIOLY, M. D. C.; OLIVEIRA, N. L. D.; NEVES, N. M. S.; CALASANS, F.; RÊGO, J. Construção participativa de projeto de desenvolvimento territorial: a experiência do projeto Semeie Ostras. **Revista NAU Social**, v. 2, n. 3, p. 58-62, 2012.
- ACEB. Associação Cultural e Educacional Brasil. **1º Anuário Brasileiro da Pesca e Aquicultura**. 2014. p. 136.
- AGUDO, I. **Panorama da Malacocultura no Brasil**. 2008. Disponível em: < <http://www.conchasbrasil.org.br/materias/malacocultura/index.asp> >.
- AGUIRRE-MACEDO, M. L.; KENNEDY, C. R. Diversity of metazoan parasites of the introduced oyster species *Crassostrea gigas* in the Exe Estuary. **Journal of the Marine Biological Association of the UK**, v. 79, n. 1, p. 57-63, 1999.
- AGUIRRE-MACEDO, M. L.; SIMÁ-ÁLVAREZ, R. A.; ROMÁN-MAGAÑA, M. K.; GÜEMEZ-RICALDE, J. I. Parasite survey of the eastern oyster *Crassostrea virginica* in Coastal Lagoons of the Southern Gulf of Mexico. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 19, p. 270-279, 2007.
- AL-MADFA, H.; ABDEL-MOATI, M. A. R.; AL-GIMALY, F. H. *Pinctada radiata* (Pearl oyster): A bioindicator for metal pollution monitoring in the Qatari Waters (Arabian Gulf). **Bull. Environ. Contam. Toxicol**, v. 60, p. 245-251, 1998.
- AMADO-FILHO, G. M.; REZENDE, C. E.; SALGADO, L. T.; KAREZ, C. S.; REBELO, M. F.; PFEIFFER, W. C. Heavy metals in benthic organisms from Todos os Santos Bay, Brazil. **Brazilian Journal Biology**, v. 68, n. 1, p. 95-100, 2008.
- ANACLETO, P.; MAULVAULT, A. L.; NUNES, M. L.; CARVALHO, M. L.; ROSA, R.; MARQUES, A. Effects of depuration on metal levels and health status of bivalve molluscs. **Food Control**, v. 47, p. 493-501, 2015.
- ANDERSON, R. M.; MAY, R. M. Regulation and stability of host-parasite population interactions. I. Regulatory processes. **Journal of Animal Ecology**, v. 47, p. 219-247, 1978.
- ANDRADE, M. F. D.; MORAES, L. R. S. Contaminação por chumbo em Santo Amaro desafia décadas de pesquisas e a morosidade do poder público. **Ambiente & Sociedade**, v. 16, n. 2, p. 63-80, 2013.
- ANDREWS, J. D. Epizootiology of diseases of oysters (*Crassostrea virginica*), and parasites of associated organisms in eastern North America. **Helgol-inder Meeresunters**, v. 37, p. 149-166, 1984.

AZEVEDO, C.; VILLALBA, A. Extracellular giant rickettsiae associated with bacteria in the gill of *Crassostrea gigas* (Mollusca, Bivalvia). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 58, p. 75-81, 1991.

BAHIA PESCA. Governo do Estado da Bahia. **Perfil do setor pesqueiro (litoral do Estado da Bahia)**. Salvador, 1994. p. 75.

BAHIA PESCA. Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca. **Aquicultura marítima**. 2012. Disponível em: < <http://www.bahiapesca.ba.gov.br/aquicultura-maritima> >. Acesso em: 09/01/2014.

BANDEIRA, F. P.; LOBÃO, J.; JACINTHO, B.; RIGUEIRA, D.; MODERCIN, I.; PIOVESAN, J.; SILVA, L.; MALAFAIA, P.; BAQUEIRO, C.; NASCIMENTO, C. Instituto do Meio Ambiente, Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos, EGBA. **Estudo etnoecológico sobre a percepção das populações ribeirinhas dos riscos e impactos ambientais na Baía de Todos-os-Santos (BTS)**. Salvador, 2009. p. 137.

BARBOSA, M. M. C. **Qualidade Higienico-Sanitária e ocorrência de *Aeromonas sp.* e *Escherichia coli* em Tilápias comercializadas no varejo**. 2013. 104 (Doutorado). Programa de pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

BARROS, D.; BARBIERI, E. Análise da ocorrência de metais: Ni, Zn, Cu, Pb e Cd em ostras (*Crassostrea brasiliana*) e sedimentos coletados no Estuário de Cananeia-SP (Brasil). **O Mundo da Saúde**, v. 36, n. 4, p. 635-642, 2012.

BARROSO, G. F.; POERSCH, L. H.; CASTELLO, J. P.; CAVALLI, R. O. Premissas para a sustentabilidade da aqüicultura costeira. In: BARROSO, G. F.; POERSCH, L. H. D. S., et al (Ed.). **Sistemas de cultivos aqüícolas na zona costeira do Brasil : recursos, tecnologias, aspectos ambientais e sócio-econômicos**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2007. cap. 1, p.15-24.

BILANDZIC, N.; SEDAK, M.; CALOPEK, B.; ZRNCIC, S.; ORAIC, D.; BENIC, M.; DZAFIC, N.; OSTOJIC, D. M.; BOGDANOVIC, T.; PETRICEVIC, S.; UJEVIC, I. Element differences and evaluation of the dietary intake from farmed oysters and mussels collected at different sites along the Croatian coast of the Adriatic Sea. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 45, p. 39-49, 2016.

BLODGETT, R. Appendix 2 - Most Probable Number from Serial Dilutions. In: U.S. Food and Drug Administration (Ed.). **Bacteriological Analytical Manual**. Washington D.C.: Washington 2010. Disponível em: < <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm109656.htm#tab2> >. Acesso em: 02 dez 2014.

BOEHS, G.; LENZ, T. M.; VILLALBA, A. Xenomas in *Crassostrea rhizophorae* (Ostreidae) from Camamu Bay, Bahia, Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 69, n. 2, p. 457-458, 2009.

BOEHS, G.; MAGALHÃES, A. R. M.; SABRY, R. C.; CEUTA, L. O. Parasitos e patologias de bivalves marinhos de importância econômica da costa brasileira. In: SILVA-SOUZA, A. T.; LIZAMA, M. L. A., et al (Ed.). **Patologia e Sanidade de Organismos Aquáticos**. Maringá: ABRAPOA, 2012. p.165-194.

BOEHS, G.; VILLALBA, A.; CEUTA, L. O.; LUZ, J. R. Parasites of three commercially exploited bivalve mollusc species of the estuarine region of the Cachoeira river (Ilhéus, Bahia, Brazil). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, p. 43–47, 2010.

BOWER, S. M.; MCGLADDERY, S. E.; PRICE, I. M. Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish. **Annual Review of Fish Diseases**, v. 4, p. 1-199 1994.

BRANDÃO, R. P.; BOEHS, G.; SILVA, P. M. D. Health assessment of the oyster *Crassostrea rhizophorae* on the southern coast of Bahia, northeastern Brazil. **Brazilian Journal Veterinary Parasitology**, v. 22, n. 1, p. 84-91, 2013.

BRANDINI, F. P.; SILVA, A. S.; PROENÇA, L. A. O. Oceanografia e maricultura. In: (Ed.). **Aqüicultura no Brasil**. Brasília: CNPq, 2000. p.107-142.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº30.691 de 29 de março de 1952. RIISPOA: Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**. Brasília, DF. p 1952.

BRASIL. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 **Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. D.O.U. Brasília, DF. p 53. 2001.

BRASIL. Resolução CONAMA Nº 357, de 17 de março de 2005 **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências**. D.O.U., 18.03.2005. Brasília, DF. p 58-63. 2005.

BRASIL. Lei Nº 11.959, de 29 de junho de 2009. **Dispõe sobre a Política Nacional de Desenvolvimento Sustentável da Aquicultura e da Pesca, regula as atividades pesqueiras, revoga a Lei nº 7.679, de 23 de novembro de 1988, e dispositivos do Decreto-lei nº 221, de 28 de fevereiro de 1967, e dá outras providências**. D.O.U. 30/06/2009. Brasília, DF. p 1. 2009a.

BRASIL. Lei Nº 12.058, de 13 de outubro de 2009. **Dispõe sobre a prestação de apoio financeiro pela União aos entes federados que recebem recursos do Fundo de Participação dos Municípios FPM, no exercício de 2009, com o objetivo de superar dificuldades financeiras emergenciais**. D.O.U. Brasília, DF. p 2009b.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico da Pesca e aquicultura 2011**. Brasília, 2011. p. 60.

BRASIL. Instrução Normativa Interministerial nº 7, de 8 de maio de 2012. **Institui o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB), estabelece os procedimentos para a sua execução e dá outras providências**. U., D. O., 09.05.2012. Brasília,DF. p 2012.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Balanco 2013 Pesca e Aquicultura**. Brasília, 2013a. p. 12.

BRASIL. Resolução RDC N° 42, de 29 de agosto de 2013. **Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos.** D.O.U., 30.08.2013. Brasília,DF. p 33-35. 2013b.

BRASIL. **Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos.** 2014. Disponível em: <  
[http://www.anrbrasil.org.br/new/pdfs/2014/3\\_PAINEL\\_1\\_ApresentacaoRejaneAlvesVigilanciaEpidemiologica-VE-DTA-Agosto\\_2014\\_PDF.pdf](http://www.anrbrasil.org.br/new/pdfs/2014/3_PAINEL_1_ApresentacaoRejaneAlvesVigilanciaEpidemiologica-VE-DTA-Agosto_2014_PDF.pdf)>. Acesso em: 15/09/2015.

BRITO, L. O.; BARROS, J. C. N. D.; GÁLVEZ, A. O.; BARROS, F. N. D. Presence of Nematopsis sp. (Protozoa, Apicomplexa) in the oyster, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828), cultivated in the state of Pernambuco, Brazil. **World Aquaculture**, p. 60-62, 2010.

BURKHARDT, W.; CALCI, K. R. Selective accumulation may account for shellfish-associated viral illness. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 4, p. 1375–1378, 2000.

BURRESON, E. M.; STOKES, N. A.; FRIEDMAN, C. S. Increased virulence in an introduced pathogen: *Haplosporidium nelsoni* (MSX) in the Eastern Oyster *Crassostrea virginica*. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 12, p. 1-8, 2000.

BUSH, A.; LAFFERTY, K.; LOTZ, J.; SHOSTAK, A. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **Journal of Parasitology**, v. 83, n. 4, p. 575-583, 1997.

BUTT, A. A.; ALDRIDGE, K. E.; SANDERS, C. V. Infections related to the ingestion of seafood Part I: viral and bacterial infections. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 4, p. 201-212, 2004.

CABELLI, V. J.; HEFFERNAN, W. P. Accumulation of *Escherichia coli* by the Northern Quahaug. **Applied Microbiology**, v. 19, n. 2, p. 239-244, 1970.

CÁCERES-MARTÍNEZ, J.; VÁSQUEZ-YEOMANS, R.; PADILLA-LARDIZÁBAL, G. Parasites of the pleasure oyster *Crassostrea corteziensis* cultured in Nayarit, Mexico. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 22, n. 3, p. 141-151, 2010.

CALDAS, J. S.; SANCHES FILHO, P. J. DETERMINAÇÃO DE Cu, Pb E Zn NO SEDIMENTO DA REGIÃO DO PONTAL DA BARRA, LARANJAL (LAGUNA DOS PATOS, PELOTAS – RS, BRASIL). **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 17, n. 1, p. 13-18, 2013.

CAMPOS, C. J. A.; KERSHAW, S. R.; LEE, R. J. Environmental Influences on Faecal Indicator Organisms in Coastal Waters and Their Accumulation in Bivalve Shellfish. **Estuaries and Coasts** v. 36, p. 834–853, 2013.

CARVALHO, F. M.; NETO, A. M. S.; TAVARES, T. M.; COSTA, Â. C. A.; CHAVES, C. D. E. R.; NASCIMENTO, L. D.; REIS, M. D. A. Chumbo no sangue de crianças e passivo ambiental de uma fundição de chumbo no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 13, n. 1, p. 19–24, 2003.

CARVALHO, J. B. **Caracterização morfoestratigráfica do preenchimento sedimentar da Baía de Iguape, Bahia – Influência das variações eustáticas do nível do mar e atividades tectônicas recentes**. 2000. 125 (Mestrado). Pós-Graduação em Geologia Universidade Federal da Bahia, Salvador.

CELINO, J. J.; QUEIROZ, A. F. D. S. Fonte e grau da contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) de baixa massa molecular em sedimentos da baía de Todos os Santos, Bahia. **REM: R. Esc. Minas**, v. 59, n. 3, p. 265-270, 2006.

CEUTA, L.; BOEHS, G. Parasites of the mangrove mussel *Mytella guyanensis* (Bivalvia: Mytilidae) in Camamu Bay, Bahia, Brazil. **Brazilian Journal Biology**, v. 72, n. 3, p. 421-427, 2012.

CEUTA, L. O. **Parasitos e histopatologia do marisco-do-mangue, *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) (bivalvia: Mytilidae), da Baía de Camamu (Bahia)**. 2010. 51 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Sistemas Aquáticos Tropicais –Ecologia, UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ, ILHÉUS.

CHIBA, W. A. C.; PASSERINI, M. D.; TUNDISI, J. G. Metal contamination in benthic macroinvertebrates in a sub-basin in the southeast of Brazil. **Brazilian Journal Biology**, v. 71, n. 2, p. 391-399, 2011.

CHRISTO, S. W. **Biologia reprodutiva e ecologia de ostras do gênero *Crassostrea sacco*, 1897 na Baía de Guaratuba (Paraná – Brasil): Um subsídio ao cultivo**. 2006. 146 (Doutorado). Programa Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Zoologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

CHRISTO, S. W.; ABSHER, T. M.; KOLM, H. E.; CRUZ-KALED, A. C. D. Qualidade da água em área de cultivo de ostras na Baía de Guaratuba (Paraná – Brasil). **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 1, p. 67-71, 2008.

CMMAD. Comissão Mundial sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento. **Nosso Futuro Comum**. Rio de Janeiro, 1991. p.

CODEX. Codex Alimentarius. **Standard for live and raw bivalve molluscs**. CODEX STAN 292-2008, 2008. p. 1-7.

CODEX ALIMENTARIUS. **Código de prácticas para el pescado y los productos pesqueros**. CAC/RCP 52-2003. 2011.

COEN, L. D.; BISHOP, M. J. The ecology, evolution, impacts and management of host–parasite interactions of marine molluscs. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. in press, 2015.

COEN, L. D.; LUCKENBACH, M. W. Developing success criteria and goals for evaluating oyster reef restoration: Ecological function or resource exploitation? **Ecological Engineering**, v. 15, n. 3-4, p. 323-343, 2000.

COVA, A. W.; JÚNIOR, M. S.; BOEHS, G.; SOUZA, J. M. D. Parasitos na ostra-do-mangue *Crassostrea rhizophorae* cultivada no estuário do rio Graciosa em Taperoá, Bahia. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 24, n. 1, p. 21-27, 2015.

CREMONTE, F.; BALSEIRO, P.; FIGUERAS, A. Occurrence of *Perkinsus olseni* (Protozoa: Apicomplexa) and other parasites in the venerid commercial clam *Pitar rostrata* from Uruguay, southwestern Atlantic coast. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 64, p. 85-90, 2005.

CREMONTE, F.; FIGUERAS, A.; BURRESON, E. M. A histopathological survey of some commercially exploited bivalve molluscs in northern Patagonia, Argentina. **Aquaculture**, v. 249, p. 23-33, 2005.

CROCKFORD, M.; JONES, B. **Aquatic Animal Health Subprogram: Investigation of Chlamydiales-like organisms in pearl oysters, *Pinctada maxima*. Final Report FRDC Project No. 2008/031. Fisheries Research Report No. 232.** Western Australia. p 40. 2012.

CRUZ, A. P. B. D. S. **Costurando os retalhos: Um estudo sobre a comunidade Santiago do Iguape.** III Encontro Baiano de Estudos em Cultura. Cachoeira: 1-12 p. 2012.

CULLOTY, S. C.; MULCAHY, M. F. *Bonamia ostreae* in the native oyster *Ostrea edulis*. A Review. **Marine Environment and Health Series**, v. 27, p. 1-36, 2007.

CUNNINGHAM, P. A.; TRIPP, M. R. Factors affecting the accumulation and removal of mercury from tissues of the american oyster *Crassostrea virginica*. **Marine Biology**, v. 31, n. 4, p. 311-319, 1975.

DA ROCHA, G. O.; GUARIEIRO, A. L. N.; DE ANDRADE, J. B.; EÇA, G. F.; DE ARAGÃO, N. M.; AGUIAR, R. M.; KORN, M. G. A.; BRITO, G. B.; MOURA, C. W. N.; HATJE, V. Contaminação na Baía de Todos os Santos. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 5, p. 583-610, 2012.

DA SILVA, P. M. Diagnóstico de doenças de moluscos marinhos: uma prática para o bom desenvolvimento da maricultura. **Panorama da aquicultura**, v. maio/junho, p. 22-27, 2008.

DA SILVA, P. M.; MAGALHÃES, A. R. M.; BARRACCO, M. A. Pathologies in commercial bivalve species from Santa Catarina State, southern Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 92, n. 3, p. 571-579, 2012.

DA SILVA, P. M.; SCARDUA, M. P.; VIANNA, R. T.; MENDONÇA, R. C.; VIEIRA, C. B.; DUNGAND, C. F.; SCOTT, G. P.; REECE, K. S. Two *Perkinsus* spp. infect *Crassostrea gasar* oysters from cultured and wild populations of the Rio São Francisco estuary, Sergipe, northeastern Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 119, p. 62-71, 2014.

DA SILVA, P. M.; SCARDUA, M. P.; VIEIRA, C. B.; ALVES, A. C.; DUNGAN, C. F. Survey of pathologies in *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) oysters from cultured and wild populations in the São Francisco Estuary, Sergipe, Northeast Brazil. **Journal of Shellfish Research**, v. 34, n. 2, p. 289-296, 2015.

DA SILVA, P. M.; VIANNA, R. T.; GUERTLER, C.; FERREIRA, L. P.; SANTANA, L. N.; FERNÁNDEZ-BOO, S.; RAMILO, A.; CAO, A.; VILLALBA, A. First report of the protozoan parasite *Perkinsus marinus* in South America, infecting mangrove oysters *Crassostrea rhizophorae* from the Paraíba River (NE, Brazil). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 113, p. 96-113, 2013.

DANTAS-NETO, M. P. **Patógenos na ostra *Crassostrea rhizophorae* de estuários da costa setentrional do nordeste brasileiro**. 2015. 113 (Doutorado). Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

DELGADO DA SILVA, M. C.; NORMANDE, A. C. L.; FERREIRA, M. V.; RAMALHO, L. S. Avaliação da qualidade microbiológica de pescado comercializado em Maceió, AL. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 96, p. 61-64, 2002.

DEROLEZ, V.; SOUDANT, D.; FIANDRINO, A.; CESMAT, L.; SERAIS, O. Impact of weather conditions on *Escherichia coli* accumulation in oysters of the Thau lagoon (the Mediterranean, France). **Journal of Applied Microbiology**, v. 114, n. 2, p. 516-525, 2013.

DOI, S. A.; BARBIERI, E.; MARQUES, H. L. D. A. Densidade colimétrica das áreas de extrativismo de ostras em relação aos fatores ambientais em Cananeia (SP). **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 165-171, 2014.

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

DOMINGOS, F. X. V.; AZEVEDO, M.; SILVA, M. D.; RANDIA, M. A. F.; FREIRE, C. A.; ASSIS, H. C. S. D.; RIBEIRO, C. A. O. Multibiomarker assessment of three Brazilian estuaries using oysters as bioindicators. **Environmental Research**, v. 105, p. 350-363, 2007.

EMERENCIANO, D. P.; SILVA, H. F. O. D.; CARVALHO, G. C. D.; CRUZ, Â. M. F. D.; MOURA, M. D. F. V. D. **Análise da ocorrência de metais: bário, cádmio, chumbo, cobre, cromo, estanho, níquel e zinco, em mexilhão (*Anomalocardia brasiliana*) coletados no Estuário Potengi/Jundiá - RN**. Publica IV 01 - 09 p. 2008.

EPA. **Sample Preparation Procedure for Spectrochemical Determination of Total Recoverable Elements in Biological Tissue**. Method 200.3. U.S. Environmental Protection Agency. 1991.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; PEREIRA, A. F.; SILVA, R. A. R. D.; FERREIRA, L. T. B. Presença de enteropatógenos resistentes a antimicrobianos em ostras e sururus da Baía do Iguape, Maragogipe (Bahia). **Revista acadêmica**, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2014.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; SOUSA, O. V. D.; VIEIRA, R. H. S. D. F. Moluscos bivalves: organismos bioindicadores da qualidade microbiológica das águas: Uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 2, n. 2, p. 17-29, 2008.

FAO. Food and Agriculture Organization. **Declaration on World Food Security: 13-17 November 1996.** Rome, Italy. 1996. Disponível em: < <http://www.fao.org/docrep/003/w3613e/w3613e00.htm> >. Acesso em: 31 jan. 2016.

FAO. Food and Agriculture Organization of United Nation. **Report of the Joint FAO/IOC/WHO ad hoc Expert Consultation on Biotoxins in Bivalve Molluscs.** Oslo, Norway, 2004. p. 40.

FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación **Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura. Factores que afectan su sustentabilidad en América Latina.** Roma, 2008. p. 377.

FAO. **Global Aquaculture Production statistics database updated to 2013 – Summary information.** 2013. Disponível em: < <http://www.fao.org/3/a-i4899e.pdf> >.

FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura.** Roma, 2014. p. 253.

FARIA, I. **Projetos de vida e juventude: Um diálogo entre a escola, o trabalho e o “mundo” (uma experiência de etnopesquisa no Vale do Iguape).** 2006. 62 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Educação, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

FARIAS, H. **Qualidade higiênico-sanitária na cadeia produtiva de ostras, *Crassostrea sp.*, cultivadas na Baía de Guaratuba, PR, Brasil.** 2008. 94 (Mestrado). Programa de Pós – Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, CURITIBA.

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

FAYER, R.; DUBEY, J.; LINDSAY, D. Zoonotic protozoa: from land to sea. **Trends in Parasitology**, v. 20, n. 11, p. 531-536, 2004.

FDA. Food and Drug Administration. **National Shellfish Sanitation Program (NSSP). Guide for the Control of Molluscan Shellfish.** 2013. p. 438.

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

FERNANDES, R. B. A.; LUZ, W. V.; FONTES, M. P. F.; FONTES, L. E. F. Avaliação da concentração de metais pesados em áreas olerícolas no Estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 81-93, 2007.

FIGUERAS, A. J.; FISHER, W. S. Ecology and evolution of bevalve parasites. **American Fisheries Society Special Publication**, v. 18, p. 130-137, 1988.

FLEMING, L. C. Occurrence of symbiotic turbellarians in the oyster, *Crassostrea virginica*. **Hydrobiologia**, v. 132, n. 1, p. 311-315, 1986.



FORCELINI, H. C. D.-L.; KOLM, H. E.; ABSHER, T. M. Escherichia coli in the Surface Waters and in Oysters of Two Cultivations of Guaratuba Bay - Paraná - Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology** v. 56, n. 2, p. 319-326, 2013.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FREITAS, F.; NEIVA, G. S.; SILVA, N. A. N. D.; JANUSIC, L.; CAMILO, V. M. A.; SILVA, I. D. M. M. D.; MENDONÇA, F. D. S. **Microbiological quality of the mangrove oysters (Crassostrea rhizophorae) in Iguape Bay Marine Extractive Reserve, Bahia, Brazil**. 24th Internacional ICFMH Conference. Nantes, France: 478 p. 2014.

FREITAS, F.; SANTOS, M. L. D.; NEIVA, G. S.; SILVA, I. D. M. M.; AMOR, A. L. M.; ASSUNÇÃO, R. D. J.; CAMILO, V. M. A. Qualidade sanitária de sururu (*Mytella guyanensis*) beneficiado por comunidade quilombola. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. in press, 2016.

FRIEDMAN, C. S.; PERKIN, F. O. Range extension of *Bonamia ostreae* to Maine, U.S.A. **Journal of Invertebrate Pathology** v. 64, p. 179-181, 1994.

FRYER, J. L.; LANNAN, C. N. Rickettsial and Chlamydial infections of freshwater and marine fishes, bivalves, and crustaceans. **Zoological Studies**, v. 33, n. 2, p. 95-107, 1994.

FUNO, I. C. D. S. A.; ANTONIO, Í. G.; MARINHO, Y. F.; GÁLVEZ, A. O. Influência da salinidade sobre a sobrevivência e crescimento de *Crassostrea gasar*. **Boletim Instituto da Pesca**, v. 41, n. 4, p. 837 – 847, 2015.

GALTSOFF, P. S. The American oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin. **Fishery Bulletin** v. 64, p. 1-480, 1964.

GARCIA, A. N. **Contaminação microbiológica na área de cultivo de moluscos bivalves de anchieta (Espírito Santo, Brasil)**. 2005. 68 (Graduação Bacharelado). Departamento de Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.

GENZ, F. **Avaliação dos efeitos da barragem pedra do cavalo sobre a circulação estuarina do Rio Paraguaçu e Baía de Iguape**. 2006. 266 (Doutorado). PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GEOLOGIA, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

GONÇALVES, A. A. Situação da pesca no Brasil ontem e hoje. **Revista Higiene Alimentar**, v. 21, n. 154, p. 3-7, 2007.

GONZALEZ, M.; GRAÜ, C.; VILLALOBOS, L. B.; GIL, H.; VÁSQUES-SUÁREZ, A. Calidad microbiológica de la ostra *Crassostrea rhizophorae* y agua de extracción, estado Sucre, Venezuela. **Revista ciência FCV-LUZ**, v. 19, n. 6, p. 659-666, 2009.

GOURMELON, M.; LAZURE, P.; HERVIO-HEATH, D.; SAUX, J. C. L.; CAPRAIS, M. P.; GUYADER, F. S. L.; CATHERINE, M.; POMMEPUY, M. Microbial modelling in coastal environments and early warning systems: useful tools to limit shellfish microbial

contamination. In: REES, G.;POND, K., et al (Ed.). **Safe Management of Shellfish and Harvest Waters**. London: World Health Organization (WHO), 2010. cap. 16, p.22.

GREENING, G. E.; WOLF, S. Calicivirus Environmental Contamination. In: HANSMAN, G. S.;JIANG, X. J., et al (Ed.). **Caliciviruses: Molecular and Cellular Virology**. Norfolk, UK: Caister Academic Press, 2010. cap. 2, p.25-44.

GUZMÁN-AGÜERO, J. E.; NIEVES-SOTO, M.; HURTADO, M. Á.; VALDEZ, P. P.; GARZA-AGUIRRE, M. D. C. Feeding physiology and scope for growth of the oyster *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951) acclimated to different conditions of temperature and salinity. **Aquaculture International**, v. 21, p. 283–297, 2013.

HANDLEY, S. J.; BERGQUIST, P. R. Spionid polychaete infestations of intertidal pacific oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg) , Mahurangi Harbour, northern New Zealand. **Aquaculture**, v. 153, p. 191-205, 1997.

HARSHBARGER, J. C.; CHANG, S. C.; OTTO, S. V. Chlamydiae (with Phages), Mycoplasmas, and Rickettsiae in Chesapeake Bay Bivalves. **Science**, v. 196, p. 666-668, 1977.

HATJE, V.; ANDRADE, J. B. D. **Baía de Todos os Santos : aspectos oceanográficos**. Salvador: EDUFBA, 2009.

HATJE, V.; BARROS, F. Overview of the 20th century impact of trace metal contamination in the estuaries of Todos os Santos Bay: Past, present and future scenarios. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, p. 2603-2614, 2012.

HELM, M. M.; BOURNE, N.; LOVATELLI, A. **Hatchery culture of bivalves**. Rome, 2004. p. 25.

HILL, M. K. **Understanding Environmental Pollution**. New York: Cambridge University Press, 2004.

HOWARD, D. W.; SMITH, C. S. **Histological Techniques for Marine Bivalve Mollusks**. Woods Hole, Massachusetts: U.S. Department of Commerce, 2004. 102

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de Orçamentos Familiares - POF 2008/2009**. Rio de Janeiro, 2010. p. 282.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Pecuária Municipal**. 2016. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=3940&n=0&u=0&z=t&o=21&i=P> Acesso em: 25.01.2016.

ICMSF. Internacional Comission on Microbiological Specifications for Foods. **Microorganisms in foods: microbial ecology of foods commodities**. Gaithersburg, Maryland, 2000. p. 615.

IMO. International Maritime Organization. **International Convention for the Control and Management of Ships' Ballast Water and Sediments, (BWM)**. 2015. Disponível em: <

<http://www.imo.org/About/Conventions/ListOfConventions/Pages/International-Convention-for-the-Control-and-Management-of-Ships%27-Ballast-Water-and-Sediments-%28BWM%29.aspx> >. Acesso em: 25/11/2015.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

JI, C.; WANG, Q.; WU, H.; TAN, Q.; WANG, W.-X. A metabolomic investigation of the effects of metal pollution in oysters *Crassostrea hongkongensis*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 90, p. 317-322, 2015.

KELLER, R.; JUSTINO, J. F.; CASSINI, S. T. Assessment of water and seafood microbiology quality in a mangrove region in Vitória, Brazil. **Journal of Water and Health**, v. 11, n. 3, p. 573-580, 2013.

KERSHAW, S.; CAMPOS, C.; KAY, D. Centre for Environment, Fisheries & Aquaculture Science. **Review of knowledge on the impact of chronic microbial contamination on bivalve shellfish**. Suffolk, UK, 2012. p. 43.

KINNE, O. **Diseases of Marine Animals**. Hamburg: Biologische Anstalt Helgoland, 1983.

KOLM, H. E.; ABSHER, T. M. Bacterial density and coliform organisms in waters and oysters of Paranaguá Estuarine Complex, Paraná, Brazil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, n. 1, p. 49-59, 2008.

KOLM, H. E.; ANDRETTA, L. Bacterioplankton in different tides of the perequê tidal creek, Pontal do Sul, Paraná, Brasil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, p. 97-103, 2003.

KRULL, M.; ABESSA, D. M. S.; HATJE, V.; BARROS, F. Integrated assessment of metal contamination in sediments from two tropical estuaries. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 106, p. 195-203, 2014.

LABREUCHE, Y.; LAMBERT, C.; SOUDANT, P.; BOULO, V.; HUVET, A.; NICOLAS, J.-L. Cellular and molecular hemocyte responses of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, following bacterial infection with *Vibrio aestuarianus* strain 01/32. **Microbes and Infection**, v. 8, p. 2715-2724, 2006.

LEAL, D. A. G.; FRANCO, R. M. B. Moluscos bivalves destinados ao consumo humano como vetores de protozoários patogênicos: Metodologias de detecção e normas de controle. **Rev Panam Infectol** v. 10, n. 4, p. 48-57, 2008.

LEAL, D. A. G.; PEREIRA, M. A.; FRANCO, R. M. B.; BRANCO, N.; NETO, R. C. First report of *Cryptosporidium* spp. oocysts in oysters (*Crassostrea rhizophorae*) and cockles (*Tivela mactroides*) in Brazil. **Journal of Water and Health**, v. 6, n. 4, p. 527-32, Dec 2008.

LEES, D. Viruses and bivalve shellfish. **International Journal of Food Microbiology**, v. 59, p. 81-116, 2000.

LUZ, M. D. S. A.; BOEHS, G. Parasites in the oyster *Crassostrea rhizophorae* from farmed and natural stocks in the Bay of Camamu, Bahia, northeastern Brazil. **Journal of Parasitology and Vector Biology**, v. 7, n. 6, p. 120-128, 2015.

M.WALLNER-KERSANACH; THEEDE, H.; EVERSBERG, U.; LOBO, S. Accumulation and elimination of trace metals in a transplantation experiment with *Crassostrea rhizophorae*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 38, p. 40-45, 2000.

MACHADO, M. **Maricultura como base produtiva geradora de emprego e renda: Estudo de caso para o distrito de Ribeirão da Ilha no município de Florianópolis - SC-Brasil**. 2002. 199 (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

MAGALHÃES, A. R. M.; FERREIRA, J. F. Patologias e manejo em malacocultura. In: SILVA-SOUZA, A. (Ed.). **Sanidade de Organismos Aquáticos no Brasil**. Maringá, 2006. p.79-94.

MAMEDE, T. C. A. D. **Biomonitoramento por *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1928) e percepção de risco socioambiental na Baía de Todos os Santos, Bahia**. 2012. 120 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Geoquímica: Petróleo e Meio ambiente – POSPETRO, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

MARTINS, A. G. L. D. A.; NASCIMENTO, A. R.; VIEIRA, R. H. S. D. F.; SERRA, J. L.; ROCHA, M. M. R. M. Quantificação e identificação de *Aeromonas spp.* em águas de superfície do estuário do Rio Bacanga em São Luís / MA (Brasil). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 107-118 2009.

MEYER, U.; HAGEN, W.; MEDEIROS, C. Mercury in a northeastern Brazilian mangrove area, a case study: potential of the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* as bioindicator for mercury. **Marine Biology**, v. 131, n. 1, p. 113-121, 1998.

MIGNANI, L.; BARBIERI, E.; MARQUES, H. L. D. A.; OLIVEIRA, A. J. F. C. D. Coliform density in oyster culture waters and its relationship with environmental factors. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 48, n. 8, p. 833-840, 2013.

MIOTTO, M. **Recomendações para um programa de boas práticas aquícolas em cultivos de ostras (*Crassostrea gigas*)**. 2012. 152 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

MIQUELANTE, F. A.; KOLM, H. E. Indicadores microbiológicos de poluição fecal na desembocadura da gamboa Olho D'água, Paraná: subsídio para o monitoramento da balneabilidade no Brasil. **PUBLICATIO UEPG: Biological and Health Sciences**, v. 17, n. 1, p. 21-35, 2011.

MOK, J. S.; YOO, H. D.; PARK, Y. C.; LEE, H. J.; HA, K. S.; KIM, P. H.; LEE, T. S.; SHIM, K. B.; YOON, H. D.; KWON, J. Y.; SON, K. T.; KIM, J. H. Bioaccumulation of heavy metals in oysters from the southern Coast of Korea: assessment of potential risk to human health. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 94, p. 749-755, 2015.

MÖLLER, H. Pollution and parasitism in the aquatic environment. **International Journal for Parasitology**, v. 17, n. 2, p. 353-361, 1987.

MORESCO, V.; VIANCELLI, A.; NASCIMENTO, M. A.; SOUZA, D. S. M.; RAMOS, A. P. D.; GARCIA, L. A. T.; SIMÕES, C. M. O.; BARARDI, C. R. M. Microbiological and physicochemical analysis of the coastal waters of southern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n. 1, p. 40-48, 2012.

MPA. Ministério da Pesca e Aquicultura **Produção**. 2014. Disponível em: < <http://www.mpa.gov.br/index.php/aquicultura/producao> >. Acesso em: 20 fev. 2015.

NASCIMENTO, I. A.; LEITE, M. B. N.; SANSONE, G.; PEREIRA, S. A.; SMITH, D. H. Stress protein accumulation as an indicator of impact by the petroleum industry in Todos os Santos Bay, Brazil. **Aquatic Ecosystem Health & Management**, v. 1, n. 1, p. 101-108, 1998.

NASCIMENTO, I. A.; MUNAWAR, M. Preface. **Aquatic Ecosystem Health & Management**, v. 3, n. 4, p. 431-431, 2000.

NASCIMENTO, I. A.; SMITH, D. H.; KERN II, F.; PEREIRA, S. A. Pathological findings in *Crassostrea rhizophorae* from Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. **J. Invertebr. Pathol**, v. 47, n. 3, p. 340-349, 1986.

OIE. World Organisation for Animal Health. **Aquatic Animal Health Code**. 2015. p.

OLIVEIRA, D. R. P.; CASTRO, A. C. L. D.; NASCIMENTO, A. R.; SOARES, L. S.; PORTO, H. L. R. Avaliação do grau de contaminação microbiológica do estuário do Rio Paciência, estado do Maranhão. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 45, n. 1, p. 56-61, 2012.

OLIVEIRA, J.; CUNHA, A.; CASTILHO, F.; ROMALDE, J. L.; PEREIRA, M. J. Microbial contamination and purification of bivalve shellfish: Crucial aspects in monitoring and future perspectives e A mini-review. **Food Control**, v. 22, p. 805-816, 2011.

OLIVEIRA, N. L. D. **Avaliação do crescimento da ostra nativa *Crassostrea* (sacco, 1897) cultivada em estruturas de sistemas fixos nas localidades de Ponta Grossa (município de Vera Cruz) e Iguape (município de Cachoeira), região do Recôncavo, na Baía de Todos os Santos, Bahia**. 2014. 70 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.

OLIVEIRA, R. C. B.; MARINS, R. V. Dinâmica de metais-traço em solo e ambiente sedimentar estuarino como um fator determinante no aporte desses contaminantes para o ambiente aquático: Revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 2, p. 88-102, 2011.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde. **Higiene dos Alimentos – Textos Básicos**. Brasília, 2006. p. 64.

OPAS. Organização Pan-americana da Saúde. **Guias para o gerenciamento dos riscos sanitários em alimentos**. Rio de Janeiro, 2009. p. 322.

OPAS. **Sistema Regional de Informação para a Vigilância das Doenças Transmissíveis por Alimentos**. 2015. Disponível em: < <http://sirveta.panaftosa.org.br/Reports/Reports.aspx> >. Acesso em: 16/09/2015.

OSTRENSKY, A.; BORBHITTI, J. R.; SOTO, D. **Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer**. Brasília: Organização das nações Unidas para Aquicultura e Alimentação, 2008. 276

PABA, G. M.; ANGULO, I. C.; PADILLA, L. U. Bioacumulación de cadmio en ostras de la Bahía de Cartagena. **Revista Ingenierías Universidad de Medellín**, v. 7, n. 13, p. 11-20, 2008.

PACHECO, T. A.; LEITE, R. G. M.; ALMEIDA, A. C.; SILVA, N. M. O.; FIORINI, J., E. Análise de coliformes e bactérias mesófilas em pescado de água doce. **Higiene alimentar**, v. 18, n. 116/117, p. 68-72, 2004.

PÁEZ-OSUNA, F.; OSUNA-MARTÍNEZ, C. C. Bioavailability of cadmium, copper, mercury, lead, and zinc in subtropical coastal lagoons from the southeast Gulf of California using mangrove oysters (*Crassostrea corteziensis* and *Crassostrea palmula*). **Arch Environ Contam Toxicol**, v. 68, p. 305-316, 2015.

PEACOCK, M. G.; ORMSBEE, R. A.; JOHNSON, A. M. Rickettsioses of Central America. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 20, n. 6, p. 941-949, 1971.

PEREIRA, A.; TEIXEIRA, A. L.; POLI, C. R.; BROGNOLI, F. F.; SILVA, F. C. D.; RUPP, G. S.; SILVEIRA JR, N.; ARAÚJO, S. C. **Biologia e Cultivo de Ostras**. Florianópolis: UFSC, 1998. 70

PEREIRA, A. M. L.; FILHO, G. D. S. C.; LEGAT, A. P.; LEGAT, J. F. A.; ROUTLEDGE, E. A. B. **A criação de ostras para a aquicultura familiar**. Documentos 163. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Meio Norte. 2007.

PEREIRA, C. S. **A cultura de mexilhões na Baía de Guanabara e suas implicações para a Saúde Pública – Contexto político-social e microbiológico**. 2003. (Doutorado). Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Rio de Janeiro.

PEREIRA, M. A.; NUNES, M. M.; NUERNBERG, L.; SCHULZ, D.; BATISTA, C. R. V. Microbiological quality of oysters (*Crassostrea gigas*) produced and commercialized in the coastal region of Florianópolis – Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology** v. 377, p. 159-163, 2006.

PESO-AGUIAR, M. C.; SMITH, D. H.; ASSIS, R. C. F.; SANTA-ISABEL, L. M.; PEIXINHO, S.; E.P.GOUVEIA; ALMEIDA, T. C. A.; ANDRADE, W. S.; CARQUEIJA, C. R. G.; KELMO, F.; CARROZZO, G.; RODRIGUES, C. V.; CARVALHO, G. C.; JESUS, A. C. S. Effects of petroleum and its derivatives in benthic communities at Baía de Todos os Santos/Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. **Aquatic Ecosystem Health & Management**, v. 3, n. 4, p. 459-470, 2000.

PINTO, A. B. **Utilização de parâmetros microbiológicos para avaliação do impacto da contaminação por petróleo e derivados em sedimentos marinhos**. 2011. 70 (mestrado). PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (MICROBIOLOGIA APLICADA), Universidade Estadual Paulista, RIO CLARO.

PONTINHA, V. D. A. **Diagnóstico da saúde da ostra *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) cultivada em Florianópolis/SC**. 2009. 53 (Mestrado). Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

PORTELLA, C. D. G. **Avaliação da qualidade da ostra nativa *Crassostrea brasiliana* congelada em concha em função da composição química e análise sensorial**. 2005. 75 (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Aqüicultura, UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”, Jaboticabal - SP.

POTASMAN, I.; PAZ, A.; ODEH, M. Infectious Outbreaks Associated with Bivalve Shellfish Consumption: A Worldwide Perspective. **Shellfish-Associated Infectious Outbreaks** v. 35, n. 8, p. 921-928, 2002.

PROST, C. Resex marinha versus polo naval na baía do Iguape. **Novos Cadernos NAEA**, v. 13, n. 1, p. 47-70, 2010.

QUEIROGA, F. R.; VIANNA, R. T.; VIEIRA, C. B.; FARIAS, N. D.; SILVA, P. M. D. Parasites infecting the cultured oyster *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) in Northeast Brazil. **Parasitology**, v. in press, 2015.

QUINÁGLIA, G. A. **Caracterização dos níveis basais de concentração de metais nos sedimentos do sistema estuarino da Baixada Santista**. 2006. 269 (Doutorado). Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

RAMOS, R. J. **Monitoramento bacteriológico de águas do mar e de ostras (*Crassostrea gigas*) em áreas de cultivo na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina**. 2007. 117 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis

RAMOS, R. J.; PEREIRA, M. A.; MIOTTO, L. A.; FARIA, L. F. B. D.; JUNIOR, N. S.; 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 Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, p. 29-37, 2010.

REBELO, M. D. F.; REBOUÇAS, M. C.; PFEIFFE, W. C. High Zn and Cd accumulation in the oyster *Crassostrea rhizophorae*, and its relevance as a sentinel species. **Marine Pollution Bulletin** 46 (2003), v. 46, n. 10, p. 1341-1358, 2003.

REIS, J. O. N. **Determinação polarográfica de Pb<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> em águas do rio Subaé, Santo Amaro, Bahia**. 1975. 81p. Universidade Federal da Bahia, Brasil.

RENAULT, T. **Pathogens in aquaculture : specific pathogens or human contamination risks**. Colloques Internationaux de l'année Pasteur : Microbes, environnement, Biotechnologies. La Tremblade, France: 155-157 p. 1995.

RENAULT, T.; COCHENNEC, N. Rickettsia-like organisms in the cytoplasm of gill epithelial cells of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. **J. Invertebr. Pathol**, v. 64, p. 160-162, 1994.

RENAULT, T.; COCHENNEC, N. Chlamydia-like organisms in ctenidia and mantle cells of the Japanese oyster *Crassostrea gigas* from the French Atlantic coast. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 23, p. 153-159, 1995.

RIBA, I.; BLASCO, J.; JIMÉNEZ, T.; GONZÁLEZ DE CANALES, M. L.; ANGEL DEL ALLS, T. Heavy metal bioavailability and effects: II. Histopathology-bioaccumulation relationships caused by mining activities in the gulf of Cádiz (SW, Spain). **Chemosphere**, v. 58, p. 671-682, 2005.

RIBEIRO, A. L. M. S.; OLIVEIRA, G. M.; FERREIRA, V. M.; PEREIRA, M. M. D.; SILVA, P. P. O. Avaliação microbiológica da qualidade do pescado processado, importado no estado do Rio de Janeiro. **Revista brasileira de Ciência Veterinária**, v. 16, n. 3, p. 109-112, 2009.

RIBEIRO, M. M. **Expressão de células marrons no bivalve marinho *Lucina pectinata* (Mollusca) de estoque natural e sob estresse férrico induzido**. 2014. 86 (Mestado). Pós-Graduação em Sistemas Aquáticos Tropicais, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus.

RIOS, E. C. **Seashells of Brazil**. Rio Grande: Editora da FURG, 1994.

RIPPEY, S. R. Infectious diseases associated with molluscan shellfish consumption. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 7, n. 4, p. 419, 1994.

RISTORI, C. A.; IARIA, S. T.; GELLI, D. S.; RIVERA, I. N. Pathogenic bacteria associated with oysters (*Crassostrea brasiliensis*) and estuarine water along the south coast of Brazil. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 17, n. 4, p. 259-69, Aug 2007.

ROBERTS, T. A.; CORDIER, J. L.; GRAM, L.; TOMPKIN, R. B.; PITT, J. I.; GORRIS, L. G. M.; SWANSON, K. M. J. Fish and fish products. In: ROBERTS, T. A.; CORDIER, J. L., et al (Ed.). **Micro-organisms in Food 6**. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2005. cap. 3, p.174-249.

ROBLEDO, J. A. F.; VASTA, G. R.; RECORD, N. R. Protozoan parasites of bivalve molluscs: literature follows culture. **Plos One**, v. 9, n. 6, p. e100872, 2014.

ROCHA, C. M. C. D.; RESENDE, E. K. D.; ROUTLEDGE, E. A. B.; LUNDSTED, L. M. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 48, n. 8, p. 4-6, 2013a.

ROCHA, C. M. C. D.; RESENDE, E. K. D.; ROUTLEDGE, E. A. B.; LUNDSTED, L. M. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 8, p. 4-6, 2013b.

RODRIGUES, L. D. A. P.; CARVALHO FILHO, C. D. Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* nas etapas de beneficiamento de ostras (*Crassostrea rhizophorae*), cultivadas na Baía de Todos os Santos - BA, e determinação dos Pontos Críticos de Controle. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 13, n. 2, p. 77-83, 2011.

RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados**. São Paulo: Roca, 1996.



SÁ, M. V. C.; BARBOSA, A. K. T.; GOMES, R. B. Correlação entre *Escherichia coli* e variáveis limnológicas em amostras de água da lagoa da Parangaba. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 14, n. 2, p. 33 - 40, 2010.

SABRY, R. C. **Patógenos em ostras na Ilha de Santa Catarina-SC e no Estuário do Rio Pacoti-CE, com ênfase no protozoário Perkinsus**. 2010. 124 (Doutorado). Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SABRY, R. C.; DA SILVA, P. M.; GESTEIRA, T. C. V.; PONTINHA, V. A.; MAGALHÃES, A. R. M. Pathological study of oysters *Crassostrea gigas* from culture and *C. rhizophorae* from natural stock of Santa Catarina Island, SC, Brazil. **Aquaculture**, v. 60, p. 43-50, 2011.

SABRY, R. C.; GESTEIRA, T. C. V.; BOEHS, G. First record of parasitism in the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* (Bivalvia: Ostreidae) at Jaguaribe River estuary – Ceará, Brazil. **Brazilian Journal Biology**, v. 67, n. 4, p. 755-758, 2007.

SABRY, R. C.; GESTEIRA, T. C. V.; MAGALHÃES, A. R. M.; BARRACCO, M. A.; GUERTLER, C.; FERREIRA, L. P.; VIANNA, R. T.; SILVA, P. M. D. Parasitological survey of mangrove oyster, *Crassostrea rhizophorae*, in the Pacoti River Estuary, Ceará State, Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 112, p. 24–32, 2013.

SABRY, R. C.; MAGALHÃES, A. R. M. Parasitas em ostras de cultivo (*Crassostrea rhizophorae* e *Crassostrea gigas*) da Ponta do Sambaqui, Florianópolis, SC. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v. 57, n. supl. 2, p. 194-203, 2005.

SABRY, R. C.; ROSA, R. D.; MAGALHÃES, A. R. M.; BARRACCO, M. A.; GESTEIRA, T. C. V.; DA SILVA, P. M. First report of *Perkinsus* sp. infecting mangrove oysters *Crassostrea rhizophorae* from the Brazilian coast. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 88, p. 13-23, 2009.

SANDE, D.; MELO, T. A.; OLIVEIRA, G. S. A.; BARRETO, L.; TALBOT, T.; BOEH, G.; ANDRIOLI, J. L. Prospecção de moluscos bivalves no estudo da poluição dos rios Cachoeira e Santana em Ilhéus, Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 3, p. 190-196, 2010.

SANDERS, B. Environmental Protection Agency. **Stress proteins: Potential as multitiered biomarkers**. U.S.E.P.A. Washington, D.C. p EPA/600/D-90/222 (NTIS PB91136994). 1990.

SANTOS, C. A. M. L. D. Doenças transmitidas por pescado no Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 32, n. 4, p. 234-241, 2010.

SANTOS, C. S.; RIGOTTO, C.; SIMÕES, C. M. O.; BARARDI, C. R. M. Detection of viable rotaviruses in shellfish by means of cell culture and immunofluorescence assay. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 5, p. 1868-1871, 2002.

SANTOS, L. F. P.; TRIGUEIRO, I. N. S.; LEMOS, V. A.; FURTUNATO, D. M. D. N.; CARDOSO, R. D. C. V. Assessment of cadmium and lead in commercially important seafood from São Francisco do Conde, Bahia, Brazil. **Food Control**, v. 33, p. 193-199, 2013.

SANTOS, S. S. D.; BARRETO, L. M.; SILVEIRA, C. S. D.; REIS, N. A.; LIMA, K. A.; SOUZA, J. D. S. D.; EVANGELISTA-BARRETO, N. S. Condições sanitárias de ostras produzidas e comercializadas em Taperoá, Bahia e o efeito da depuração na redução da carga microbiana. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 3, n. 2, p. 49-60, 2016.

SARONG, M. A.; JIHAN, C.; MUCHLISIN, Z. A.; FADLI, N.; SUGIANTO, S. Cadmium, lead and zinc contamination on the oyster *Crassostrea gigas* muscle harvested from the estuary of Lamnyong River, Banda Aceh City, Indonesia. **International Journal of the Bioflux Society**, v. 8, n. 1, p. 1-6, 2015.

SCHMITT, J. F. **Efeito de diferentes condições ambientais em áreas de cultivo sobre alimentação e biodeposição do mexilhão *Perna perna***. 2002. 89 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SHIEH, Y. C.; BARIC, R. S.; WOODS, J. W.; CALCI, K. R. Molecular surveillance of enterovirus and norwalk-like virus in oysters relocated to a municipal-sewage-impacted Gulf estuary. **Applied and Environmental Microbiology** v. 69, n. 12, p. 7130–7136, 2003.

SHINN, A. P.; PRATOOMYOT, J.; E.BRON, J.; PALADINI, G.; BROOKER, E. E.; BROOKER, A. J. Economic costs of protistan and metazoan parasites to global mariculture. **Parasitology**, v. 142, p. 196–270, 2015.

SILVA, A. I. M.; VIEIRA, R. H. S. F.; MENEZES, F. G. R.; FONTELES-FILHO, A. A.; TORRES, R. C. O.; SANT'ANNA, E. S. Bacteria of fecal origin in mangrove oysters (*Crassostrea rhizophorae*) in the Cocó River Estuary, Ceará State, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology** v. 34, p. 126-130, 2003.

SILVA, C. A. R.; RAINBOW, P. S.; SMITH, B. D.; SANTOS, Z. L. Biomonitoring of trace metal contamination in the Potengi Estuary, Natal (Brazil), using the oyster *Crassostrea rhizophorae*, a local food source. **Water Research**, v. 35, n. 17, p. 4072-4078, 2001.

SILVA, C. C. D.; SILVA, J. C. D. **Dossiê Técnico Cultivo de Ostras**. Serviço Brasileiro de Resposta Técnica 2007.

SILVA, L. B. E. **Avaliação de metais traço e de algumas características geoquímicas em sedimentos superficiais e testemunhos da Baía de Vitória, ES**. 2010. (mestrado). Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.

SILVA NETA, M. T.; REZENDE, R. P.; B. M. M.; BOEHS, A. G. Microbiological quality and bacterial diversity of the tropical oyster *Crassostrea rhizophorae* in a monitored farming system and from natural stocks. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 4, p. 15754-15768, 2015.

SIQUEIRA, K. L. F. **Avaliação do sistema de cultivo de ostra do gênero *Crassostrea* (SACCO, 1897) no Estuário do Rio Vaza-Barris (Sergipe)**. 2008. 77 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente, Universidade Tiradentes Aracajú.

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

SOUDANT, P.; CHU, F.-L. E.; VOLETY, A. Host–parasite interactions: Marine bivalve molluscs and protozoan parasites, Perkinsus species. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 114, n. 2, p. 196-216, 2013.

SOUZA, M. M. D.; WINDMÖLLER, C. C.; HATJE, V. Shellfish from Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil: Treat or threat? **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, p. 2254-2263, 2011.

SOUZA, N. A. D. **Resposta metabólica da ostra *Crassostrea gigas* na presença do parasita *Amyloodinium ocellatum***. 2015. 53 (Mestrado). Instituto Português do Mar e da Atmosfera, Universidade do Algarve, Faro.

SUJA, G.; SANIL, N. K.; CHINNADURAI, S.; VIJAYAN, K. K. Reproductive dysfunction in the edible oyster, *Crassostrea madrasensis* due to larval bucephalid infection – a case study. **J. Mar. Biol. Ass. India**, v. 55, n. 2, p. 5-10, 2014.

SUN, J.; WU, X. Histology, ultrastructure, and morphogenesis of a rickettsia-like organism causing disease in the oyster, *Crassostrea ariakensis* Gould. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 86, p. 77–86, 2004.

TORRES, R. J.; CESAR, A.; PEREIRA, C. D. S.; CHOUERI, R. B.; ABESSA, D. M. S.; NASCIMENTO, M. R. L. D.; FADINI, P. S.; MOZETO, A. A. Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and mercury in oysters (*Crassostrea rhizophorae*) from two brazilian estuarine zones. **International Journal of Oceanography**, v. 2012, p. 6-8, 2012a.

TORRES, R. J.; CESAR, A.; PEREIRA, C. D. S.; CHOUERI, R. B.; ABESSA, D. M. S.; NASCIMENTO, M. R. L. D.; FADINI, P. S.; MOZETO, A. A. Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and mercury in oysters (*Crassostrea rhizophorae*) from two brazilian estuarine zones. **International Journal of Oceanography**, v. 2012, p. 6-8, 2012b.

VALENTI, W. C. **Aqüicultura Sustentável**. 12º Congresso de Zootecnia. Portugal: Associação Portuguesa dos Engenheiros Zootécnicos: 111-118 p. 2002.

VASCO, A. N.; RIBEIRO, D. O.; SANTOS, A. C. A. D. S.; JÚNIOR, A. V. M.; TAVARES, E. D.; NOGUEIRA, L. C. Qualidade da água que entra no estuário do rio Vaza Barris pelo principal fluxo de contribuição de água doce. **Scientia Plena**, v. 6, p. 1-10, 2010.

VIEIRA, R. H. S. D. F.; ATAYDE, M. A.; CARVALHO, E. M. R. D.; CARVALHO, F. C. T. D.; FILHO, A. A. F. Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): Isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 3, p. 180-189, 2008.

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

VIEIRA, R. H. S. D. F.; VASCONCELOS, R. F.; CARVALHO, E. M. R. D. Quantificação de vibrios, de coliformes totais e termotolerantes em ostra nativa *Crassostrea rhizophorae*, e na água do estuário do Rio Jaguaribe, Fortim-CE. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 01, n. 01, p. 01 – 13, 2007.

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática**. São Paulo: Livraria Varela, 2004.

VILLALBA, A.; REECE, K. S.; ORDÁS, M. C.; CASAS, S. M.; FIGUERAS, A. Perkinsosis in molluscs: A review. **Aquat. Living Resour**, v. 17, p. 411-432, 2004.

WANG, C. W. ASEAN marine water quality criteria for bacteria. In: C. C. MCPHEARSON, P.; VIGERS, G., et al (Ed.). **ASEAN marine water quality criteria: contextual framework, principles, methodology and criteria for 18 parameters**: EVS Environment Consultants Ltd / Department of Fisheries Malaysia, 1999.

WANG, W.-X.; PAN, K.; TAN, Q.; GUO, L.; SIMPSON, S. L. Estuarine Pollution of Metals in China: Science and Mitigation. **Environmental Science & Technology**, v. 48, p. 9975–9976, 2014.

WANG, W.-X.; YANG, Y.; GUO, X.; HE, M.; GUO, F.; KE, C. Copper and zinc contamination in oysters: Subcellular distribution and detoxification. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, n. 8, p. 1767-1774, 2011.

WARD, J. E. Biodynamics of suspension-feeding in adult bivalve molluscs: Particle capture, processing, and fate. **Invertebrate Biology**, v. 115, p. 218-231, 1996.

WHEATON, F. Review of the properties of Eastern oysters, *Crassostrea virginica*. Part I. Physical properties. **Aquacultural Engineering**, v. 37, p. 3–13, 2007.

WU, X. Z.; PAN, J. P. An intracellular prokaryotic microorganism associated with lesions in the oyster *Crassostrea ariakensis* Gould. **Journal of Fish Diseases**, v. 23, n. 6, p. 409–414, 2000.

ZAROOGIAN, G. E.; JACKIM, E. In vivo metallothionein and glutathione status in an acute response to cadmium in *Mercenaria mercenaria* brown cells. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 127, n. 3, p. 251-261, 2000.

ZEIDAN, G. C. **Parasitas de moluscos bivalves de manguezais do litoral sul da Bahia**. 2011. 46 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Sistemas Aquáticos Tropicais, Universidade Estadual de Santa Cruz., Ilhéus.

ZEIDAN, G. C.; LUZ, M. D. S. A.; BOEHS, G. Parasites of economically important molluscs from the southern coast of Bahia State, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 21, n. 4, p. 391-398, 2012.