

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**HELENITA CATHARINA DALLA-LANA FORCELINI**

**DEPURAÇÃO DE OSTRAS DE CULTIVO  
DA BAÍA DE GUARATUBA – PARANÁ – BRASIL**

**PONTAL DO PARANÁ  
2009**

HELENITA CATHARINA DALLA-LANA FORCELINI

DEPURAÇÃO DE OSTRAS DE CULTIVO  
DA BAÍA DE GUARATUBA – PARANÁ – BRASIL

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos, Centro de Estudos do Mar, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Sistemas Costeiros e Oceânicos.

Orientadora: Profa. Dra. Hedda  
Elisabeth Kolm

Co-orientadora: Profa. Dra. Therezinha  
Monteiro Absher

PONTAL DO PARANÁ  
2009

## AGRADECIMENTOS

À profa. Dra. Hedda Kolm, pela orientação, por sua paciência, pela confiança e dedicação que depositou em mais esse trabalho. Por toda infra-estrutura oferecida, esforço e apoio para a realização desse projeto. Pela amizade, pelo carinho e também pelas broncas necessárias para cumprir mais essa etapa.

À profa. Dra. Theresinha Absher, pela co-orientação, por toda infra-estrutura cedida, por todas as dicas, pela grande contribuição através do seu vasto conhecimento em moluscos marinhos.

Ao Centro de Produção e Propagação de Organismos Marinhos, através do Dr. Fabiano Bendhack e Dr. Moacyr Serafim, por toda infra-estrutura cedida para o cultivo das microalgas, pelo barco para as saídas de campo e por toda ajuda e conhecimento passados.

Ao professor César Martins, pela infra-estrutura cedida.

Aos colegas do CPPOM, Chuck, Tonho, Lineu, e especialmente ao Cássio e a Katina, por toda ajuda, por todo esforço oferecido e por todo conhecimento repassado. Aprendi muito com vocês!

Ao Laboratório de Biogeoquímica Marinha, através da profa. Dra. Eunice da Costa Machado, em especial à técnica Liciane Siqueira e aos alunos Taiana e Felipe pela grande ajuda nas análises físico-químicas realizadas nesse estudo.

Aos funcionários Ruthinha, Ronei, Abraão, João e Josias por toda ajuda prestada.

A todos os amigos e colegas, Raquel, Manuela, Luana, Elaine, Carolina, Felipe, Augusto, Renato, Diógenes, Marco, que me ajudaram na realização desse projeto, trocando a água dos aquários, lavando as ostras, salgando a água e ajudando nas análises microbiológicas.

Meus sinceros agradecimentos ao meu braço direito Augusto “Tinho”, por toda ajuda, essencial e importantíssima, sem a qual esse projeto jamais teria sido realizado. Muito obrigada por me ajudar a carregar e salgar a água, limpar os aquários, lavar e alimentar as ostras, e por manter o ambiente de trabalho sempre animado e descontraído.

Ao amigo Maikon pela enorme ajuda com as análises estatísticas a serem utilizadas, pelo tempo e paciência quando me ensinou a trabalhar com o software R.

À minha grande amiga Lua, que me incentivou, me ajudou no laboratório inúmeras vezes, me descontraíu nos momentos críticos, pela eterna amizade e imenso carinho.

Às minhas amigas Tai, Vivi e Ju, por fazer da nossa casa um local divertido, alegre, descontraído e feliz! Muito obrigada pela amizade e sinceridade de vocês.

À minha amiga Kalina, por todas as conversas, dicas e pelos momentos descontraídos que passei contigo nos últimos meses.

Ao Fernando, pela amizade, compreensão, companhia, conversas, palhaçadas, papos cabeça, discussões, conselhos e carinho ofertados em nossa convivência.

À minha família, especialmente aos meus pais, Ademar e Carmem, por tudo que me ofereceram e proporcionaram, por todas as ajudas, pelos incentivos, pelo ombro amigo, pelos conselhos, por toda educação me que deram e por acreditarem em mim. Muito obrigada!

À 2ª turma do PGSISCO, pelas amizades, pelas conversas e pelas terças-festa!

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo estudar o grau de depuração de ostras através de experimentos em laboratório, a fim de subsidiar informações e técnicas para a implantação adequada da depuradora no Mercado Municipal de Guaratuba; avaliar a contaminação por *Escherichia coli* da água e das ostras de dois cultivos da Baía de Guaratuba -PR; verificar o tempo necessário para que as ostras sejam depuradas; averiguar variabilidades do tempo de depuração e do peso das ostras através de adição ou não de alimento (*Isochrysis galbana*). Foram realizadas coletas na primavera de 2007 e verão, outono e inverno de 2008 em dois pontos da baía (ponto interno e ponto externo). De cada cultivo foram retiradas, por período de amostragem, 11 dúzias de ostras, perfazendo um total de 264 organismos analisados. Simultaneamente foram coletadas amostras de água superficial para medição de parâmetros físico-químicos (pH, salinidade, temperatura, oxigênio dissolvido, seston, material orgânico particulado) e quantificação de *E. coli*. A contaminação da água onde são feitos os cultivos foi maior no verão, e consistentemente maior no ponto externo. A perda de peso das ostras foi verificada em quase todos os tempos de depuração em todos os períodos estudados. A adição de alimento só foi significativa na variação do peso das ostras no outono e no inverno. A quantidade de *E. coli* nas ostras foi significativa, com valores mais elevados no verão, e no ponto interno. Os maiores valores foram registrados no início do experimento (0h) e os menores depois de 48h. A adição de alimento não influenciou na quantidade de *E. coli* durante todo o tempo de depuração. A quantidade de *E. coli* nas ostras tende a zerar entre 168h e 192h de depuração. Os resultados mostraram que há necessidade de reformulação da legislação brasileira, incluindo análises de *E. coli* em ostras a serem comercializadas. Sugere-se ainda que sejam previstas depurações de ostras de até pelo menos 168 horas nas depuradoras que estão sendo implantadas no litoral do Paraná.

Palavras-chave: Depuração, ostras, *Escherichia coli*

## ABSTRACT

The objective of the present work was to study the degree of purification of oysters through laboratory experiments, in order to supply information and techniques for the appropriate implantation of a depuration system in the Municipal Market of Guaratuba, built by EMATER-PR; to evaluate the contamination by *E. coli* in the water and in oysters of two cultivations of Guaratuba -PR's Bay; to verify the necessary time for the oysters' depuration; to investigate the variability in the purification time and in the weight of the oysters through addition or not of food (*Isochrysis galbana*). Sampling in the spring of 2007 and in the summer, autumn and winter 2008 in two points of the bay (internal point and external point) were accomplished. From each cultivation 11 dozens of oysters were removed, at each sampling period, coming to a total of 264 analyzed organisms. Simultaneously samples of surface water were collected for measurement of physical-chemical parameters (pH, salinity, temperature, dissolved oxygen, seston, particulated organic matter) and quantification of *E. coli*. The contamination of the water at the cultivation site was larger in the summer and consistently larger in the external point. The loss of the oysters' weight was observed in almost all the depuration times in all the studied periods. The food addition was only significant in the variation of the oysters' weight in autumn and winter. The amount of *E. coli* in the oysters was significant, with higher values in summer, and in the internal point. The higher values were registered in the beginning of the experiment (0h) and the lower after 48h. The addition of food did not influence in the amount of *E. coli* during the whole time of depuration. The amount of *E. coli* in the oysters tends to zero between 168h and 192h of depuration. The results showed that a reformulation of the Brazilian legislation is required, including analyses of *E. coli* in oysters to be marketed...We suggest that the depuration systems that are being installed at Paraná littoral should foreseen a depuration time of at least 168h.

Key-words: Depuration, oysters, *Escherichia coli*.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Ilustração das espécies de ostras mundialmente cultivadas.....	9
FIGURA 2 - A) Mapa do Brasil com a localização do litoral do Paraná; B) Mapa do litoral do Paraná com a localização da Baía de Guaratuba; C) Mapa da Baía de Guaratuba com a localização das estações de coleta.....	25
FIGURA 3 - Exemplo de cultivo do tipo “long line”.....	27
FIGURA 4 – Desenho amostral dos aquários e tempos de retiradas das ostras.....	35
FIGURA 5 - Ilustração da preparação das cartelas.....	37
FIGURA 6 - Altura de maré da Baía de Guaratuba nos dias em que foram realizadas as coletas.....	39
FIGURA 7 - Índices pluviométricos, por estação do ano, de seis dias que antecederam a coleta. Setas indicam o dia da coleta.....	40
FIGURA 8 - Média dos valores absolutos da temperatura da água.....	40
FIGURA 9 - Média dos valores absolutos de salinidade na água.....	41
FIGURA 10 - Média dos valores absolutos de pH na água.....	42
FIGURA 11 - Média dos valores absolutos de oxigênio dissolvido na água.....	42
FIGURA 12 - Média dos valores absolutos de seston na água.....	43
FIGURA 13 - Média dos valores absolutos de MOP na água.....	43
FIGURA 14 - Médias dos valores absolutos de <i>E. coli</i> na água.....	44
FIGURA 15 - Análise dos Componentes Principais dos parâmetros físico-químicos e biológicos estudados.....	45
FIGURA 16 - Diferença entre o ganho e perda de peso das ostras na primavera.....	46
FIGURA 17 - Diferença entre o ganho e perda de peso das ostras no verão.....	47
FIGURA 18 - Diferença entre o ganho e perda de peso das ostras no outono.....	48
FIGURA 19 - Diferença entre o ganho e perda de peso das ostras no inverno.....	49
FIGURA 20 - Representação gráfica da Análise de Variância (ANOVA) da relação do peso com o tempo de depuração, adição ou não de alimento e réplicas de aquário, no ponto externo.....	50
FIGURA 21 - Representação gráfica da Análise de Variância (ANOVA) da relação do peso com o tempo de depuração, adição ou não de alimento e réplicas de aquário, no ponto interno.....	51
FIGURA 22 - Valores absolutos de <i>E. coli</i> ao longo do período de depuração das ostras coletadas na primavera.....	52
FIGURA 23 - Equação de regressão logarítmica das ostras depuradas na primavera, no ponto externo. A = sem alimento; B = com alimento.....	53
FIGURA 24 - Equação de regressão logarítmica das ostras depuradas na primavera, no ponto interno. A = sem alimento; B = com alimento.....	54
FIGURA 25 - Valores absolutos de <i>E. coli</i> ao longo do período de depuração das ostras coletadas no verão.....	55
FIGURA 26 - Equação de regressão logarítmica das ostras depuradas no verão, no ponto externo. A = sem alimento; B = com alimento.....	56
FIGURA 27 - Equação de regressão logaritma das ostras depuradas no verão, no ponto interno. A = sem alimento; B = com alimento.....	56
FIGURA 28 - Valores absolutos de <i>E. coli</i> ao longo do período de depuração das ostras coletadas no outono.....	57
FIGURA 29 - Equação de regressão logarítmica das ostras depuradas no outono, no ponto externo. A = sem alimento; B = com alimento.....	58
FIGURA 30 - Equação de regressão logarítmica das ostras depuradas no outono, no ponto interno. A = sem alimento; B = com alimento.....	59
FIGURA 31 - Valores absolutos de <i>E. coli</i> ao longo do período de depuração das ostras coletadas no inverno.....	60
FIGURA 32 - Equação de regressão logarítmica das ostras depuradas no inverno, no ponto externo. A = sem alimento; B = com alimento.....	61
FIGURA 33 - Equação de regressão logarítmica das ostras depuradas no inverno, no ponto interno. A = sem alimento; B = com alimento.....	61

FIGURA 34 - Representação gráfica da Análise de Variância (ANOVA) da relação da quantidade de <i>E. coli</i> com a estação do ano, o ponto, a alimentação e o tempo de depuração, no ponto externo.....	64
FIGURA 35 - Representação gráfica da Análise de Variância (ANOVA) da relação da quantidade de <i>E. coli</i> com a estação do ano, o ponto, a alimentação e o tempo de depuração, no ponto interno.....	65

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) COMPARANDO OS DIFERENTES FATORES QUE INFLUENCIARAM O GANHO OU PERDA DE PESO DAS OSTRAS.....	49
TABELA 2 - RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) COMPARANDO OS DIFERENTES FATORES QUE INFLUENCIARAM NA QUANTIDADE DE <i>E.COLI</i> NAS OSTRAS.....	63

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	8
1.1 ASPECTOS DA AQUICULTURA.....	8
1.2 CONTAMINAÇÃO EM MOLUSCOS BIVALVES.....	11
1.3 BACTÉRIAS ENTÉRICAS.....	13
1.4 ENFERMIDADES ASSOCIADAS AO CONSUMO DE MOLUSCOS.....	14
1.5 DEPURAÇÃO DE MOLUSCOS BIVALVES.....	15
1.6 LEGISLAÇÃO NACIONAL E INTERNACIONAL.....	17
1.7 ESTUDOS DE CONTAMINAÇÃO DE OSTRAS REALIZADOS NO LITORAL PARANAENSE.....	20
1.8 OBJETIVOS.....	21
1.8.1 Objetivo geral.....	21
1.8.2 Objetivos específicos.....	21
<b>2 ÁREA DE ESTUDO</b> .....	23
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
3.1 ATIVIDADES DE CAMPO.....	28
3.2 MARÉ.....	28
3.3 PLUVIOSIDADE.....	29
3.4 AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL.....	29
3.4.1 Temperatura da água.....	29
3.4.2 Salinidade.....	29
3.4.3 Potencial hidrogeniônico.....	30
3.4.4 Oxigênio dissolvido.....	30
3.4.5 Seston e matéria orgânica particulada.....	30
3.4.6 <i>Escherichia coli</i> .....	31
3.5 CULTIVO DE ORGANISMO ALIMENTO.....	32
3.6 DEPURAÇÃO DAS OSTRAS.....	34
3.6.1 Avaliação da perda de peso das ostras durante o processo de depuração.....	35
3.6.2 Análises de <i>Escherichia coli</i> .....	36
3.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	38
<b>4 RESULTADOS</b> .....	39
4.1 MARÉ.....	39
4.2 PLUVIOSIDADE.....	39
4.3 ÁGUA SUPERFICIAL.....	40
4.3.1 Temperatura.....	40
4.3.2 Salinidade.....	41
4.3.3 pH.....	41
4.3.4 Oxigênio dissolvido.....	42
4.3.5 Seston e matéria orgânica particulada.....	43

4.3.6 <i>Escherichia coli</i> .....	44
4.4 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS.....	44
4.5 OSTRAS.....	45
4.5.1 Variação do peso das ostras.....	45
4.5.1.1 Coleta de primavera.....	46
4.5.1.2 Coleta de verão.....	46
4.5.1.3 Coleta de outono.....	47
4.5.1.4 Coleta de inverno.....	48
4.5.1.5 Análises estatísticas da variação do peso das ostras.....	49
4.5.2 Depuração das ostras coletas na primavera.....	52
4.5.3 Depuração das ostras coletas no verão.....	54
4.5.4 Depuração das ostras coletadas no outono.....	57
4.5.5 Depuração das ostras coletadas no inverno.....	59
4.5.6 Análise de Variância por quantidade de <i>Escherichia coli</i> .....	62
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	66
<b>6 CONCLUSÕES E SUGESTÕES</b> .....	73
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	75
<b>ANEXOS</b> .....	83

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 ASPECTOS DA AQUICULTURA

A aquicultura se apresenta como uma alternativa viável para suprir parte da carência de alimentos e seu desenvolvimento tem contribuído para a redução do extrativismo e da pesca predatória repercutindo de forma positiva na preservação dos ecossistemas (ROCZANSKI *et al.* 2000). As atividades aquícolas, dentre elas a maricultura, estão em plena expansão no mundo e também no Brasil, onde estão suprimindo os problemas sociais e econômicos gerados pelo declínio da pesca extrativista (ASSAD; BURSZTYN, 2000).

Nos últimos anos, a aquicultura tem-se desenvolvido simultaneamente através da diversificação e do incremento da produção das principais espécies cultivadas. Um número cada vez maior de países vem dedicando-se ao cultivo de organismos aquáticos de alto valor econômico. Calcula-se que o ritmo atual de crescimento desta atividade já alcança 8% ao ano. Este padrão de crescimento contrasta com aqueles vigentes nos setores de criação de gado e pesca, cujas taxas não ultrapassam, respectivamente, os valores de 3 e 1,5% ao ano (RANA *et al.*, 1996; RANA, 1997).

As espécies de ostras mundialmente cultivadas são: *Ostrea edulis* – ostra plana, européia; *Ostrea lúrida* – ostra limpa; *Crassostrea angulata* – ostra portuguesa; *Crassostrea gigas* - ostra do Pacífico, japonesa; *Crassostrea rhizophorae* – ostra do mangue; *Crassostrea brasiliiana* – ostra da pedra e *Crassostrea virginica* – ostra americana (Figura 1).



A- *Ostrea edulis*; B - *Ostrea lúrida*; C - *Crassostrea angulata*; D - *Crassostrea gigas*; E - *Crassostrea rhizophorae*; F - *Crassostrea virginica*; G – *Crassostrea brasiliana*.

FIGURA 1 – Ilustração das espécies de ostras mundialmente cultivadas.

De acordo com o relatório publicado pela “Food and Agriculture Organization of the United Nations” (FAO, 2004) a comercialização mundial de ostras provenientes de aqüicultura, em 2002, foi de 4.317.380 toneladas. Embora o Brasil não seja um grande consumidor de ostras, elas têm uma boa aceitação no mercado, principalmente em regiões litorâneas, onde são também consumidas pelas populações locais.

No Brasil, as pesquisas sobre cultivos de ostras e mexilhões iniciaram-se na década de 1970 e têm se desenvolvido principalmente com o cultivo da ostra

japonesa (*Crassostrea gigas*), a ostra nativa (*Crassostrea rhizophorae*) e o mexilhão *Perna perna* (POLI, 1999). Entretanto, segundo Absher (*com. pess.*) existe ainda no Brasil a *Crassostrea brasiliiana* facilmente confundida com a *Crassostrea rhizophorae*.

Atualmente a ostreicultura no Brasil, seja ela na fase comercial ou experimental, está presente em vários estados, entre eles: Bahia, Pernambuco, Sergipe, Ceará, Maranhão, São Paulo, Rio de Janeiro e, em especial, Santa Catarina, que é o maior produtor da espécie exótica *Crassostrea gigas* (PANORAMA DA AQUICULTURA, 2001).

As ostras nativas de maior interesse econômico pertencem ao gênero *Crassostrea* (*C. rhizophorae* e *C. brasiliiana*) da família Ostreidae. Elas são eurialinas, adaptadas ao ambiente estuarino. A distribuição geográfica da ostra *C. rhizophorae* abrange a região sul do Caribe, Venezuela, Suriname e Brasil até o Uruguai (RIOS, 1994). Essa espécie ocupa a zona entremarés, prendendo-se às raízes de *Rhizophora mangle* e quando presente em praias fixa-se em rochas.

Nas últimas décadas a *Crassostrea gigas*, originária do Japão, China e Coréia, foi introduzida no Brasil para cultivos controlados. Segundo Polli *et al.* (1988) essa espécie foi trazida para o Brasil em 1974, pelo Instituto de Pesquisas da Marinha em Cabo Frio-RJ. A ostra japonesa desenvolve-se em águas com temperaturas entre 11 e 25°C e salinidades entre 14 e 35‰ (AKABOSHI, 1979).

As conseqüências sócio-econômicas das atividades de cultivo têm sido marcantes, apontando seus efeitos em curtíssimo prazo, já que os resultados aqui no Brasil podem ser vistos em menos de um ano. Na perspectiva social de atendimento a geração de emprego e renda e fornecimento de alimento de alto valor protéico, a implantação dos cultivos representa mais uma opção rentável aos pescadores artesanais e para os que optaram por serem maricultores ou trabalhar com os produtos da maricultura. Os primeiros projetos para cultivos experimentais com objetivo comercial foram os de ostras e mariscos e estes se desenvolveram simultaneamente em diversos pontos do litoral brasileiro. Nesses cultivos, é importante a seleção da área, pois, esta deve oferecer algumas condições básicas a uma exploração eficiente, quais sejam: a) o local deve ser protegido da ação dos ventos, correntes e ondas; b) as correntes e o fluxo das marés devem favorecer a renovação da água; c) a quantidade de nutrientes da água deve ser suficiente para

suprir as necessidades das ostras, moluscos e larvas; d) a salinidade e temperatura da água devem estar de acordo com as exigências das espécies a serem cultivadas; e) a área deve ser livre das “marés vermelhas” e, f) deve ser protegida de detritos industriais e domésticos (MACHADO, 2002).

No cenário paranaense a ostreicultura surge como atividade produtiva que pode contribuir para melhoria das condições de vida das populações tradicionais e para a preservação dos recursos naturais. No Complexo Estuarino de Paranaguá, o cultivo da *Crassostrea rhizophorae* ou ostra do mangue é desenvolvido em pequena escala por comunidades de pescadores artesanais como alternativa de incremento no rendimento econômico familiar fortemente comprometido por períodos de defeso ou de baixa produtividade pesqueira. A atuação de instituições que, através de trabalhos de extensão, buscavam alternativas sustentáveis de geração de renda para as populações tradicionais foi decisiva para o desenvolvimento da ostreicultura em várias comunidades (CALDEIRA, 2004).

Da mesma forma, na Baía de Guaratuba existem cultivos de pequeno porte nas proximidades da cidade homônima, que incrementam o rendimento econômico familiar dos moradores da região.

## 1.2 CONTAMINAÇÃO EM MOLUSCOS BIVALVES

Os bivalves possuem um eficiente mecanismo de filtração que permite acumular, a partir da água em que são cultivados ou extraídos, inúmeros microorganismos, armazenando assim, uma flora bacteriana muito rica (KINNE, 1983). Assim sendo, apesar de não contraírem doenças bacterianas, os moluscos filtradores podem agir como portadores de microorganismos patogênicos humanos (VILLALOBOS; ELQUEZABAL, 2001, SILVA *et al.*, 2003, CLAYTON 2006, PEREIRA *et al.* 2006).

Dessa forma esses organismos podem acumular, quando mantidos em águas poluídas por dejetos de animais homeotérmicos, grandes quantidades de bactérias, como as dos gêneros *Salmonella*, *Escherichia* e *Shigella*, vírus entéricos e

protozoários, entre outros, o que os transforma em problema de Saúde Pública, abalando o prestígio desses alimentos junto à população. O consumo desses moluscos na forma crua ou levemente cozidos agrava o problema.

A maior concentração de microorganismos encontra-se no intestino, brânquias e muco superficial destes organismos. Suas duas valvas são mantidas ligeiramente abertas e o alimento, que provém de um fluxo de água entra, passando através das cavidades do manto, pelas brânquias. Essas funcionam como um filtro e concentram partículas orgânicas, algas microscópicas e organismos planctônicos que lhe servem como alimento (CORRÊA, 2006). A capacidade filtradora de uma ostra pode chegar a 10 L de água por hora e cerca de 200L por dia (WARD, 1996). De acordo com Liang *et al.* (2004) esses moluscos também podem concentrar contaminantes químicos como metais pesados, compostos organoclorados, hidrocarbonetos e elementos radioativos. Devido a essa capacidade de bioacumular, os moluscos bivalves são importantes bioindicadores de alterações ambientais, assim como biomarcadores para o monitoramento de contaminação no ambiente aquático.

O número e tipo de microorganismos encontrados no molusco recém capturado são influenciados por diversos fatores, tais como: localização geográfica da captura (lugares mais populosos geram maior contaminação), estação do ano e método de captura (BEIRÃO *et al.*, 2000).

Os problemas sanitários que afetam os produtos da aquicultura, incluindo aqueles que interessam particularmente aos países em desenvolvimento, foram analisados pela FAO/OMS na Tailândia em julho de 1997, e associados com a contaminação biológica e química que podem ocorrer durante o cultivo destes animais. O grupo identificou e avaliou a quantificação dos perigos potenciais e como controlá-los, na prática, com programas aplicados no âmbito nacional e internacional (LUPIN, 1999 apud Beirão *et al.*, 2000). As toxinfecções alimentares provocadas por parasitas (tremátodos), bactérias patogênicas, resíduos de agrotóxicos, medicamentos veterinários e metais pesados foram os principais perigos identificados. As razões para a preocupação são diversas, incluindo as más práticas de cultivo, a poluição ambiental e os hábitos culturais tradicionais de preparação e consumo destes alimentos. Existem muitos métodos de cultivo utilizados na aquicultura no âmbito mundial, variando desde a produção em pequena escala ou

sistemas de subsistência, até operações comerciais intensivas. As potencialidades dos perigos variam segundo o sistema de cultivo, práticas de manejo e condições do meio ambiente (BEIRÃO *et al.*, 2000).

### 1.3 BACTÉRIAS ENTÉRICAS

As enterobactérias são bacilos Gram-negativos e embora possam ser encontradas amplamente na natureza, a maioria habita os intestinos do homem e dos animais, seja como membro da microbiota normal ou como agentes de infecção (TRABULSI *et al.*, 2002).

Na família *Enterobacteriaceae* são encontradas algumas espécies residentes permanentes, outras apenas em uma parte da população e outras são somente agentes de doenças. Alguns dos gêneros incluídos nesta família são *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Yersinia*, *Erwinia* e *Enterobacter* (TORTORA *et al.*, 2002).

As enterobactérias podem causar infecções intestinais e extra-intestinais. As que causam infecções intestinais são geralmente chamadas enteropatogênicas e incluem várias categorias de *Escherichia coli*, todos os sorotipos de *Shigella*, quase todos os sorotipos de *Salmonellas* e alguns de *Yersinias* enterocolítica. Embora primariamente sejam enteropatogênicas, algumas salmonelas e *Yersinias* costumam atravessar a mucosa intestinal causando bacteremia e infecções em diferentes órgãos. Estudos recentes sugerem que *Providencia*, *Hafnia* e *Citrobacter* podem ser enteropatogênicas. Os demais gêneros de enterobactérias são patogênicas somente para outros órgãos e tecidos que não o aparelho digestivo, ou seja, vivem normalmente nos intestinos, mas são patogênicas para outros órgãos e tecidos. Os fatores que determinam a virulência das enterobactérias, para o intestino humano, incluem adesinas, toxinas e substâncias ainda não identificadas que promovem a invasão do epitélio intestinal (TRABULSI *et al.*, 2002).

A família das enterobactérias é responsável por 50% das infecções nosocomiais, que são frequentemente causadas por *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp. e *Serratia* spp. (HOLT, 1994).

#### 1.4 ENFERMIDADES ASSOCIADAS AO CONSUMO DE MOLUSCOS

O risco de enfermidades oriundas do consumo de moluscos é um problema reconhecido há muitos anos, tanto pela indústria de alimentos quanto pelas agências de saúde.

Nos Estados Unidos, entre todos os casos de doenças alimentares, o consumo de frutos do mar responde por 10-19% dos casos, sendo que 9% vão a óbito. Em quinze anos de estudos sobre essas doenças em Nova Iorque, os frutos do mar foram indicados como veículos de transmissão em 19% dos casos. Destes, moluscos bivalves (ostras e mexilhões) foram responsáveis por 64% das intoxicações. Em países com grande consumo de frutos do mar, ou onde eles são tradicionalmente consumidos crus, uma grande porcentagem dos surtos está relacionada ao consumo dos moluscos. Na Austrália, 20% das intoxicações alimentares são relacionadas a esse consumo; na China, a ingestão de frutos do mar responde por 70% das intoxicações (BUTTI *et al.*, 2004).

Altas concentrações de *Escherichia coli* em bivalves e ingerida através do consumo dos próprios moluscos, além de indicadora de possível contaminação destes organismos com microorganismos patogênicos humanos de veiculação hídrica, segundo Vieira (2004), pode causar pelo menos seis tipos de infecções intestinais.

A *E. coli* enteropatogênica (EPEC) é a principal causa da diarreia infantil, sendo responsável por cerca de 30% dos casos de diarreia aguda em crianças com idade inferior a seis meses. As EPEC são associadas a uma diarreia intensa, geralmente acompanhada de dores abdominais, vômitos e febre. A doença pode ter duração de 6 horas até 3 dias. A infecção por *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) é chamada de diarreia do viajante, ataca adultos de países desenvolvidos, em visitas

a áreas onde a infecção (contraída por alimentos e águas contaminadas) por ETEC é endêmica. Os sintomas provocados por esse tipo de bactéria são diarreia aquosa, febre baixa, dores abdominais e náuseas, e quando intensa, causa diarreia severa semelhante à da cólera, muitas vezes provocando desidratação. A *E. coli* enteroinvasora (EIEC) causa infecções freqüentes em crianças maiores e adultos, onde a transmissão se dá por água e/ou alimentos contaminados, bem como pelo contato interpessoal. Os sintomas são diarreia profusa, cólicas abdominais, febre, dor de cabeça e dores musculares. Já a *E. coli* entero-hemorrágica (EHEC) é uma doença caracterizada por dores abdominal severas, diarreia aguda com grande quantidade de sangue nas fezes e ausência de febre. A *E. coli* enteroagregativa (EAEC) está associada à diarreia infantil persistente, que pode durar mais de 14 dias. Finalmente a *E. coli* difusamente aderente (DAEC) causa diarreia aquosa sem ocorrência de sangue na maioria dos pacientes infectados (VIEIRA, 2004).

Além de doenças relacionadas com a presença de bactérias, vírus e protozoários, ainda há a possibilidade de doenças causadas por ingestão de moluscos bivalves contaminados por biotoxinas produzidas por esses microrganismos e também por microalgas, como dinoflagelados. Essas biotoxinas podem ser causadoras de diarreias e paralisias (YEN *et al.*,2005).

## 1.5 DEPURAÇÃO DE MOLUSCOS BIVALVES

O princípio da depuração é a manutenção dos moluscos, por um determinado tempo, em contato com água limpa sob condições controladas, a fim de que, através do processo de filtração, os organismos patogênicos presentes nos tecidos sejam excretados nas fezes e pseudofezes (RICHARDS, 1988).

A depuração satisfatória depende dos parâmetros ambientais associados à qualidade da água utilizada. Apesar de a depuração ser um processo natural para os moluscos bivalves, pode-se melhorar os resultados se o ambiente ao qual os moluscos são expostos (tanques de depuração) for trabalhado de forma a minimizar as variações ambientais (RICHARDS,1991). A temperatura da água, a salinidade, o teor de oxigênio dissolvido, a turbidez e a concentração de fitoplâncton podem afetar

o processo de depuração. Esses fatores devem ser controlados pois a atividade fisiológica, a taxa de filtração e as respostas comportamentais dos moluscos podem variar em resposta ao ambiente de depuração (RODRICK *et al.*, 2003).

Existem três tipos de sistemas de depuração: (i) os tanques de depuração que funcionam com água do mar limpa e fresca injetada continuamente através de uma bomba (sistema de fluxo contínuo), (ii) os tanques onde a água pode ser substituída em intervalos determinados (*Batch-process*) e (iii) tanques de sistema fechado de circulação (RICHARDS, 2003).

O fluxo contínuo é o mais econômico desde que os sistemas de depuração estejam localizados em locais próximos à fonte de água limpa. O *batch-process*, assim como o fluxo contínuo também apresenta a necessidade de uma fonte adequada de água, mas a substituição da água não pode ocorrer em intervalos grandes demais, pois podem tornar esse processo ineficiente. Os sistemas fechados de circulação de água são os mais utilizados e necessitam igualmente de uma fonte de água limpa, mas essa água, uma vez coletada é recirculada pelo sistema, passando por tratamentos para descontaminação (RODRICK *et al.*, 2003).

Os principais aspectos a serem considerados na escolha do sistema são o custo de implantação, custo operacional, facilidade e custo de manutenção, desempenho (eficiência), efeitos residuais e tempo de contato necessário (SUPLICY, 1998).

Existem vários métodos para desinfecção da água a ser utilizada no processo de depuração. O tratamento químico da água através da cloração é amplamente usado principalmente por sua conhecida capacidade desinfetante e também pela fácil manipulação. Entretanto, as formas livres do cloro interferem na capacidade de filtração dos moluscos. A estratégia para eliminar os efeitos do cloro sobre os moluscos é neutralizá-lo com Tiosulfato de Sódio, que no entanto, também pode provocar inibição de filtração (BOYD, 1996). Além disso, o uso de água clorada pode afetar a qualidade do produto final, modificando a aparência e o gosto dos moluscos.

Outro método utilizado é a ozonização. O gás ozônio inativa os microorganismos podendo também reagir com outros compostos presentes na água do mar aumentando o efeito desinfetante. A vantagem do ozônio em relação ao cloro é a não alteração do gosto e da aparência dos moluscos (CORRÊA, 2006).

O processo de esterilização da água através do tratamento com luz ultravioleta (UV) é um método amplamente utilizado nos Estados Unidos e Reino Unido (RODRICK *et al.*, 2003). Os raios ultravioletas atuam sobre os ácidos nucléicos, causando danos progressivos à célula bacteriana. O principal mecanismo de ação da radiação UV é a quebra da estrutura de dupla-hélice do DNA e a formação de dímeros de timina. Quando a célula absorve uma alta dose de radiação, ocorre a ruptura da membrana celular, causando a morte biológica da mesma (UPADHYAYA *et al.*, 2004).

## 1.6 LEGISLAÇÃO NACIONAL E INTERNACIONAL

No Brasil, o Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), órgão que estabelece padrões e normaliza os parâmetros de qualidade da água, determina, na Resolução nº 357, de 17 de março de 2005 que a água salina ou salobra utilizada para o cultivo de moluscos bivalves destinados à alimentação humana não deverá exceder 43 coliformes termotolerantes por 100 mililitros de água, de uma média geométrica da densidade desses coliformes, e um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local. O percentual 90% não deverá ultrapassar 88 coliformes termolerantes por 100 mililitros. Esses índices deverão ser mantidos em monitoramento anual com um mínimo de cinco amostras. A *E. coli* pode ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo próprio Conselho Nacional do Meio Ambiente. Nessa mesma resolução são dados os parâmetros físico-químicos das águas de cultivo que devem ser monitorados, como carbono orgânico total, pH, oxigênio dissolvido e presença de elementos químicos como os metais pesados chumbo e mercúrio (BRASIL, 2005). A partir de 1995, de acordo com o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente, o controle da qualidade das áreas de cultivo tornou-se responsabilidade dos próprios maricultores (SUPLICY, 1998).

A Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) somente prevê limites para estafilococos coagulase positivos e de *Salmonella* sp. em moluscos bivalves "in natura", resfriados ou

congelados, não consumidos crus (BRASIL, 2001). A portaria nº. 685, de 27 de agosto de 1998 (BRASIL, 1998) estabelece os limites máximos de tolerância de contaminantes químicos para os alimentos. Para peixes e produtos de pesca, os metais pesados avaliados são antimônio, chumbo, arsênio, cobre, cádmio, cromo, mercúrio, níquel e zinco.

O Serviço de Inspeção de Produto Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), através do Serviço de Inspeção Federal (SIF), emite um certificado de inspeção sanitária quando a comercialização de moluscos bivalves for para fora das fronteiras estaduais onde é cultivado. A falta de conhecimento das origens do produto e conseqüentemente dos certificados acaba por limitar o comércio dos moluscos. Essa certificação funciona como uma inspeção de qualidade, que informa a procedência dos produtos vendidos. Para que o produtor venha a conseguir esse registro, precisa seguir uma série de determinações exigidas pelo Ministério da Agricultura, que vão desde medidas para construção das instalações, roupas usadas pelos funcionários e uma certificação de qualidade microbiológica da origem do produto (RIGOTTO, 2003).

Através do decreto nº 5.564, de 19 de outubro de 2005, foi instituído o Comitê Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves - CNCMB, com a finalidade de estabelecer e avaliar os requisitos necessários para a garantia da qualidade higiênico-sanitária dos moluscos bivalves, visando à proteção da saúde da população e a criação de mecanismos seguros para o comércio nacional e internacional. (BRASIL, 2005).

As legislações que vigoram internacionalmente são extremamente rigorosas, levando-se em conta os elevados números de casos de doenças vinculadas ao consumo de alimentos contaminados de origem marinha (YOUNGER *et al.*, 2003). A maioria dos países que produz e comercializa frutos do mar seguem legislações próprias, tomando como base os mercados da União Européia e os Estados Unidos.

A Diretriz Européia 91/492/EEC, de 15 de julho de 1991 (EEC, 1991), estabelece as normas sanitárias para a produção e a colocação de moluscos bivalves vivos no Mercado Comum Europeu. As áreas para o cultivo são classificadas seguindo padrões de qualidade microbiológica da carne dos moluscos cultivados.

As áreas classificadas como classe A, podem apresentar 90% dos moluscos coletados com concentração de coliformes fecais (CF) menor que 300 NMP/100g (Número Mais Provável/ 100 g de carne) e uma concentração de *E. coli* menor que 230 NMP/100g. Nessa classe, os moluscos cultivados nessas áreas podem ser introduzidos no mercado para o consumo humano. A classe B determina que os moluscos cultivados em determinada área não podem exceder 6.000 NMP de CF por 100g e 4.600 NMP de *E. coli* por 100g. As áreas nas quais os moluscos cultivados apresentam um número entre 6.000 NMP e 60.000 NMP de CF por 100g de carne, são classificadas como classe C (EEC, 1991). Depois de determinada a classe a qual a área pertence, é avaliado o tipo de tratamento que deverá ser utilizado para que a produção seja comercializada. Os moluscos provenientes da classe B somente poderão ser colocados à venda após um tratamento em centros de purificação ou após transposição em áreas classificadas como A por determinado tempo descrito pela diretriz. A produção de bivalves em áreas de classe C, obrigatoriamente, deve passar por um período mínimo de dois meses de transposição, juntamente com um tratamento de purificação (EEC, 1991).

Além dos parâmetros citados, a produção não deve apresentar *Salmonella* spp. em 25g de carne e também ser analisada quanto à presença de elementos radioativos e toxinas paralisantes e diarréicas (EEC, 1991).

Nos Estados Unidos o programa de controle sanitário da produção de moluscos bivalves (*National Shellfish Sanitation Program*), que tem por finalidade promover e valorizar a produção de moluscos no país, padronizando a regulamentação entre os Estados americanos. Este programa apresenta medidas regulamentadas a partir de acordos comerciais interestaduais, aceitos pela *Food and Drug Administration* (FDA) (NSSP, 2003).

A legislação americana leva em consideração a qualidade microbiológica das águas de cultivo. As áreas avaliadas como aprovadas devem apresentar uma média geométrica, de, no mínimo, 2 amostras/ano, sem exceder 14 NMP CF/100mL. Nas áreas classificadas como restritas, a média geométrica, de, no mínimo, 5 amostras anuais, não deve exceder 88 NMP/100mL. Se houver presença de fontes pontuais e não pontuais de poluição, as áreas podem ser avaliadas como condicionalmente aprovadas e condicionalmente restritas. Isso significa que elas necessitam se adequar às normas exigidas para a produção de moluscos. As produções em áreas

classificadas como restritas, devem obrigatoriamente, da mesma forma que a legislação da União Européia, passar por um sistema de purificação ou ser transportada para áreas de qualidade microbiológica superior, antes de serem introduzidas no mercado (NSSP, 2003).

## 1.7 ESTUDOS DE CONTAMINAÇÃO DE OSTRAS REALIZADOS NO LITORAL PARANAENSE

Devido ao alto valor comercial, as espécies de ostras têm sido exploradas indiscriminadamente ao longo das últimas décadas no litoral paranaense. Atualmente elas são encontradas, em tamanhos adequados para a comercialização, principalmente na Baía dos Pinheiros e de Guaratuba. Destes locais são transportadas para os mercados de Paranaguá e Guaratuba, onde são comercializadas em quantidades que variam ao longo do ano. Entretanto no verão, época de maior afluência de turistas ao litoral, a venda desses organismos é intensificada. Como sua sobrevivência fora da água é de alguns dias, as ostras são vendidas durante o dia e mantidas, durante a noite, em águas próximas às cidades de Paranaguá, para retornarem aos mercados no dia seguinte (KOLM; ABSHER, 2008).

Estudos efetuados em 1997 e 1998 por Kolm; Absher (2008) mostraram que os valores de coliformes totais e *Escherichia coli* encontrados em ostras comercializadas no mercado de Paranaguá foram muito mais elevados durante o verão.

Kolm *et al.* (2007) encontraram, em um estudo feito em 2002, valores de *E. coli* muito maiores que os permitidos pela legislação para cultivos de organismos a serem consumidos crus, nas águas próximas aos criadouros de ostras da Baía de Guaratuba. Estas alterações da qualidade da água são principalmente causadas pela deficiência de sistemas de coleta, tratamento e disposição final dos esgotos na cidade de Guaratuba e inexistência dos mesmos em Caiobá, balneário pertencente ao município de Matinhos. Além disso, Forcelini (2006) também encontrou valores altos de coliformes totais e *E. coli* nas ostras vendidas no Mercado Municipal de

Guaratuba e salientou a necessidade urgente de depuração destes bivalves. Estes estudos ainda destacaram a falta de legislação nacional vigente levando-se em consideração as quantidades de coliformes termotolerantes e/ou de *E. coli* na carne das ostras, e o hábito das populações em consumi-las cruas.

Christo (2006) analisou, entre março de 2002 e março de 2003, a água superficial de dois pontos da Baía de Guaratuba, um localizado na entrada e outro em um parque de cultivos de ostras, e encontrou consistentemente valores extremamente altos (superiores ou iguais a  $2.419,2 \text{ NMP} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ ) de coliformes totais e *E. coli*. A autora concluiu que as ostras cultivadas na Baía de Guaratuba são impróprias para o consumo cru quando retiradas diretamente dos cultivos, e também sugeriu a necessidade urgente de um sistema de depuração para esses bivalves.

## 1.8 OBJETIVOS

### 1.8.1 Objetivo geral

O presente trabalho teve como objetivo estudar o grau de depuração de ostras em relação à contaminação por *Escherichia coli*, através de experimentos em laboratório para subsidiar a implantação adequada da depuradora no Mercado Municipal de Guaratuba, construída pela Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER-PR) e que ainda não está em funcionamento.

### 1.8.2 Objetivos específicos

- Avaliar a contaminação por *E. coli* da água e das ostras de dois cultivos da Baía de Guaratuba ao longo de quatro coletas;
- Verificar o tempo necessário para que as ostras desses cultivos sejam depuradas;

- Averiguar diferenças de tempo de depuração e peso das ostras com e sem adição de alimento;
- Analisar os padrões de correlação entre as concentrações de *E. coli* na água de superfície e nas ostras no início do experimento com os parâmetros físico-químicos do local.

## 2 ÁREA DE ESTUDO

O litoral brasileiro compreende mais de 8000 km de extensão, abrangendo os mais variados tipos de sistemas costeiros como praias arenosas, falésias ígneas e sedimentares, estuários, dunas e manguezais (TESSLER; GOYA, 2005). Tradicionalmente, o litoral do Brasil é dividido em cinco grandes compartimentos: Norte, Nordeste, Leste ou Oriental, Sudeste ou das Escarpas Cristalinas e Sul. O compartimento Norte vai do extremo norte do Amapá até o Golfão Maranhense. Nesse trecho da costa a amplitude da maré pode variar até 12 metros, favorecendo o desenvolvimento de grandes manguezais. O litoral Nordeste caracteriza-se pela presença de tabuleiros terciários da Formação Barreiras estendendo-se até a Baía de Todos os Santos, Bahia. O compartimento Leste ou Oriental estende-se até Cabo Frio – RJ, sendo um trecho marcado pela desembocadura de alguns grandes rios e pela formação de extensas planícies de idade quaternária. Do Cabo Frio até o Cabo de Santa Marta (SC), desenvolve-se o litoral Sudeste ou Litoral das Escarpas Cristalinas. Este é marcado pelas encostas da Serra do Mar próximas à costa, favorecendo o desenvolvimento de pequenas planícies costeiras ou de praias de bolso entre costões rochosos. O litoral Sul estende-se até o limite meridional brasileiro (Chuí – RS), apresentando uma costa retilínea, desenvolvida a partir de uma sucessão de cordões arenosos, que levaram ao desenvolvimento de vários ambientes lagunares, destacando-se as lagunas dos Patos e Mangueira (TEIXEIRA *et al.*,2003).

O litoral paranaense está situado entre as coordenadas geográficas gerais de 25°12'44"S – 48°01'15"W e 25°58'38" S – 48°35'26" W. Possui características que o diferem dos demais Estados da costa sul e sudeste brasileiro. A Serra do Mar, que se estende do Espírito Santo ao Cabo de Santa Marta em Santa Catarina, encontra-se bem interiorizada no Estado do Paraná, possibilitando a formação de extensas planícies costeiras e duas grandes baías, Paranaguá e Guaratuba. Nos 105 Km de linha da costa oceânica, observa-se um grande contraste entre as áreas rapidamente urbanizadas nas últimas décadas, em função do fluxo turístico de veraneio ao sul e as áreas de preservação situadas mais ao norte, onde se localiza uma das áreas mais intactas de Mata Atlântica do Brasil, a Área de Proteção

Ambiental de Guaraqueçaba e o Parque Nacional do Superagüi (SOARES *et al.*, 1997).

O município de Guaratuba possui uma população aproximada de 31.000 habitantes (IBGE, 2007), porém nos meses de verão recebe um importante incremento populacional.

A Baía de Guaratuba (Figura 2) que pertence ao município homônimo, possui uma área de 50,19 Km<sup>2</sup>, sendo que seu eixo principal é orientado no sentido leste-oeste. Seu comprimento é de aproximadamente 16 Km, e sua largura máxima de 3 Km, quando considerada a linha da baixa-mar, e 10 Km, quando se inclui a planície de maré. A profundidade máxima da área mais interna é de 5 m e sua comunicação com o Oceano Atlântico é feita por uma desembocadura estreita de aproximadamente 500m de largura, sendo limitada por pontais rochosos do extremo meridional da Serra da Prata ao norte, e do Morro de Guaratuba ao sul. Nessa região da desembocadura a sua profundidade atinge 27 m (SOARES *et al.*, 1997).

Nela encontram-se vários baixios e ilhas de pequeno e médio porte. Entre elas podemos destacar a Ilha do Rato na Travessia do “Ferry boat”, a Ilha da Sepultura, a Ilha do Araçá e a Ilha das Garças (SANTOS, 2003).

Dois terços dos rios que deságuam no sistema localizam-se na margem norte da baía. Nessa região ainda são encontrados bancos de gramíneas (*Spartina alterniflora*) e bosques de manguezais constituídos de *Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa* e *Avicennia schaueriana*. A cidade de Guaratuba está localizada na margem sul da baía.

Este estuário recebe as águas da bacia hidrográfica de Guaratuba. A bacia possui uma densidade de drenagem de 1,87 rios por Km<sup>2</sup> e cerca de 1.724 Km<sup>2</sup> de área. Os dois principais rios são: rio São João e o rio Cubatão. Juntos eles contribuem com aproximadamente 80 m<sup>3</sup>/s de água doce para a baía (NOERNBERG, *et al.*, 2004). Estes rios possuem curso superior, localizado na região serrana, com grandes declividades, vales densamente encaixados e um padrão de canal retilíneo. O curso inferior, localizado nas planícies, possui um vasto vale de fundo plano e um padrão de curso meandrante (ANGULO, 1992).

O fluxo de água da Baía de Guaratuba é principalmente dominado pelo regime das marés na área, apresentando fluxo em ambas as direções, na enchente e na vazante (SANTOS, 2003).

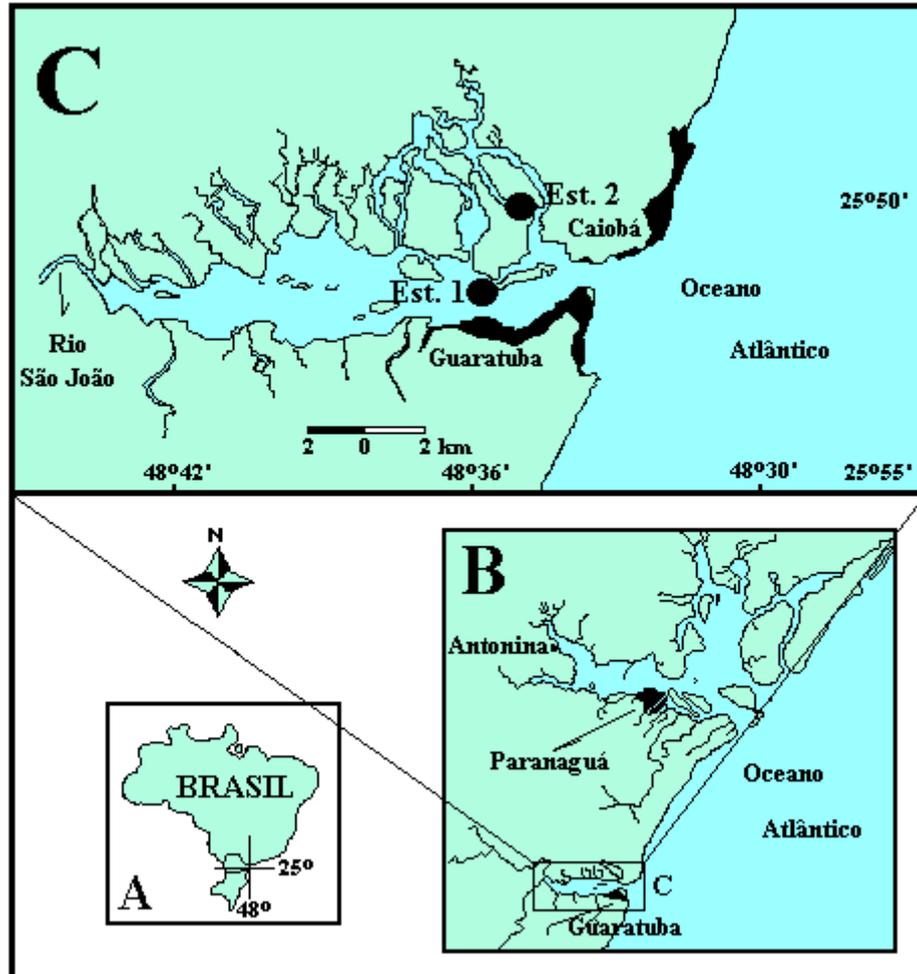


FIGURA 2 - A) Mapa do Brasil com a localização do litoral do Paraná; B) Mapa do litoral do Paraná com a localização da Baía de Guaratuba; C) Mapa da Baía de Guaratuba com a localização das estações de coleta.

Assim como a Baía de Paranaguá, a maré da Baía de Guaratuba é semi-diurna com desigualdades diurnas (SOARES *et al.*, 1995). O registro de maré, efetuado por Soares *et al.* (1997) durante dois meses, no corpo central da baía, indicou alturas médias de sizígia e quadratura de 1,5 e 0,7 m respectivamente.

Segundo classificação de Köppen, o clima da região, é definido como subtropical úmido mesotérmico com verão quente (Cfa). As influências do Anticiclone do Atlântico Sul e as passagens de sistemas frontais controlam o regime de ventos na região (MONTEIRO, 1963), sendo predominantes de ENE, E, ESSE, e SE, com intensidade média de 4m/s. O sistema de brisa, cujos valores observados

são de até 2m/s nos meses de novembro a março é bastante relevante (CAMARGO *et al.*, 1996). A pluviosidade anual média é de 1988 mm ao nível do mar, variando entre 2.248 mm e 3.530 mm na região da serra (TODESCHINI, 2004).

Segundo Zem (2005), os sedimentos da Baía de Guaratuba são compostos principalmente por areia fina, areia muito fina e silte grosso. As areias grossas e médias ocorrem somente na desembocadura dos rios Cubatão e São João e na boca do estuário, sendo, portanto, regiões de alta energia hidrodinâmica. De uma maneira geral os depósitos de sedimentos dessa baía são pobremente selecionados. Os teores de carbonato de cálcio e matéria orgânica predominantes são menores que 5%.

Na região da bacia hidrográfica de Guaratuba as principais atividades são o cultivo de banana no sopé da Serra do Mar, iniciado na década de 1980, sendo atualmente a região de maior produção no Estado com uma área de 3.000 hectares, e o cultivo de arroz nas planícies alagadiças, iniciado em 1965, ocupando atualmente uma área de 420 hectares, além da criação de gado bovino e bubalino, com cerca de 1.420 e 780 cabeças, respectivamente (TODESCHINI, 2004)

Já as principais atividades realizadas na região litorânea de Guaratuba são o turismo, principalmente a partir da década de 1950, a pesca e mais recentemente a maricultura. A pesca na região, assim como a dos demais lugares do litoral do Paraná é meramente artesanal. Entretanto, em decorrência das várias épocas de proibição da pesca predatória, os pescadores estão sendo incentivados a implantar criações de ostras na região. Assim, já existem vários criadouros de pequeno porte espalhados pela baía (SANTOS, 2003) que comercializam suas ostras principalmente no Mercado Municipal de Guaratuba.

Dentre os diferentes métodos de cultivo de moluscos empregados no litoral do Paraná, na Baía de Guaratuba, devido às suas características, à espécie cultivada e ao padrão artesanal dos produtores, é utilizado o sistema de cultivo do tipo espinhel ou “long-line”. Esse sistema é confeccionado com flutuadores (de plástico ou fibra), amarrados em linha com um cabo mestre, na superfície da água do mar, ao qual são penduradas as lanternas (Figura 3).



FIGURA 3 - Exemplo de cultivo do tipo “long line”

FONTE: Caldeira, 2004

Segundo o engenheiro Wilson Barion (*com. pess.*) da Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR), a Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) de Guaratuba possui uma vazão de 98 L/s fora de temporada e de até 210 L/s no ano-novo e carnaval. As obras de manilhamento de esgoto contemplam 45% da cidade, atuando principalmente nas regiões centrais e bairros de veraneio. Durante a temporada 2007/2008 uma forte operação incentivou moradores e veranistas a fazerem a correta ligação dos esgotos na rede da SANEPAR. Foram 7.537 imóveis beneficiados, perfazendo pouco mais de 76% do total manilhado.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. ATIVIDADES DE CAMPO

Foram feitas coletas em determinados dias representativos das condições de primavera (08/11/2007), verão (16/01/2008), outono (23/04/2008) e inverno (30/06/2008) e adquiridas ostras de dois cultivos (um no setor interno, dorvante denominado de “interno” e outro no setor externo, doravante denominado de “externo”) da Baía de Guaratuba. O ponto interno está localizado em um canal de maré, onde a hidrodinâmica é mais baixa quando comparado ao ponto externo, que está localizado na desembocadura da baía.

De cada cultivo foram retiradas, por período de amostragem, 11 dúzias de ostras, perfazendo um total de 264 organismos, acondicionadas em caixas isotérmicas até a chegada no Laboratório de Microbiologia Marinha, no Centro de Estudos do Mar/UFPR.

Em cada período e em cada cultivo, ainda foram coletadas amostras de água superficial para medição de parâmetros físico-químicos (pH, salinidade, temperatura, oxigênio dissolvido, seston, material orgânico particulado) e quantificação de *Escherichia coli*.

#### 3.2 MARÉ

Os dados de maré na Baía de Guaratuba foram gentilmente cedidos pelo Laboratório de Física Marinha do Centro de Estudos do Mar/UFPR.

### 3.3 PLUVIOSIDADE

Os valores de pluviosidade diária dos seis dias que antecederam o dia da coleta, incluindo o dia da coleta, foram obtidos através da estação meteorológica “Guaratuba”, gentilmente cedidos pela Superintendência de Desenvolvimento de Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental (SUDERHSA).

### 3.4 AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL

#### 3.4.1 Temperatura da água

A temperatura da água foi medida no campo, utilizando um termômetro de mercúrio, escala 1/100°C.

#### 3.4.2 Salinidade

As amostras de água foram acondicionadas em frascos de polietileno fechados, transportadas em isopor com gelo para o Laboratório de Microbiologia Marinha – CEM/UFPR e a salinidade foi medida com refratômetro QA Supplies, LLC, modelo MT-100 ATC.

### 3.4.3 Potencial hidrogeniônico

As amostras para pH foram acondicionadas em frascos plásticos e levadas no gelo até o Laboratório de Microbiologia Marinha – CEM/UFPR, onde foi medido o pH utilizando pHmetro portátil Analion.

### 3.4.4 Oxigênio dissolvido

As amostras de água para a análise de oxigênio dissolvido (OD) foram acondicionadas com muito cuidado para evitar a formação de bolhas em frascos com volume conhecido. Para que fosse possível a determinação por titulação através da oxido-redução, adicionou-se, ainda no campo, a cada amostra 1,0 mL de cloreto de manganês II e 1,0 mL de iodeto de potássio. Os frascos foram homogeneizados e acondicionados em caixa térmica com água do local e trazidos ao Laboratório de Biogeoquímica Marinha – CEM/UFPR, onde foi feita a análise por titulação segundo a técnica descrita Strickland & Parsons (1968). A porcentagem de saturação foi calculada segundo as tabelas de solubilidade de oxigênio na água marinha ( $\text{cm}^3/\text{dm}^3$ ) da Organização das Nações Unidas (UNESCO).

### 3.4.5 Seston e matéria orgânica particulada

As amostras de água foram acondicionadas em frascos plásticos de 2 litros e trazidas para o Laboratório de Microbiologia Marinha – CEM/UFPR em isopor com gelo. Alíquotas de cada amostra foram filtradas com microfiltros de fibra de vidro GF 52-C da empresa Schleicher & Schuell de 47 mm de diâmetro, previamente lavados três vezes e secos a 60°C por 24 horas (peso constante). Foram filtradas quantidades variáveis de água até a saturação do filtro. Após a filtração estes foram

congelados em envelopes de papel alumínio e posteriormente secos e pesados novamente. O seston foi calculado através da diferença de peso entre o filtro vazio e o cheio. Todos os valores foram padronizados para 1000 mL.

A concentração da MOP foi determinada através da técnica de ignição. Os mesmos filtros usados para a análise do seston foram incinerados a 450°C por 1 hora em mufla QUIMIS e em seguida pesados em uma balança Shimadzu modelo AY 220. A subtração do peso do filtro após a incineração pelo peso do filtro vazio gerou a matéria inorgânica particulada (MIP). O seston subtraído da MIP gerou a MOP. Todos os valores foram padronizados para 100mL.

#### 3.4.6 *Escherichia coli*

As amostras de água para análise de *E. coli* foram mantidas em isopor com gelo até a chegada no Laboratório de Microbiologia – CEM/UFPR. Em seguida foram preparadas diluições de 30 mL da água de campo e 70 mL de água destilada autoclavada. Para a análise utilizou-se um substrato cromogênico (IDEXX-WP020-18 da empresa IDEXX Laboratories, Inc), composto, entre outros, pelos sais ortho-nitrofenil-β-D-galactopiranosídeo (ONPG) específico para o grupo de coliformes totais e 4-metil-umberifenil-β-D-glucoronídeo (MUG) específico para *Escherichia coli*, conforme descritos no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (1995). O material foi incubado em cartelas por 18 horas a 36°C. A contagem de *E. coli* foi realizada sob luz ultravioleta (365nm). Para obtenção do número mais provável (NMP) de *E. coli* em 100 mL de água, isto é, a estimativa de densidade celular bacteriana em uma amostra de água calculada a partir da combinação de resultados positivos e negativos, utilizou-se uma tabela fornecida pela empresa Idexx Laboratories, Inc.

### 3.5 CULTIVO DE ORGANISMO ALIMENTO

Dez dias antes do início dos experimentos e das saídas de campo, foi realizado, no Centro de Produção e Propagação de Organismos Marinhos (CPPOM), da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) , o cultivo da microalga *Isochrysis galbana*, utilizando a metodologia e infra-estrutura disponível no local.

A captação de água foi feita em frente ao CPPOM, sendo que a ponteira dista aproximadamente 120 m da praia das Caieiras (Guaratuba). Com o auxílio de duas bombas a água foi filtrada em dois filtros que retém partículas acima de 70 $\mu$ m e armazenada em duas cisternas de 15.000 litros cada. A água utilizada para as microalgas passou por um sistema chamado “elemento filtrante” que é constituído por três filtros: 75 $\mu$ , 50 $\mu$  - 25 $\mu$  e 25 $\mu$  - 1 $\mu$ . Após essa etapa, a água foi mantida em duas caixas de 3.000 litros cada e foi feita a distribuição pelo setor de cultivo de microalgas no CPPOM. A água usada para os meios de cultura passou ainda por um filtro cuno de 5 $\mu$  e um filtro “bag” de 0,5 $\mu$ .

Tanto a composição das soluções estoques de nutrientes do meio de cultura utilizado, quanto os componentes para preparação do mesmo seguiram a metodologia de Guillard f/2 modificada, utilizando-se Citoneurin como complexo de vitamina B.

Para o preparo dos meios de cultura foram utilizados baldes de 20 litros previamente lavados com água doce e água salgada. Em seguida os volumes totais dos meios de cultura foram divididos em Erlenmeyers de 125 mL, 500 mL e 1000 mL. Os frascos foram tampados com papel alumínio e levados à autoclave por 30 minutos a 121°C. Depois de esfriarem, os Erlenmeyers prontos para receber os inóculos foram para o setor primário de produção.

A inoculação da microalga foi feita no setor primário de produção a partir dos Erlenmeyers de 125 mL, seguindo para um de 500 mL e depois para os de 1000 mL. Esse procedimento foi realizado na câmara de fluxo laminar, com bico de Bunsen, utilizando máscara e luvas.

Os Erlenmeyers de 1000 mL com inóculo foram mantidos com aeração e luz constantes, temperatura entre 18°C e 22°C durante 3 dias, e depois serviram de inóculo para garrações de 20 litros, no setor intermediário de produção.

Antes de realizar a repicagem, os garrações foram submersos durante 24h em uma solução de cloro e após esvaziados foram esterilizados quimicamente com solução 20% de HCl e muito bem enxaguados com água doce por cerca de 2 minutos. Depois de bem limpos, a solução de cloro ficou agindo por uma hora e em seguida foi neutralizada. Os garrações foram completados com água do mar filtrada e adicionado 5 mL de Cloro 12%, agindo por 1 hora. Em seguida foi neutralizado com 5 g de Tiosulfato de Sódio diluído em 50 ml de água destilada por 30 minutos e posteriormente a água do mar foi enriquecida com 10 mL de solução nitrato, 10 mL de solução fosfato e 10 mL de solução TRIS.

Depois da adição dos nutrientes, o meio de cultura foi inoculado com 3 litros da cultura de microalga vinda do setor primário de produção. Após de 3 dias, o garração inóculo estava pronto para a preparação dos cultivos nos demais garrações. Todo procedimento de lavagem, esterilização, cloragem e neutralização foi feito em 10 garrações. Para evitar o aumento excessivo das microalgas ao longo do período de depuração das ostras, cada garração recebeu microalgas do garração inóculo nas seguintes proporções: garrações 1, 2 e 3 receberam 2 litros do inóculo; garrações 4, 5, 6 e 7 receberam 1,5 litro do inóculo e garrações 8, 9 e 10 receberam 1 litro do inóculo. Depois de 3 dias as culturas de algas estavam prontas para servirem de alimento para as ostras e foram transportadas para o Centro de Estudos do Mar, onde foram mantidas em uma câmara com temperatura de 20°C, aeração e luz constantes.

Os aquários das ostras com alimento receberam *Isochrysis galbana* duas vezes ao dia (manhã e tarde), logo após a troca de água. A quantidade de microalgas/litro que cada aquário recebeu foi variável, levando-se em consideração a abundância de ostras, como segue:

- a) Dia da coleta: Chegada no CEM no período da tarde, os aquários receberam 2 litros da cultura de algas.
- b) Primeiro dia de depuração – 24h: 1,5 litro de manhã e 1,5 litro à tarde.
- c) Segundo dia de depuração – 48h: 1,5 litro de manhã e 1,5 litro à tarde.
- d) Terceiro dia de depuração – 72h: 1,5 litro de manhã e 1,2 litro à tarde.
- e) Quarto dia de depuração – 96h: 1,2 litro de manhã e 1,2 litro à tarde.
- f) Quinto dia de depuração – 120h: 1,2 litro de manhã e 1 litro à tarde.
- g) Sexto dia de depuração – 144h: 1 litro de manhã e 1 litro à tarde.
- h) Sétimo dia de depuração – 168h: 1 litro de manhã e 1 litro à tarde.
- i) Oitavo dia de depuração – 192h: 1 litro de manhã.

### 3.6 DEPURAÇÃO DAS OSTRAS

No Centro de Estudos do Mar –UFPR, todas as ostras foram muito bem lavadas, escovadas e retirados todos os organismos incrustantes nas valvas.

Das 132 ostras adquiridas por cultivo em cada período de amostragem, 66 foram separadas em 3 aquários (22 ostras em cada aquário) aos quais foram adicionadas microalgas (*Isochrysis galbana*) como alimento. As outras 66 ostras também foram separadas em 3 aquários (22 ostras em cada aquário) e não receberam alimento. Os experimentos foram conduzidos em aquários constantemente aerados e com renovação diária de água a cada 12 horas. Para tal foi utilizada água de poço, previamente analisada e garantida a ausência de *E. coli*. A salinidade da água foi ajustada em 28‰, utilizando-se sal sintético da marca *Coral Life*.

Lotes de 3 ostras de cada aquário foram retirados e analisados microbiologicamente através da quantificação de *E.coli* durante os seguintes períodos de depuração: 0 hora, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 120 horas, 168 horas, 192 horas (Figura 4).

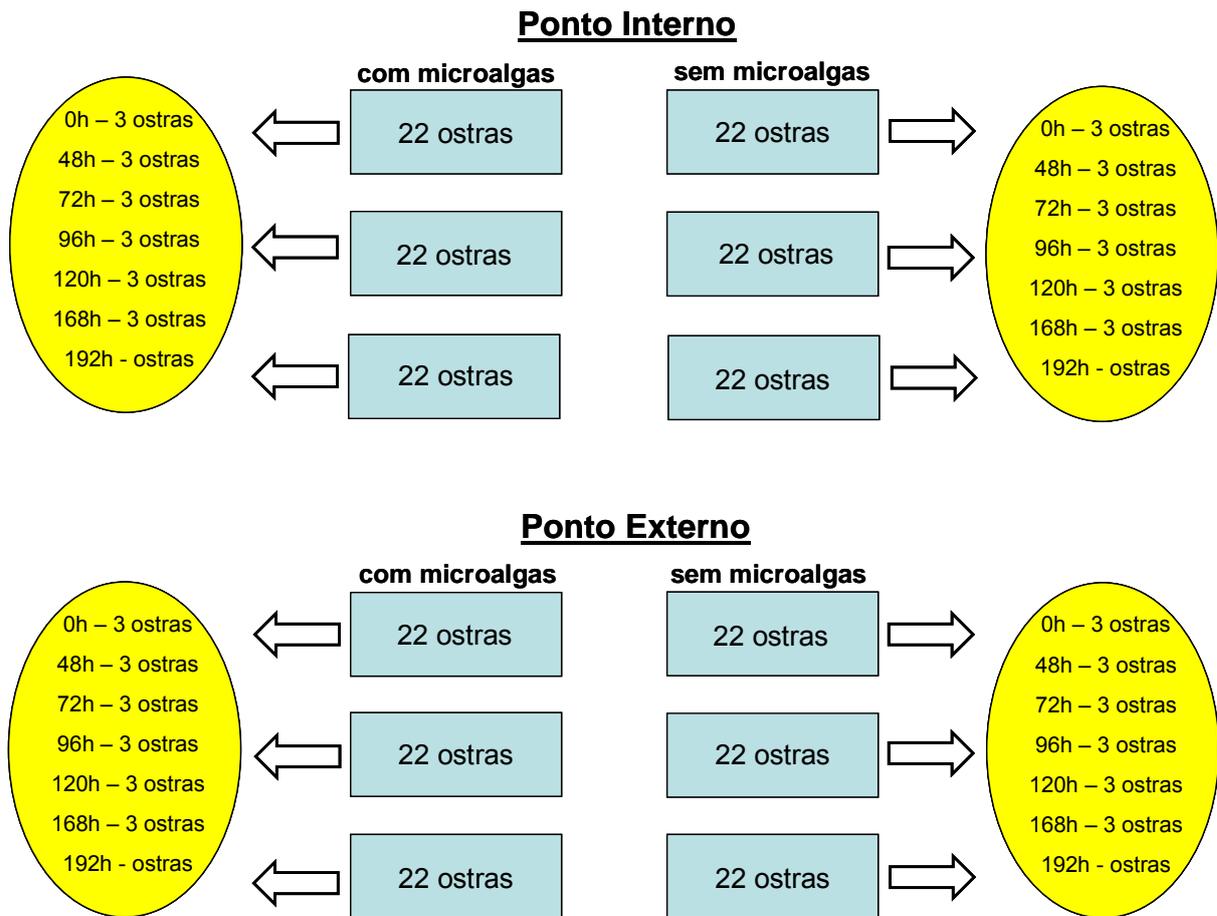


FIGURA 4 - Desenho amostral dos aquários e tempos de retirada das ostras

### 3.6.1 Avaliação da perda de peso das ostras durante o processo de depuração

Com o intuito de comparar o ganho ou perda de peso das ostras durante os oito dias em que foram submetidas ao experimento, as ostras foram pesadas, depois de retirados os organismos incrustantes das valvas, logo após a chegada ao Laboratório de Microbiologia e, antes das análises microbiológicas do primeiro lote de ostras (0h). As ostras retiradas dos aquários em cada unidade de tempo, foram pesadas novamente, para posterior comparação daquelas que foram alimentadas, com as que não receberam as microalgas.

### 3.6.2 Análises de *Escherichia coli*

Para as análises microbiológicas as ostras foram abertas axenicamente com faquinhas e as partes moles (com os líquidos intervalvares) foram colocadas em placas de Petri com pesos já conhecidos e pesadas em uma balança de precisão de 0,01g marca Helmac HM 1000. Em seguida foram maceradas em liquidificadores (cuidadosamente lavados com álcool 70% e enxaguados com água destilada esterilizada entre uma amostra e outra) adicionando-se água destilada, até completar 200 mL (peso/volume). Por exemplo: 50 g de carne de ostra menos 200 mL de água destilada esterilizada foi igual a 150 mL de água esterilizada que foi adicionada no liquidificador e batidas por cerca de 1 minuto. Com o intuito de reter parte da carne da ostra e evitar problemas no momento do fechamento das cartelas o composto de ostra e água foi coado em peneiras com uma trama de aproximadamente 0,5 mm e, quando necessário, em rede de nylon com trama de 200 µm. Do composto peneirado foram retiradas alíquotas variáveis para diferentes diluições conforme o tempo de depuração das ostras, como segue:

A) Para os três primeiros experimentos (primavera, verão e outono) das ostras retiradas do cultivo externo da Baía de Guaratuba: 0h – 10:90 (10 mL da solução do liquidificador/ 90 mL de água destilada autoclavada); 48h – 10:90; 72h – 20:80; 96h – 20:80; 120h – 40:60; 168h – 70:30; 192h – 100:0.

B) Para os três primeiros experimentos (primavera, verão e outono) das ostras retiradas do cultivo interno da Baía de Guaratuba: 0h – 10:90 (10 mL da solução do liquidificador/ 90 mL de água destilada autoclavada); 48h – 10:90; 72h – 20:80; 96h – 20:80; 120h – 20:80; 168h – 20:80; 192h – 20:80.

C) Para o experimento realizado no inverno das ostras retiradas dos dois cultivos (externo e interno) da Baía de Guaratuba: 0h – 10:90 (10 mL da solução do liquidificador/ 90 mL de água destilada autoclavada); 48h – 10:90; 72h – 50:50; 96h – 50:50; 120h – 50:50; 168h – 50:50; 192h – 50:50.



FIGURA 5 – Ilustração da preparação das cartelas  
FONTE: o autor, 2008

Às diluições foi adicionado o meio de cultura da marca Colilert 18 horas da Firma IDEXX Laboratories, Inc. Esse meio de cultura é um substrato cromogênico composto por sais ortho-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopyranosideo (ONPG) usado para detectar a enzima  $\beta$ -D-galactosidase, produzida pelo grupo de coliformes totais. Essa enzima hidrolisa o substrato e produz uma mudança na cor do meio, tornando-o amarelo e o 4-metil-umberifenil- $\beta$ -D-glucoronídeo (MUG) usado para detectar a enzima  $\beta$ -glicuronidase, produzida pela *E. coli*. Esta enzima hidrolisa o substrato e libera um produto fluorogênico quando observado sob luz ultra-violeta (UV) de 365 nm.

As misturas (líquido dos liquidificadores + água destilada + meio de cultura) foram homogeneizadas e vertidas em cartelas que contém 48 cavidades pequenas e 49 cavidades grandes (Figura 5). Estas foram seladas e levadas à estufa por 22h a 36°C para avaliação do Número Mais Provável (NMP) seguindo metodologia descrita pela própria empresa. Finalmente foram feitos os cálculos para determinar o NMP de coliformes totais e *E. coli* em cada grama de carne de ostra.

### 3.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados dos parâmetros físico-químicos, a quantidade de *E. coli* na água de superfície e nas ostras no tempo 0h de depuração foram submetidos a uma Análise de Componentes Principais para verificar quais fatores influenciaram na quantidade de *E.coli* na água e nas ostras.

Foi realizada uma Análise de Variância para comparar quais fatores (ponto, alimentação, tempo de depuração e réplica de aquário) influenciaram o ganho ou perda de peso das ostras durante os experimentos de depuração.

Para verificar qual o melhor tempo de depuração, levando-se em consideração as coletas, o ponto interno ou externo e a adição ou não de microalgas foram realizadas Equações de Regressão Logarítmica e uma Análise de Variância por tempo de depuração.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 MARÉ

Como pode ser observado na Figura 6, somente no verão a coleta foi realizada em maré vazante de quadratura. Nos demais períodos (primavera, outono e inverno) a maré foi de enchente de sizígia. Também é interessante observar que a maior maré no horário da coleta foi no inverno e a menor no outono.

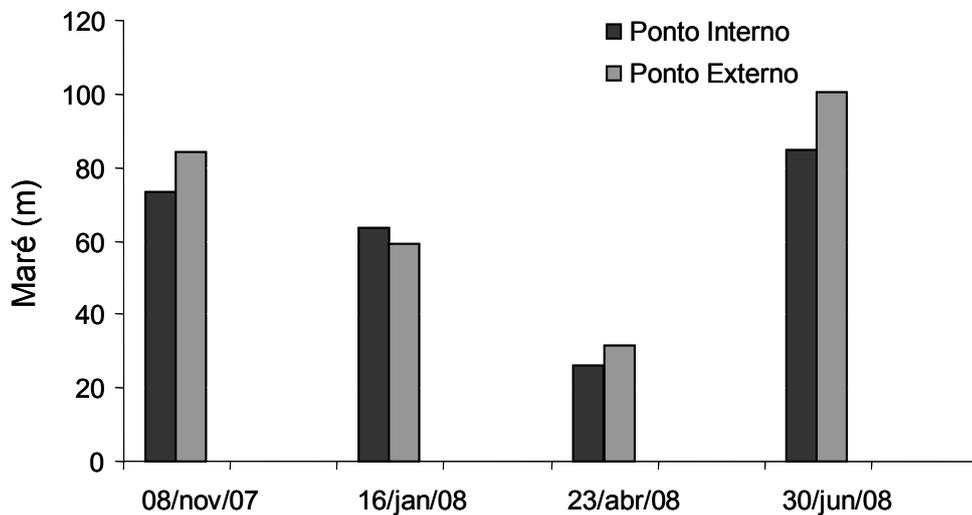


FIGURA 6 - Altura de maré da Baía de Guaratuba nos dias em que foram realizadas as coletas.

### 4.2 Pluviosidade

O maior valor de pluviosidade (129,5mm), acumulada durante sete dias, foi observado no outono seguido do verão (109,4mm) e a menor no inverno (4,6mm).

Já o maior índice pluviométrico no dia da coleta foi de 7,8 mm no verão, seguido de 0,2 mm na primavera e no outono, e o menor foi 0 mm no inverno (Figura 7).

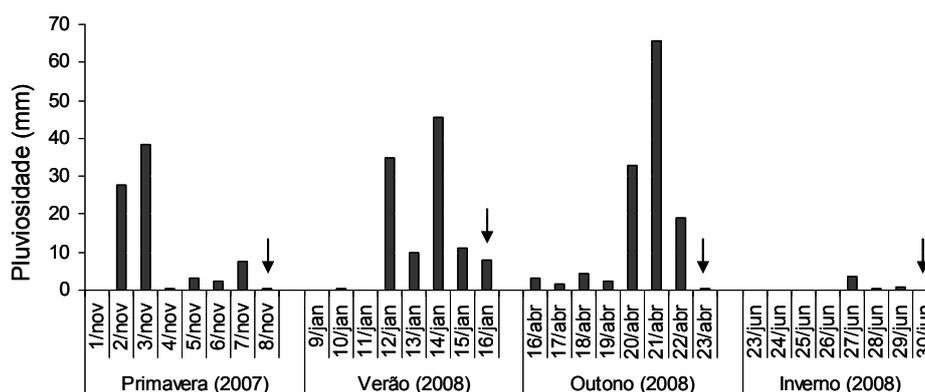


FIGURA 7 – Índices pluviométricos, por estação do ano, de seis dias que antecederam a coleta. Setas indicam o dia da coleta.

### 4.3 ÁGUA SUPERCIFICAL

Nos gráficos de temperatura, salinidade, pH, oxigênio dissolvido e seston encontram-se representadas, por estação do ano e local de coleta, as médias dos valores de tréplicas.

#### 4.3.1 Temperatura

Ao longo das quatro coletas houve pouca diferença de temperatura entre os dois pontos, com mínima de 18,8°C na terceira coleta (inverno) no ponto interno e máxima de 27°C na segunda coleta (verão) no ponto externo (Figura 8).

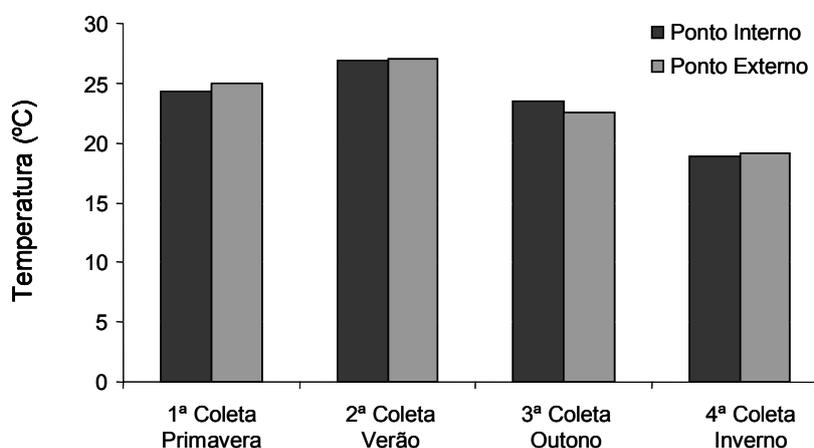


FIGURA 8 - Média dos valores absolutos da temperatura da água.

### 4.3.2 Salinidade

A Figura 9 mostra que a menor salinidade (12,6) foi observada no ponto interno na segunda coleta, e a maior (34,6) na coleta de inverno, no ponto externo. É importante observar ainda que, com exceção do outono, as salinidades foram mais elevadas no ponto externo que no interno.

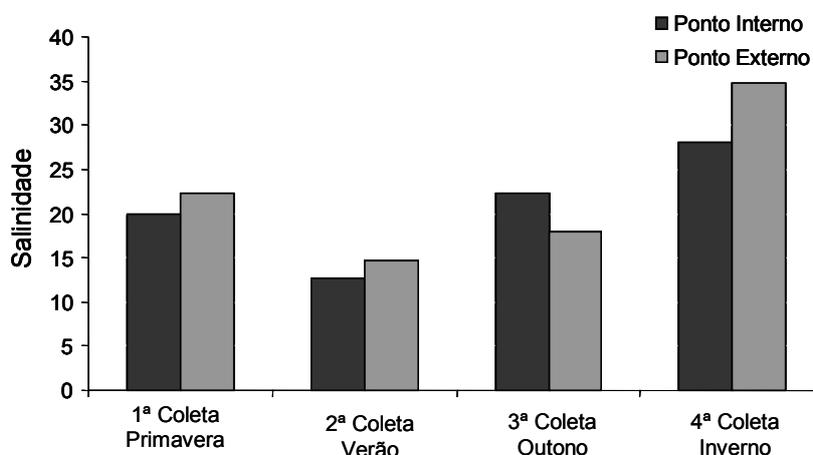


FIGURA 9 - Média dos valores absolutos de salinidade na água

### 4.3.3 pH

O potencial hidrogeniônico manteve-se quase constante entre os períodos amostrados, porém notou-se um pequeno aumento (8,25) no ponto externo, na coleta de inverno. O menor valor registrado (7,31) foi no ponto interno, na coleta de verão (Figura 10).

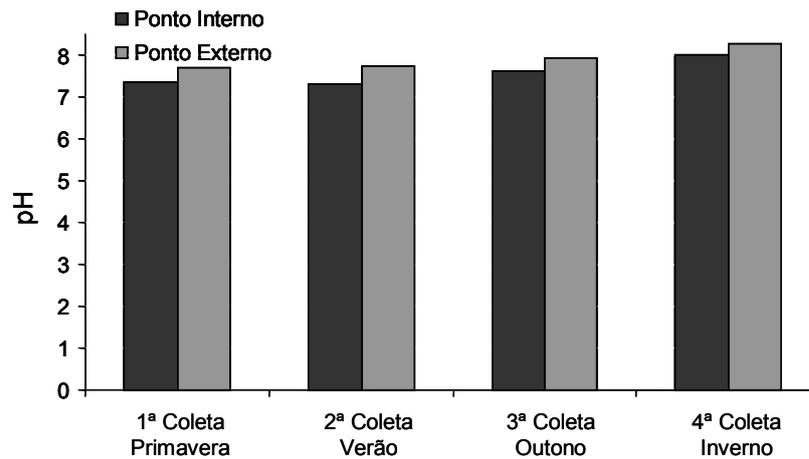


FIGURA 10 - Média dos valores absolutos de pH na água

#### 4.3.4 Oxigênio dissolvido

Na coleta de primavera e de outono houve pouca variação na porcentagem de saturação de oxigênio dissolvido. Entretanto, no ponto externo, no outono, verificou-se a maior porcentagem de saturação (163,7%). Já a menor foi de 59,5% no ponto interno na quarta coleta (Figura 11).

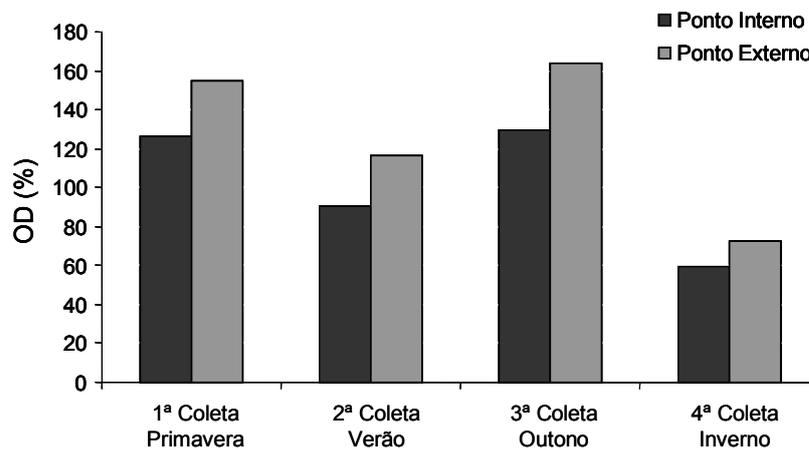


FIGURA 11 – Média dos valores absolutos de oxigênio dissolvido na água.

#### 4.3.5 Seston e matéria orgânica particulada

Os valores mais elevados de seston, com um máximo de  $261,9 \text{ mg.L}^{-1}$  no ponto interno, foram observados na segunda coleta e os menores, com um mínimo de  $17,7 \text{ mg.L}^{-1}$ , na coleta de inverno no ponto interno (Figura 12).

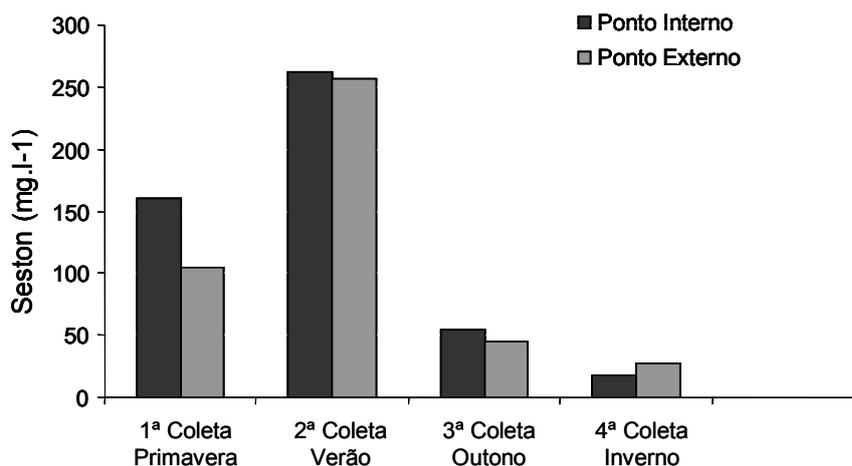


FIGURA 12 – Média dos valores absolutos de seston na água

A matéria orgânica particulada foi mais elevada no ponto externo em quase todas as coletas. Exceção foi no verão, onde o valor foi maior no ponto interno. Os menores valores foram observados na coleta de outono ( $0,1204 \text{ mg.L}^{-1}$  no ponto interno e  $0,1210 \text{ mg.L}^{-1}$  no ponto externo). Os maiores foram registrados na quarta coleta ( $0,1236 \text{ mg.L}^{-1}$  no ponto interno e  $0,1255 \text{ mg.L}^{-1}$  no ponto externo) (Figura 13).

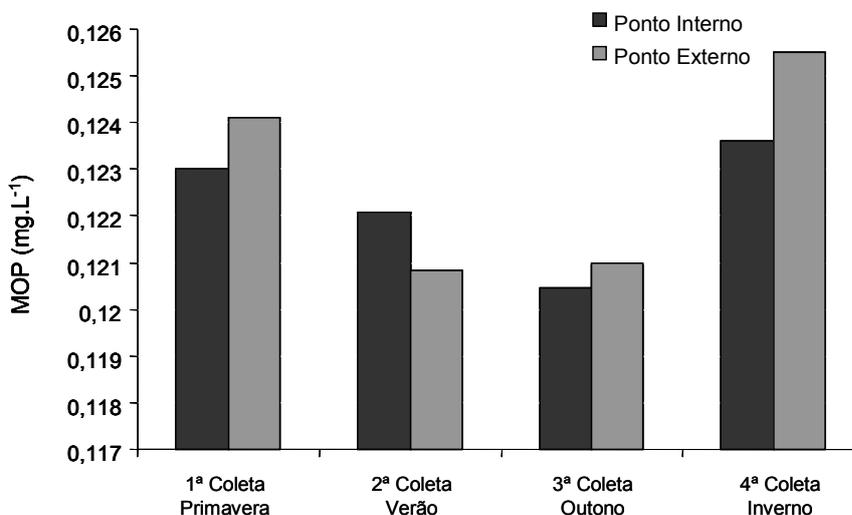


FIGURA 13 – Média dos valores absolutos de MOP na água

#### 4.3.6 *Escherichia coli*

A água de superfície analisada no inverno, foi a que apresentou o menor Número Mais Provável de *E. coli*, tanto no ponto interno (72,32 NMP.100 mL<sup>-1</sup>), como no ponto externo (36,66 NMP.100 mL<sup>-1</sup>). Na primavera e no outono os valores destes microorganismos foram intermediários, entretanto sempre mais elevados no ponto interno (124,88 NMP.100 mL<sup>-1</sup> e 340,55 NMP.100 mL<sup>-1</sup>, respectivamente). Seus maiores valores foram no verão (1.659,22 NMP.100 mL<sup>-1</sup> no ponto externo e 958,55 NMP.100 mL<sup>-1</sup> no ponto interno) (Figura 14).

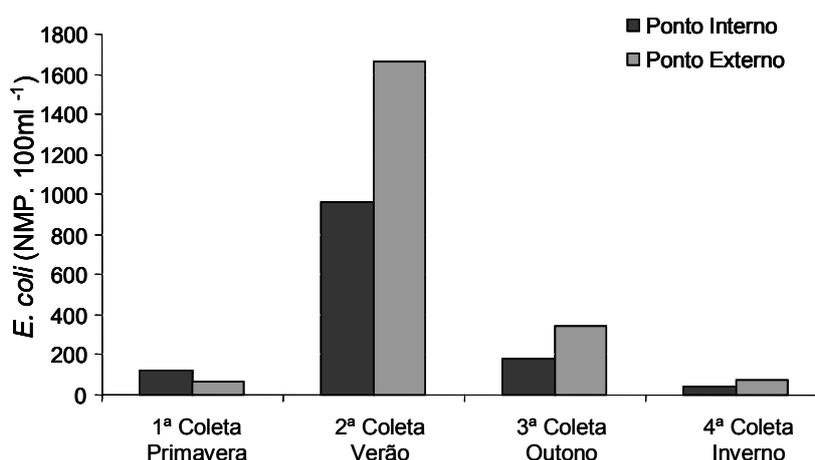


FIGURA 14 - Médias dos valores absolutos de *E. coli* na água.

#### 4.4 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS

O primeiro componente do PCA explicou 66,4% da variação dos dados e evidenciou correlação positiva entre a salinidade e o pH e negativa da pluviosidade, temperatura e *E.coli* na água e nas ostras, nos dois pontos de amostragem no inverno. Resultados inversos puderam ser observados nos dois pontos durante o verão.

O segundo componente explicou 15,6% da variação, e mostrou correlação positiva do oxigênio dissolvido e negativa da maré e da matéria orgânica nos dois pontos durante o outono. Na primavera pode ser observada correlação positiva com

o seston e temperatura no ponto interno. Os valores dos parâmetros físico-químicos e biológicos registrados no ponto externo na primavera não influenciaram na análise (Figura 15).

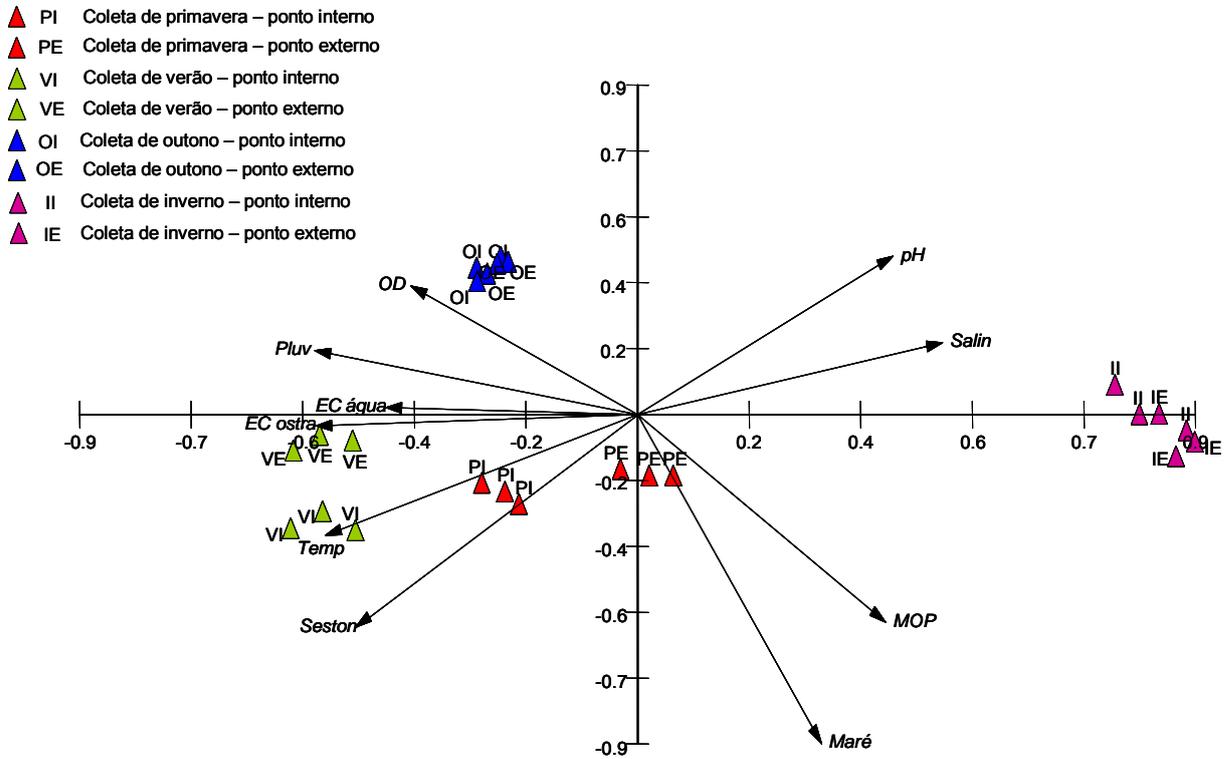


FIGURA 15 - Análise dos Componentes Principais dos parâmetros físico-químicos e biológicos estudados.

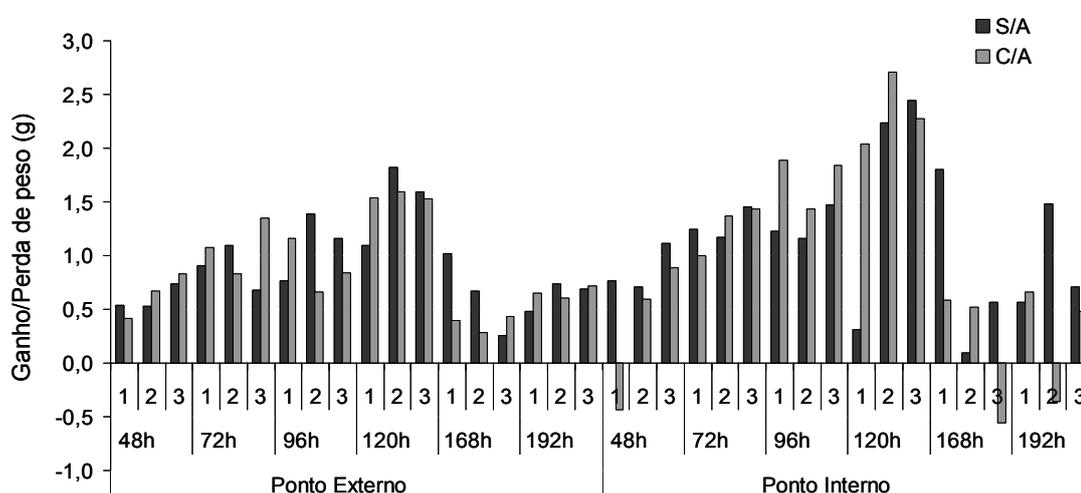
## 4.5 OSTRAS

### 4.5.1 Variação do peso das ostras

Nos gráficos de barras está expressa a variação média do peso das ostras (três indivíduos de cada aquário) por tempo de depuração (horas).

#### 4.5.1.1 Coleta de primavera

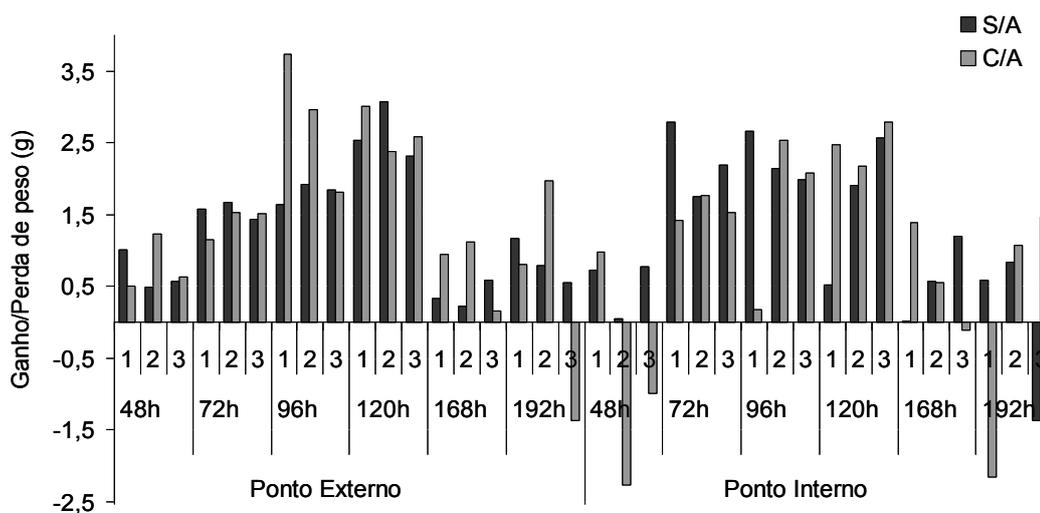
Durante a coleta de primavera, a maior parte das ostras ganhou peso durante o experimento. Exceção foi observada nas ostras do aquário 1 depois de 48 horas de depuração (-0,43g), das do aquário 3 depois de 168 horas (-0,55g) e das do aquário 2 depois de 192 horas (-0,36g), todas com alimentação. As ostras que não receberam alimento foram as que mais ganharam peso, porém essa variação foi muito pequena (Figura 16).



1,2 e 3 = réplicas dos aquários; S/A = sem alimento; C/A = com alimento  
 FIGURA 16 – Diferença entre o ganho e perda de peso das ostras na primavera.

#### 4.5.1.2 Coleta de verão

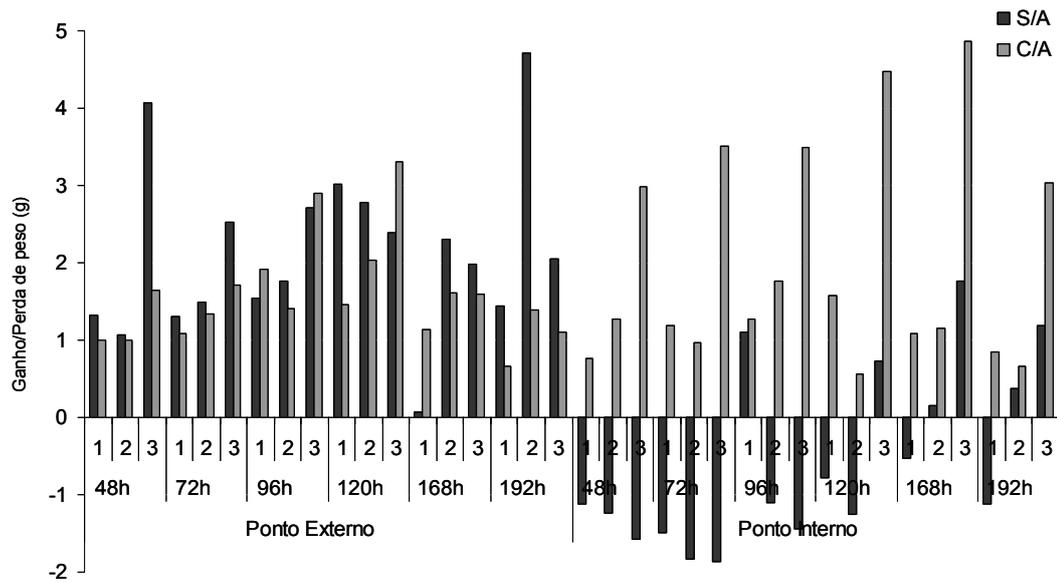
Na coleta realizada no verão, as ostras, de uma maneira geral, ganharam peso durante o período de depuração. Entretanto, no ponto externo as do aquário 3 que foram alimentadas perderam peso depois de 192h de depuração (-1,36g). No ponto interno foram observados resultados semelhantes nas ostras dos aquários 2 e 3 depois de 48h (-2,26g e -0,99g, respectivamente) e nas do aquário 1 depois de 192 horas de depuração (-2,15g), todas alimentadas e nas não alimentadas do aquário 3 depois de 192 horas de depuração (-1,36g) (Figura 17).



1,2 e 3 = réplicas dos aquários; S/A = sem alimento; C/A = com alimento  
 FIGURA 17 – Diferença entre o ganho e perda de peso das ostras no verão

#### 4.5.1.3 Coleta de outono

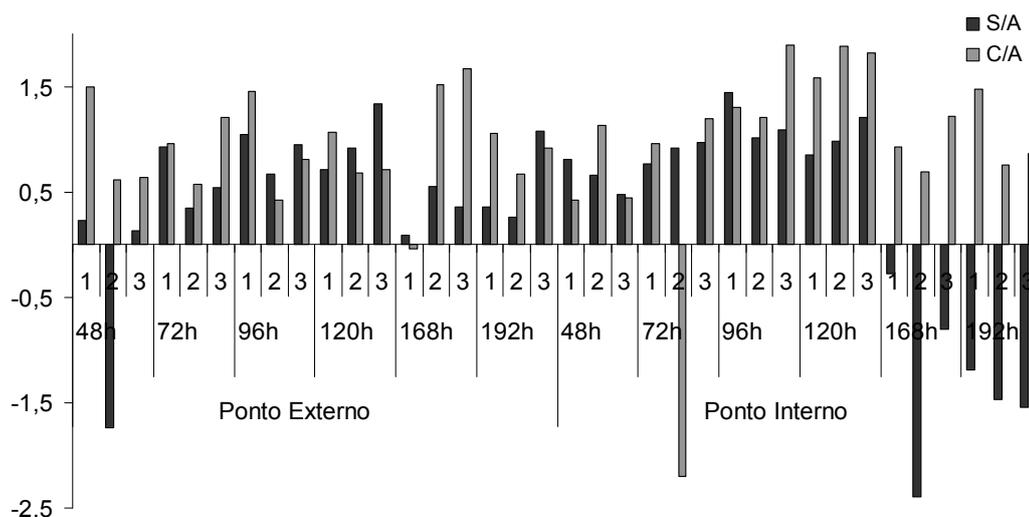
Os experimentos de depuração realizados no outono, mostram que, no ponto externo, as ostras que não receberam alimento foram as que mais ganharam peso. Já no ponto interno, as ostras que não receberam alimentação perderam peso ao longo de todo o período de depuração, principalmente depois de 72 horas de depuração quando foi verificada uma perda de quase 2g nos aquários 2 e 3, evidenciando uma grande diferença entre aquelas que receberam organismos alimento daquelas que não o receberam (Figura 18).



1,2 e 3 = réplicas dos aquários; S/A = sem alimento; C/A = com alimento  
 FIGURA 18 – Diferença entre o ganho e perda de peso das ostras no outono.

#### 4.5.1.4 Coleta de inverno

Durante os experimentos de inverno, a variação entre ganho/perda de peso das ostras foi pequena. De uma maneira geral as ostras ganharam peso, com exceção da réplica 2, em 48h de depuração (-1,74g), sem alimentação no ponto externo e réplica 3, com alimentação, em 72h (-2,20g), réplicas 1, 2 e 3, sem alimento, em 168h (-0,28g, -2,39g e -0,80g, respectivamente), e réplicas 1, 2 e 3, em 192h sem alimento no ponto interno (- 1,19g, -1,47 e -1,54g, respectivamente) (Figura 19).



1,2 e 3 = réplicas dos aquários; S/A = sem alimento; C/A = com alimento  
 FIGURA 19 – Diferença entre o ganho e perda de peso das ostras no inverno.

#### 4.5.1.5 Análises estatísticas da variação do peso das ostras

Para avaliar quais fatores (ponto interno/externo, adição ou não de alimento, tempo de depuração, e réplica de aquário) influenciaram na variação de peso das ostras, foi realizada uma Análise de Variância (ANOVA) e o do Teste “Post Hoc” de Tuckey para cada experimento (Tabela 3, Figuras 20 e 21).

TABELA 1 – RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) COMPARANDO OS DIFERENTES FATORES QUE INFLUENCIARAM O GANHO OU PERDA DE PESO DAS OSTRAS.

Fatores	Primavera	Verão	Outono	Inverno
Ponto	0,02082	0,304388	0,000000	0,374260
Alimentação	0,372021	0,758057	0,000000	0,000005
Tempo	0,0000	0,000675	0,002882	0,000024
Ponto:alimentação	0,597891	0,452746	0,000000	0,167801
Ponto:tempo	0,18422	0,887146	0,013748	0,001153
Alimentação:tempo	0,05628	0,952918	0,008902	0,000390
Ponto:alimentação:tempo	0,092145	0,940831	0,232855	0,000270
Ponto:alimentação:tempo:aquário	0,392516	0,791839	0,154447	0,625751

A variação do peso entre as ostras que receberam alimento e as que não o receberam foi significativa somente no outono e no inverno. Nestes períodos foi observado que nos dois pontos, as ostras alimentadas foram consistentemente mais

pesadas que as não alimentadas (Figuras 20 e 21). Exceção pode ser observada nas ostras do ponto interno, do aquário 2, que após 72h de depuração apresentou perda de peso l.

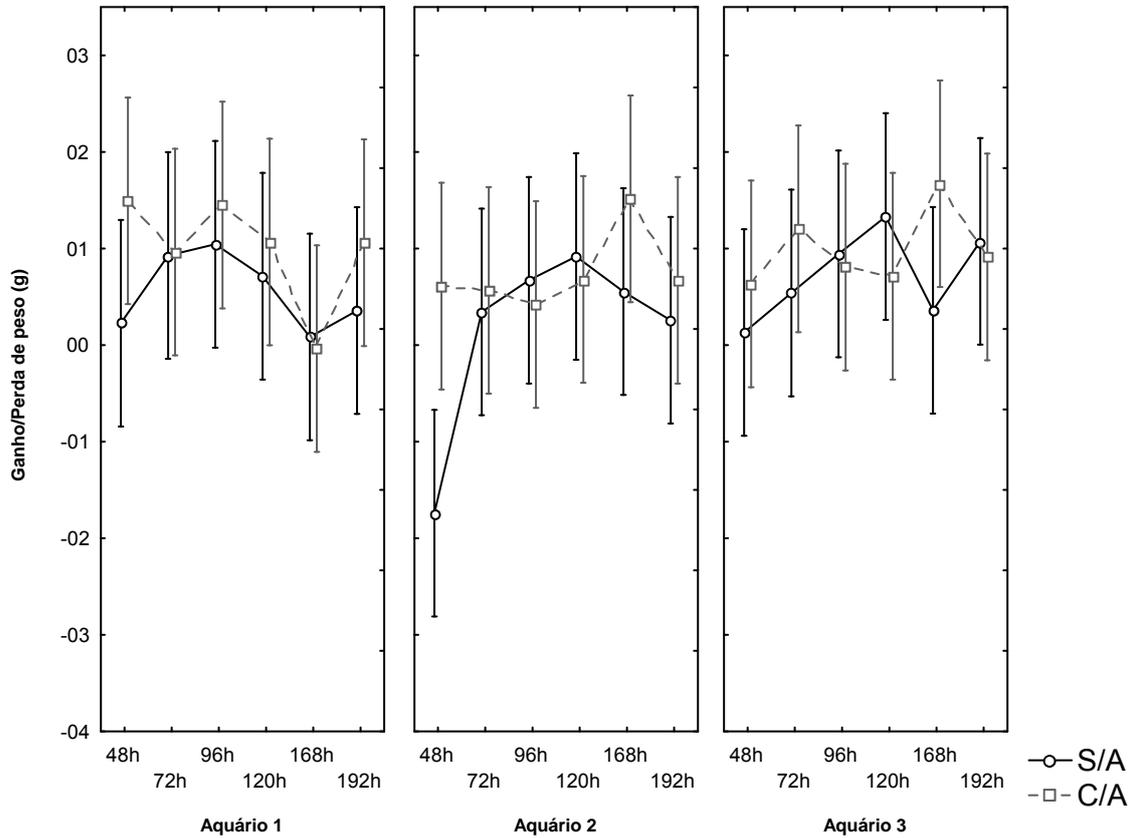


FIGURA 20 - Representação gráfica da Análise de Variância (ANOVA) da relação do peso com o tempo de depuração, adição ou não de alimento e réplicas de aquário, no ponto externo.

Já o tempo de depuração foi um fator significativo na variação do peso das ostras em todos os períodos estudados. A Figura 21 mostra que principalmente no ponto interno, após 168h de depuração, houve uma redução de peso das ostras não alimentadas.

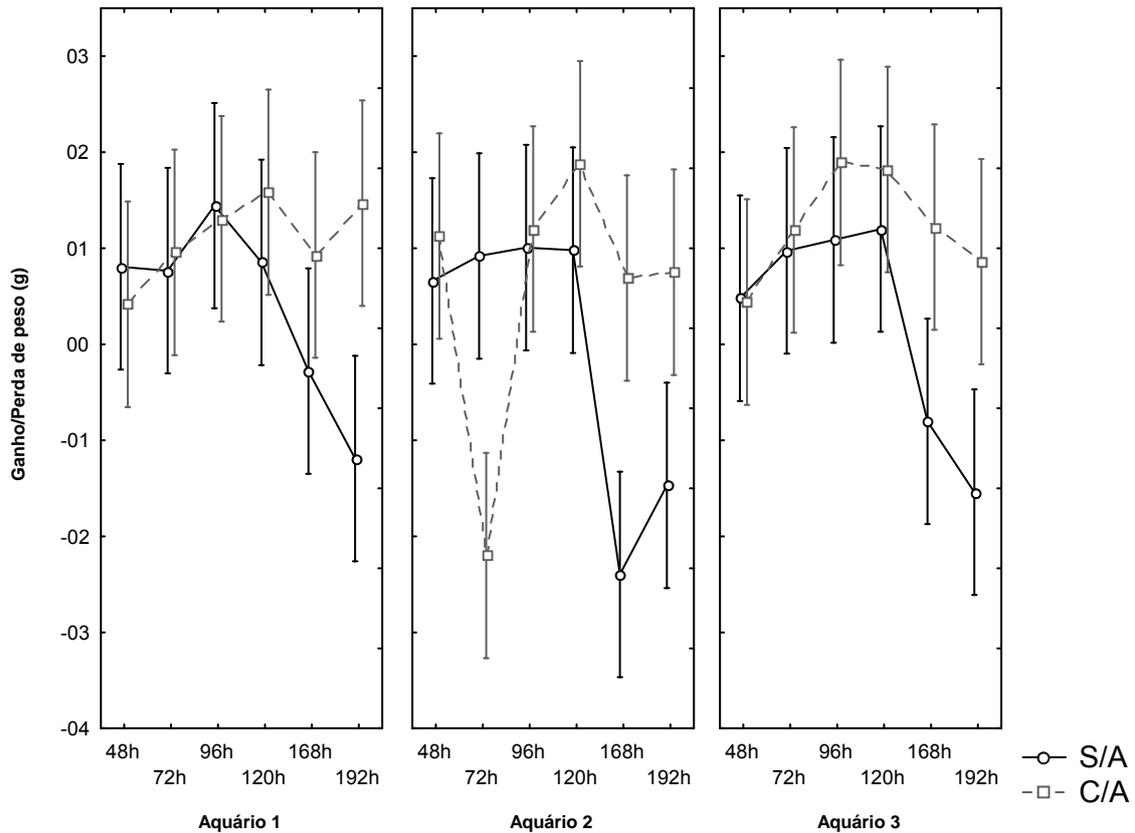


FIGURA 21 - Representação gráfica da Análise de Variância (ANOVA) da relação do peso com o tempo de depuração, adição ou não de alimento e réplicas de aquário, no ponto interno.

A interconexão dos fatores ponto (interno/externo) e alimentação mostrou-se significativa somente no outono, sendo que a maior perda de peso foi observada no ponto interno, nas ostras que não receberam alimento.

Fatores ponto e tempo de depuração juntos, influenciaram no peso das ostras no outono, sendo que, consistentemente as que perderam mais peso foram as do ponto externo, depois de 96h e 120h de depuração, e no ponto interno depois de 48h e 72h de depuração. Já no inverno, as que perderam mais peso foram as do ponto interno, depois de depuração 96h, 120h e 192h e depuração.

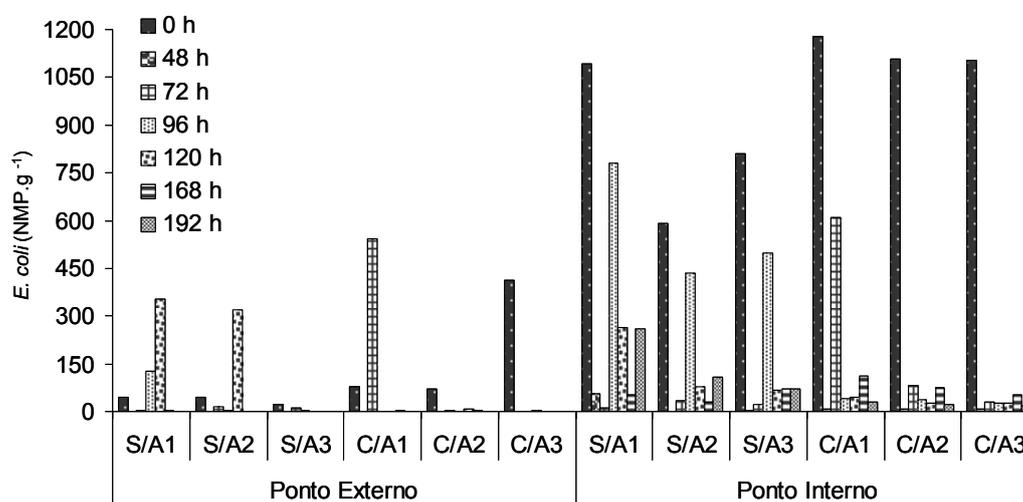
As variáveis alimento (microalga) e tempo de depuração foram significativas na perda de peso das ostras no outono e no inverno, principalmente naquelas que não foram alimentadas.

As variáveis ponto (interno/externo), adição ou não de alimento e tempo de depuração juntos foram significantes na variação de peso das ostras somente no inverno, consistentemente no ponto interno, sem alimento, nos tempos de depuração 168h e 192h.

A união dos todos os fatores (ponto, alimentação, tempo e réplica de aquário) não foi significativa em nenhum dos períodos estudados.

#### 4.5.2 Depuração das ostras coletadas na primavera

Ao contrário das ostras do ponto interno, em que foi registrado um máximo de 1176,276 NMP/g de *E. coli*, as do ponto externo tiveram quantidades bem menores, com um máximo de 413,576 NMP/g destes microrganismos no início do experimento (T=0h). Entretanto, depois de iniciada a depuração, o maior valor (544,097 NMP.g<sup>-1</sup>) foi registrado depois de 72 horas de depuração, nas ostras da réplica 1 e os menores (0,206 NMP.g<sup>-1</sup>) na réplica 2 depois de 168 horas de depuração, ambos nas que receberam alimento. Em linhas gerais ainda pode ser observado que, principalmente nas ostras do ponto interno, as que receberam alimento, apesar de terem tido mais *E. coli* no T=0h, depuraram com maior rapidez (Figura 22).



S/A = sem alimento; C/A = com alimento; 1,2 e 3 = réplicas dos aquários

FIGURA 22 – Valores absolutos de *E. coli* ao longo do período de depuração das ostras coletadas na primavera.

A Figura 23 mostra que nas ostras do ponto externo que não receberam alimentação a contaminação era menor no T=0h do que nas ostras com alimentação. Após 96h de depuração, os valores de *E. coli* nas que não receberam

alimento se aproximaram de zero, enquanto que nas ostras que receberam alimentação isso ocorreu após 48h.

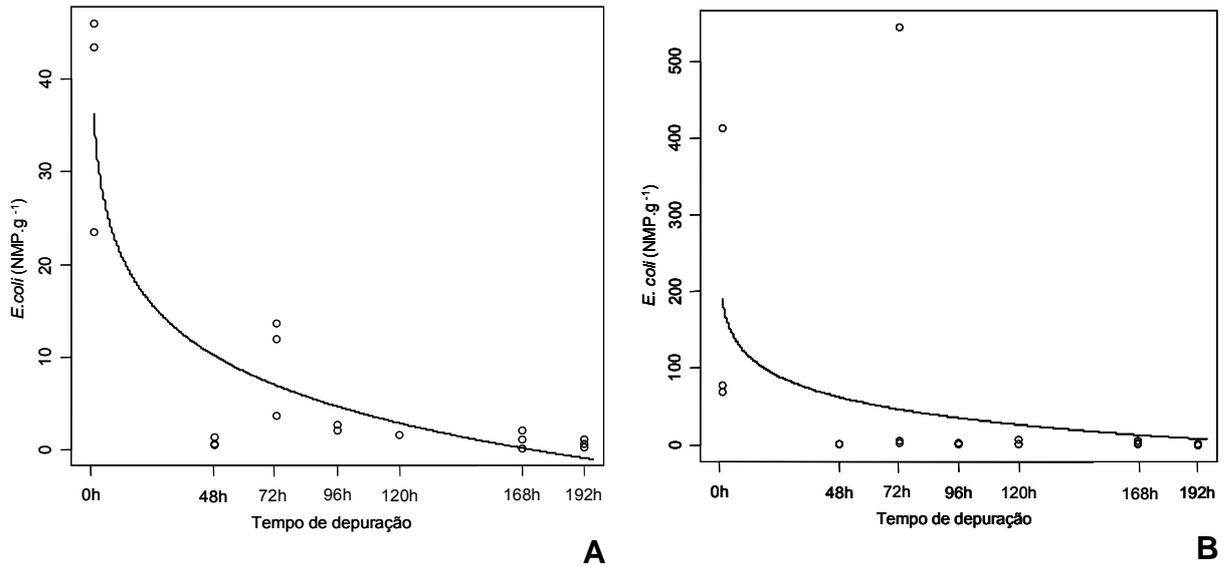


FIGURA 23 – Equação de regressão logarítmica das ostras depuradas na primavera, no ponto externo. A = sem alimento; B = com alimento.

No ponto interno a equação de regressão mostra que as ostras que não receberam alimento estiveram quase que isentas de *E. coli* em três momentos: 48h, 96h e 168h. Já as ostras que receberam organismo alimento apresentaram contaminação baixa a partir de 48h, com leve aumento em 72h, mas voltando a baixar após 96h de depuração (Figura 24).

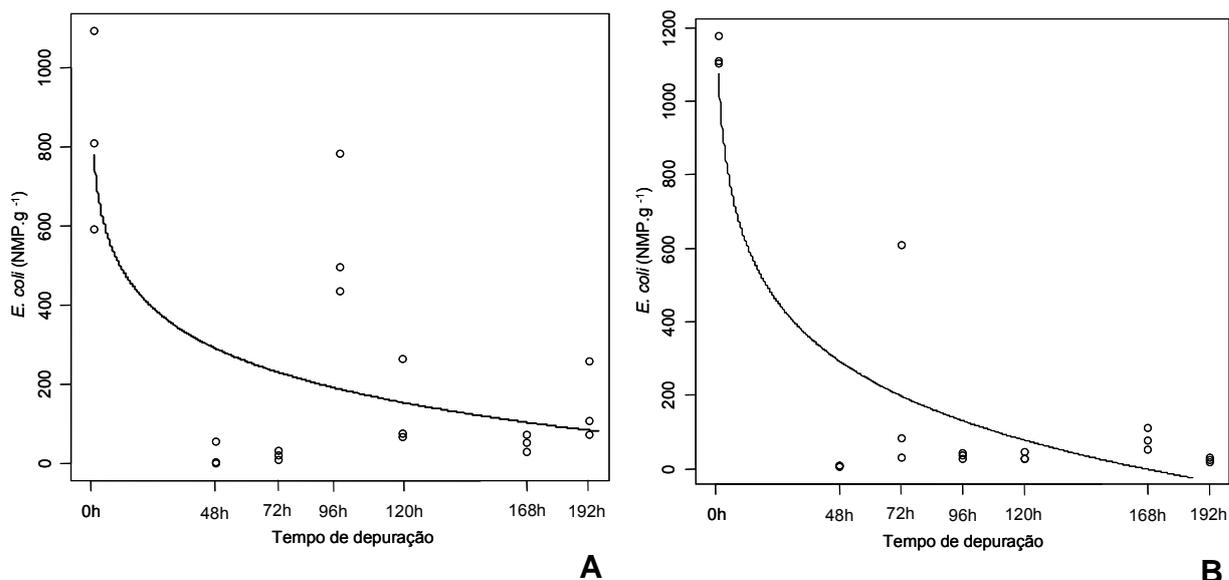


FIGURA 24– Equação de regressão logarítmica das ostras depuradas na primavera, no ponto interno. A = sem alimento; B = com alimento.

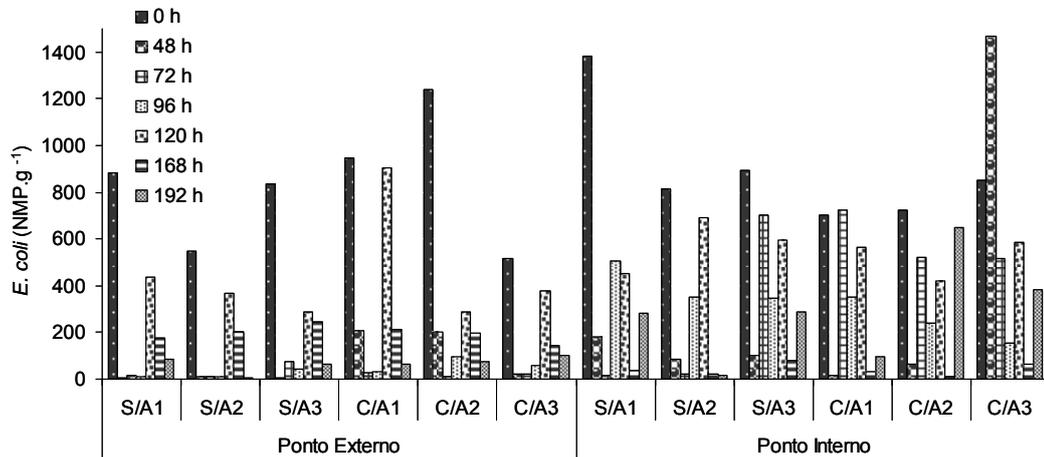
#### 4.5.3 Depuração das ostras coletadas no verão

Enquanto no início do experimento (T=0h) a quantidade de *E. coli* nas ostras do ponto externo foi muito semelhante nas três réplicas sem alimento, houve variação de uma para outra, com um máximo de 1.237,78 NMP/g de *E. coli* na réplica 2, nas que foram alimentadas (Figura 25).

É importante ressaltar ainda que, apesar de ter havido redução do número destes microorganismos nas ostras do ponto acima citado ao longo do período de depuração, pode ser observado, tanto nas ostras com, quanto nas sem alimento, redução drástica destes microorganismos, com um mínimo de 4,05 NMP/g de *E. coli* nas ostras da réplica 3 sem alimento que estavam depurando por 48 horas, nas da réplica 2 com alimento em 72 e na da réplica 1 sem alimento em 96 horas, seguido de um aumento entre as 120 e 168 horas e nova redução depois de 192 horas.

No ponto interno, de uma maneira geral, as ostras analisadas no início do experimento de depuração (T0) foram as que apresentaram, durante o verão, os maiores valores de *E. coli*. Exceção foram as da réplica 3 com alimento que, depois de 48 horas de depuração, continham a maior quantidade (1.466,42 NMP.g<sup>-1</sup>) destes

microorganismos. Já seu menor número (14,92 NMP.g<sup>-1</sup>) foi observado nas ostras da réplica 1 que não receberam alimento depois de 72 horas de depuração.



S/A = sem alimento; C/A = com alimento; 1,2 e 3 = réplicas dos aquários

FIGURA 25 – Valores absolutos de *E. coli* ao longo do período de depuração das ostras coletadas no verão.

A equação de regressão mostra a semelhança entre o comportamento das ostras do ponto externo que receberam e das que não receberam microalga durante a depuração. Inicialmente nos dois casos elas estavam bem contaminadas, porém, após 48h de depuração houve uma grande redução na quantidade de *E. coli*. Em 120h houve novo aumento destes microrganismos tanto nas ostras que foram alimentadas quanto nas que não receberam alimento. Uma nova redução pode ser observada após 192h de depuração (Figura 26).

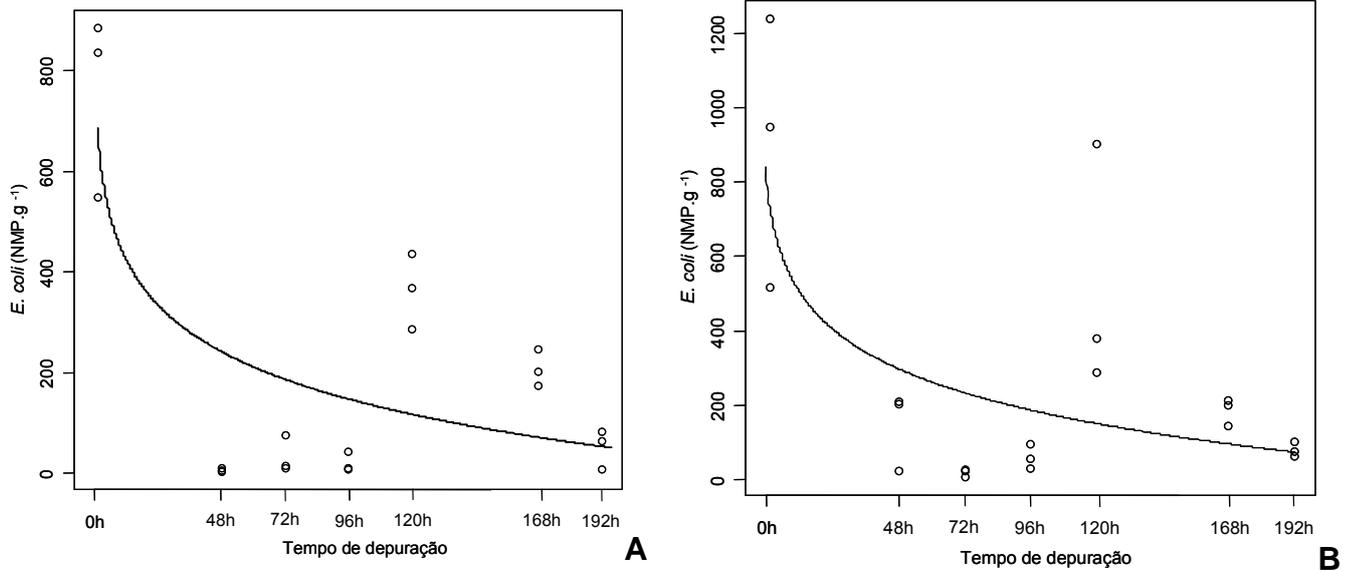


FIGURA 26 – Equação de regressão logarítmica das ostras depuradas no verão, no ponto externo. A = sem alimento; B = com alimento.

A Figura 27 mostra que as ostras do ponto interno coletadas no verão depuraram muito pouco. Somente é possível notar que houve uma redução de *E. coli* nas ostras (tanto as que receberam alimento, quanto as que não o receberam) após 168h de depuração, seguido por um aumento em 192h.

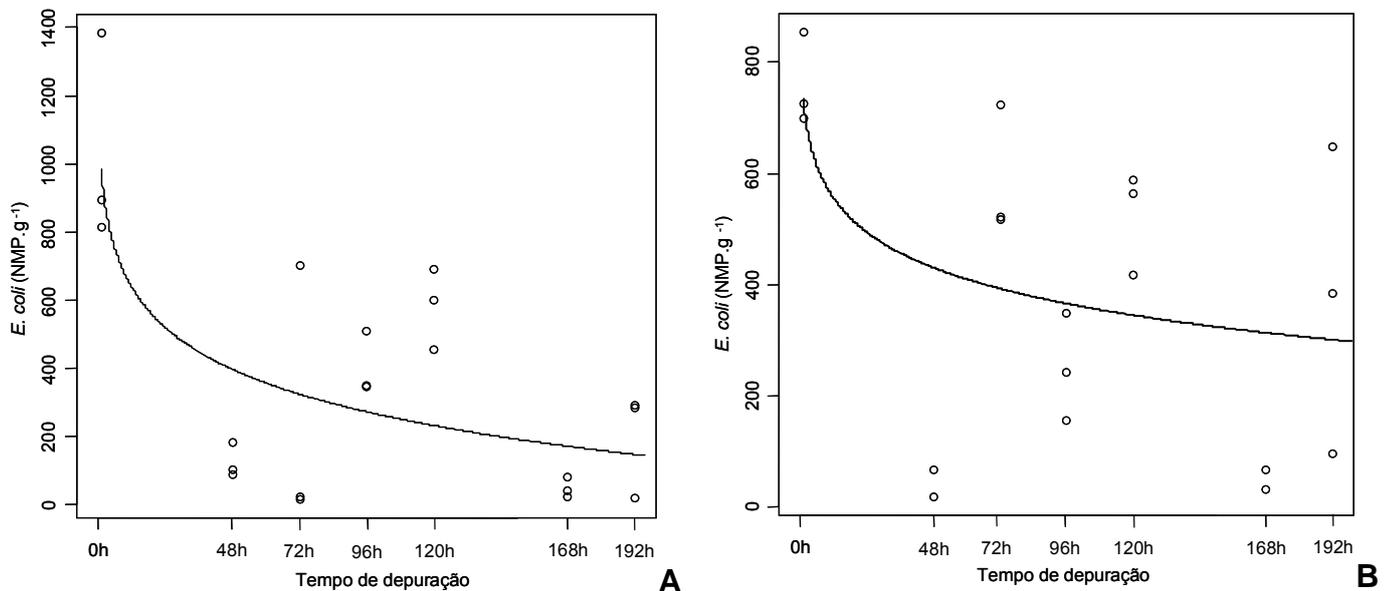


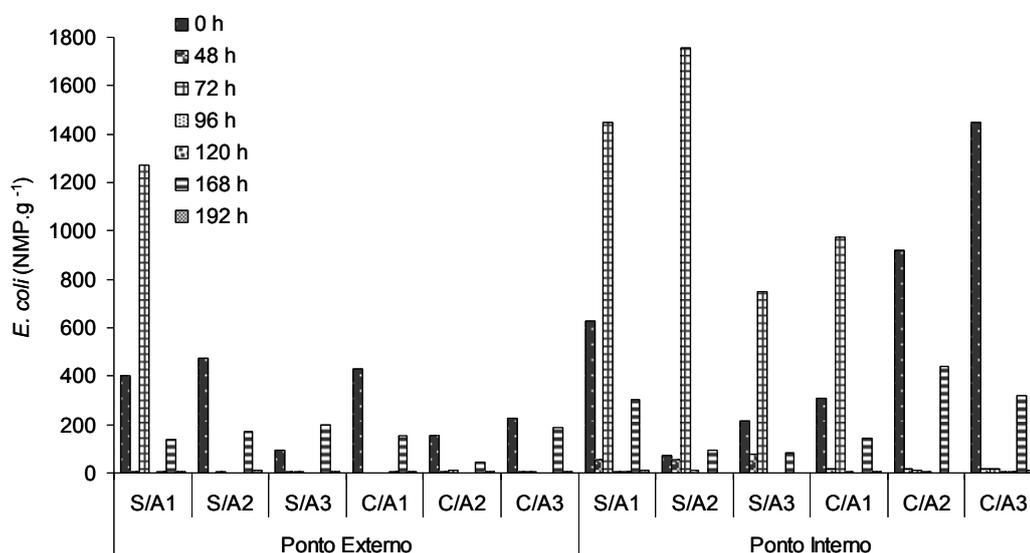
FIGURA 27 – Equação de regressão logarítmica das ostras depuradas no verão, no ponto interno. A = sem alimento; B = com alimento

#### 4.5.4 Depuração das ostras coletadas no outono

Como pode ser observado na Figura 28 depois de 72 horas de depuração nas ostras da réplica 1 com alimento do ponto externo não puderam ser detectadas *E. coli*. Resultados semelhantes foram registrados nas ostras da réplica 1 sem alimento depois de 96 horas de depuração.

No mesmo ponto os máximos (1.273,51 NMP.g<sup>-1</sup>) de *E. coli* foram nas ostras da réplica 1 que não receberam microalgas, depois de 72 horas de depuração.

Com relação aos resultados do ponto interno a Figura 28 mostra que no período de estudo nem sempre o máximo de *E. coli* foi no T0, mas sim, consistentemente depois de 72 horas de depuração. Seu número máximo (1.753,33 NMP.g<sup>-1</sup>) foi registrado nas ostras da réplica 2 que não receberam organismo alimento, depois de 72 horas e o mínimo (0,16 NMP.g<sup>-1</sup>) nas ostras da réplica 3 sem alimento, depois de 120 horas de depuração.



S/A = sem alimento; C/A = com alimento; 1, 2 e 3 = réplicas dos aquários

FIGURA 28 – Valores absolutos de *E. coli* ao longo do período de depuração das ostras coletadas no outono.

A análise de regressão mostrou que neste período, no ponto externo, houve pouca variação na depuração das ostras que não receberam alimento. Já as ostras que receberam organismo alimento, apresentaram quantidades elevadas de *E. coli*

no início do experimento e a taxa de eliminação desses microorganismos foi elevada a partir das 48h de depuração. Pode-se observar um aumento em 168h e nova redução em 192h. (Figura 29).

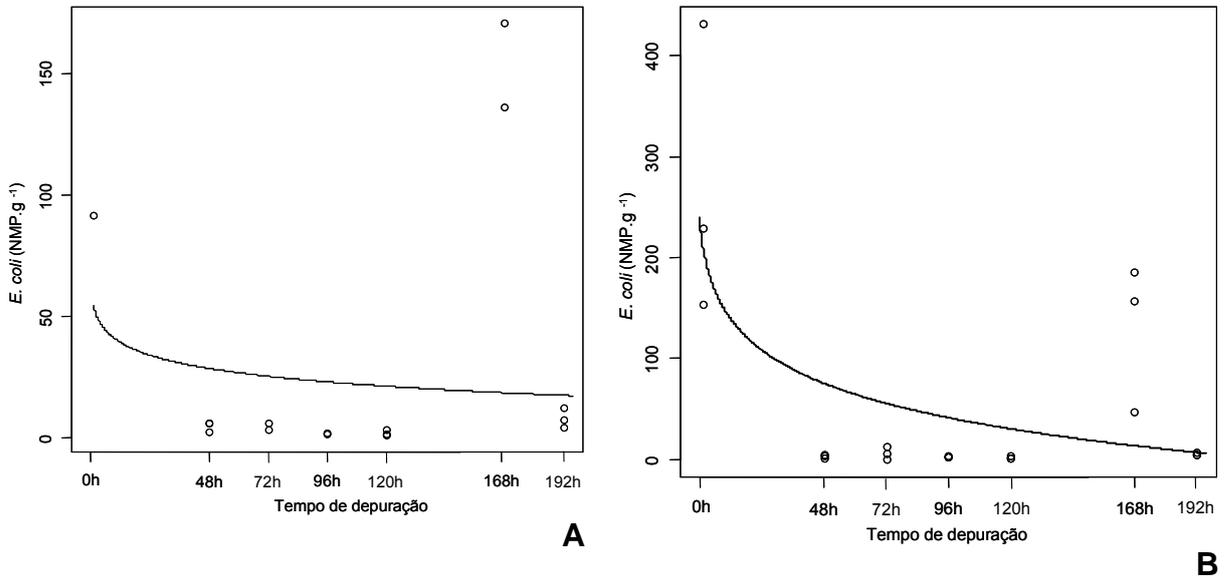


FIGURA 29 – Equação de regressão logarítmica das ostras depuradas no outono, no ponto externo. A = sem alimento; B = com alimento.

As ostras adquiridas no cultivo do ponto interno durante o outono sofreram grandes variações durante o experimento de depuração. O lote escolhido para não receber alimento chegou do campo bem menos contaminado do que o lote escolhido para receber organismo alimento. Durante a depuração as ostras que receberam alimentação depuraram mais rapidamente do que as que não o receberam. Após 48h as ostras que receberam microalgas mantiveram as quantidades de *E. coli* próximas a zero até 168h de depuração, quando sofreram uma pequena elevação, voltando a reduzir a contaminação em 192h (Figura 30).

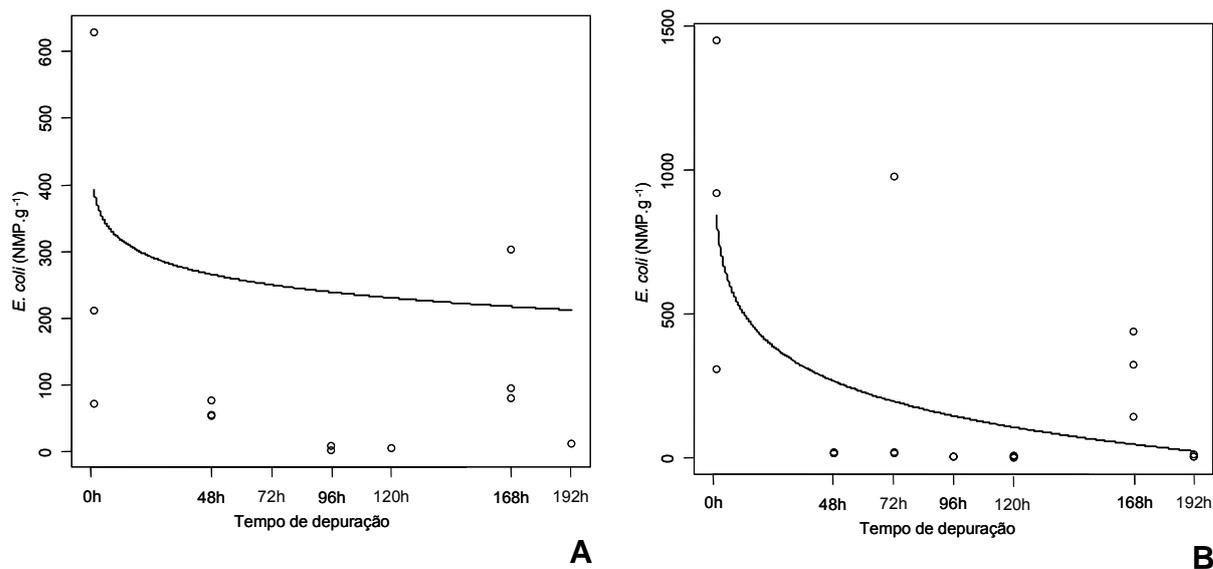


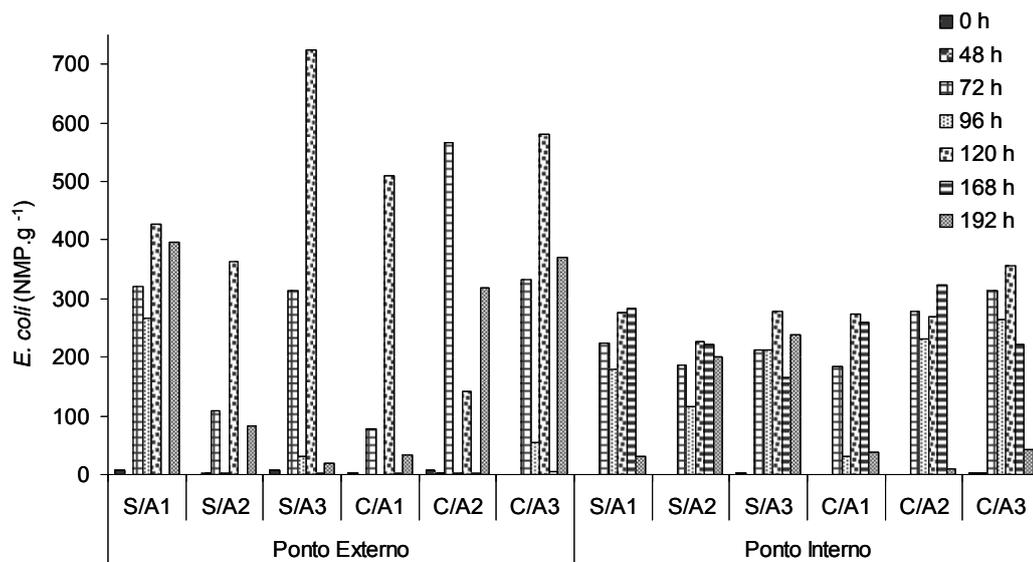
FIGURA 30 – Equação de regressão logarítmica das ostras depuradas no outono, no ponto interno. A = sem alimento; B = com alimento.

#### 4.5.5 Depuração das ostras coletadas no inverno

Consistentemente neste período do ano as ostras dos dois cultivadores tiveram valores muito baixos de *E. coli* no T=0h (análise inicial). Por isto, em decorrência da metodologia adotada, principalmente quanto às diluições, não foi possível detectar a quantidade inicial (T0) de *E. coli* na carne da ostra das réplicas PI S/A1, PE S/A2 e PE C/A3, e tampouco sua quantidade depois de 48 horas de depuração das réplicas PI S/A1, PI S/A2, PI S/A3, PI C/A1, PI C/A2, PE S/A1, PE S/A3, PE C/A1, e PE C/A3.

Dentre as ostras em que foram encontradas *E. coli* no ponto externo os menores valores deste microrganismo ( $0,21 \text{ NMP.g}^{-1}$ ), foram nas ostras da réplica 2 que não receberam alimento depois de 168 horas de depuração e o maior valor foi de  $724,43 \text{ NMP.g}^{-1}$  nas ostras da réplica 3, também sem alimentação, que haviam depurado por 120 horas (Figura 31).

No ponto interno, dentre as ostras em que foram encontradas *E. coli*, o menor valor deste microrganismo foi de  $0,47 \text{ NMP.g}^{-1}$  no T0 nas ostras da réplica 2 que não receberam microalgas. Já o maior foi de  $356,87 \text{ NMP.g}^{-1}$ , nas ostras da réplica 3 que depuraram por 120 horas, também sem alimentação (Figura 31).



S/A = sem alimento; C/A = com alimento; 1,2 e 3 = réplicas dos aquários

FIGURA 31 – Valores absolutos de *E. coli* ao longo do período de depuração das ostras coletadas no inverno.

Em decorrência das dificuldades encontradas nas diluições, a depuração das ostras durante o inverno foi intrincada. Pode-se perceber uma pequena semelhança entre as ostras que receberam alimentação com as que não receberam. Houve uma ligeira diminuição dos valores do NMP de *E. coli* em 96h de depuração, um aumento em 120h, novamente uma queda em 168h, mantendo-se quase igual em 192h (Figura 32).

Neste período do ano pode ser observado que nas ostras provenientes da estação externa houve uma depuração maior das que não receberam alimento. Entretanto, nos dois casos houve uma ligeira diminuição dos valores de *E. coli* em 96h de depuração, um aumento em 120h, nova redução em 168h, sendo que as ostras que não receberam alimento apresentaram menor quantidade deste microorganismo em 192 horas de depuração (Figura 32).

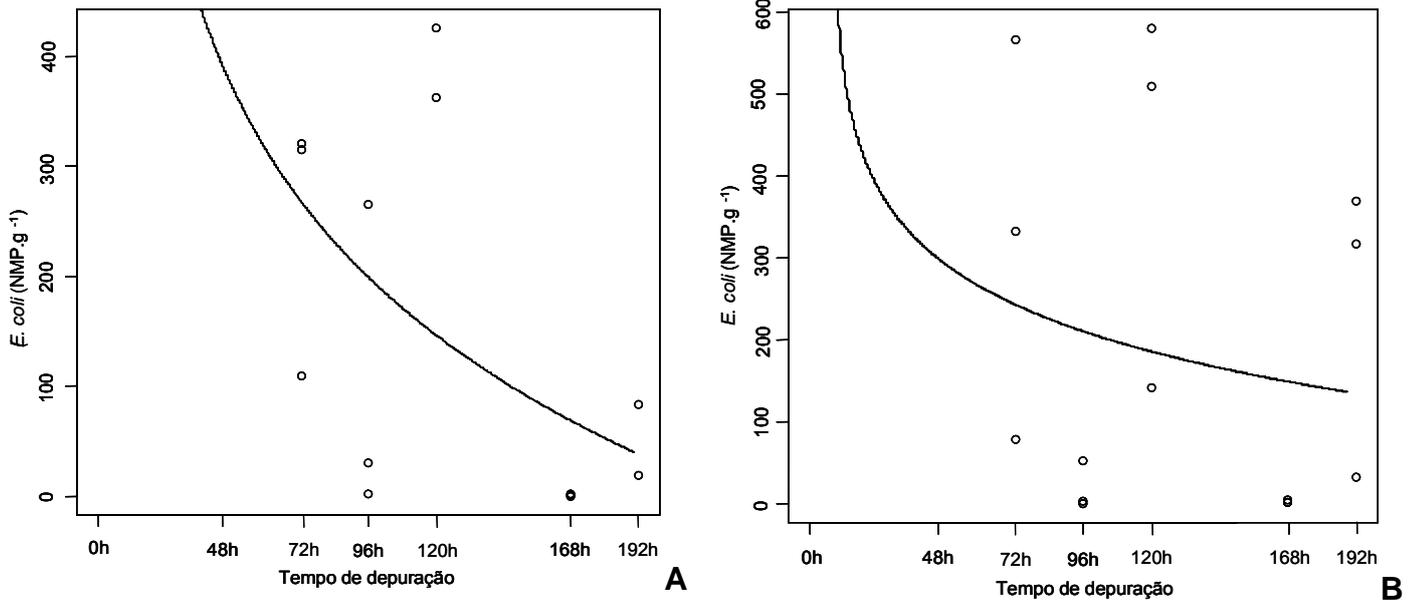


FIGURA 32 – Equação de regressão logarítmica das ostras depuradas no inverno, no ponto externo. A = sem alimento; B = com alimento

A Figura 33 mostra que as ostras do ponto interno praticamente não depuraram, mantendo valores próximos a 250 NMP de *E. coli* por grama de carne de ostra até as 168 horas. Porém depois de 192 horas houve uma grande redução desses microrganismos, principalmente nas ostras que receberam organismo alimento.

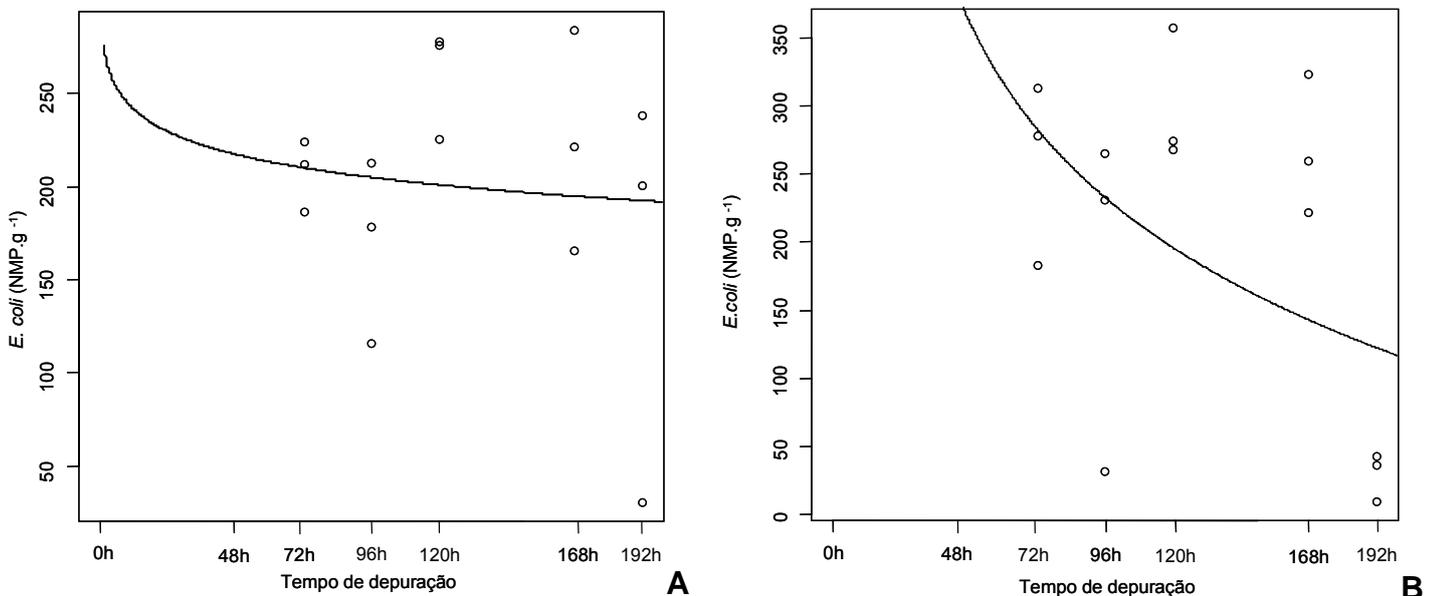


FIGURA 33 – Equação de regressão logarítmica das ostras depuradas no inverno, no ponto interno. A = sem alimento; B = com alimento.

#### 4.5.6 Análise de Variância por quantidade de *Escherichia coli*

Na Tabela 4 e Figuras 34 e 35, encontram-se os resultados da ANOVA quando comparados os diversos fatores que influenciaram os valores de *E. coli* nas ostras.

Ao longo do período estudado houve variação significativa da quantidade de *E. coli* nas ostras, com valores mais elevados no verão. O ponto do qual as ostras foram retiradas também foi significativo, isto é as ostras do ponto interno estavam mais contaminadas que as do ponto externo. Ao longo do período de depuração os maiores valores de *E. coli* nas ostras foram registrados no início do experimento (T0) e os menores depois de 48h.

A interconexão entre a coleta e o ponto mostrou-se significativa, sendo que as ostras do ponto interno tinham mais *E.coli* na coleta de primavera, de verão (maiores valores) e de outono. Já na coleta de inverno, a quantidade deste microorganismo foi semelhante para os dois pontos analisados.

A coleta e o tempo de depuração juntos foram significativos, mostrando que as maiores quantidades de *E. coli* foram encontradas no T=0h, na coleta de verão, de primavera e de outono, respectivamente.

Os fatores ponto e tempo de depuração mostraram-se significativos e evidenciaram que as ostras do ponto interno estavam mais contaminadas em praticamente todos os tempos de depuração. Exceção pôde ser observada no T=120h, em que as ostras do ponto externo estavam mais contaminadas.

A junção dos fatores coleta, ponto e tempo de depuração foi significativa, evidenciando que as ostras adquiridas na coleta da primavera, no ponto interno, no tempo de depuração 0h estavam mais contaminadas, seguidas das ostras coletadas no verão, no mesmo ponto e tempo de depuração.

O fator alimentação sozinho não foi significativo, porém quando analisado juntamente com ponto e tempo de depuração e quando analisado junto com coleta, ponto e tempo de depuração, apresentou variação significativa. No ponto interno, na coleta de primavera, as ostras alimentadas chegaram a uma contaminação muito

próxima a zero nos tempos de depuração 96h, 120h e 168h. Na coleta de outono, no mesmo ponto, tanto nas ostras que foram alimentadas, quanto nas que não foram,, as quantidades de *E. coli* foram próximas a zero, nos tempos de depuração 96h, 120h e 168h. Já no ponto externo, na coleta realizada na primavera, as ostras alimentadas estiveram menos contaminadas nos tempos 96h, 120h, 168h e 192h, e as que não foram alimentadas, nos tempos 168h e 192h. Na coleta de outono, no mesmo ponto, nas ostras que receberam organismo alimento os valores de *E. coli* foram próximos a zero depois de 72h, 96h e 120h de depuração, e as que não receberam microalgas, depois de 120h de depuração. Ainda no ponto externo, na coleta de inverno, os menores valores de *E.coli* foram registrados em 48h de depuração, tanto nas ostras que receberam alimentação, quanto nas que não o receberam, e em 96h de depuração nas ostras que receberam organismo alimento.

TABELA 2 – RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) COMPARANDO OS DIFERENTES FATORES QUE INFLUENCIARAM NA QUANTIDADE DE *E.COLI* NAS OSTRAS.

<b>Fatores</b>	<b>Significância</b>
Coleta (primavera, verão, outono, inverno)	0,000000
Ponto	0,000000
Alimentação	0,938102
Tempo	0,000000
Coleta:Ponto	0,004525
Coleta:Alimentação	0,186448
Ponto:Alimentação	0,942551
Coleta: Tempo	0,000000
Ponto:Tempo	0,000058
Alimentação:Tempo	0,094194
Coleta:Ponto:Alimentação	0,936475
Coleta:Ponto:Tempo	0,000000
Coleta:Alimentação:Tempo	0,000003
Ponto:Alimentação:Tempo	0,705439
Coleta:Ponto:Alimentação:Tempo	0,031655

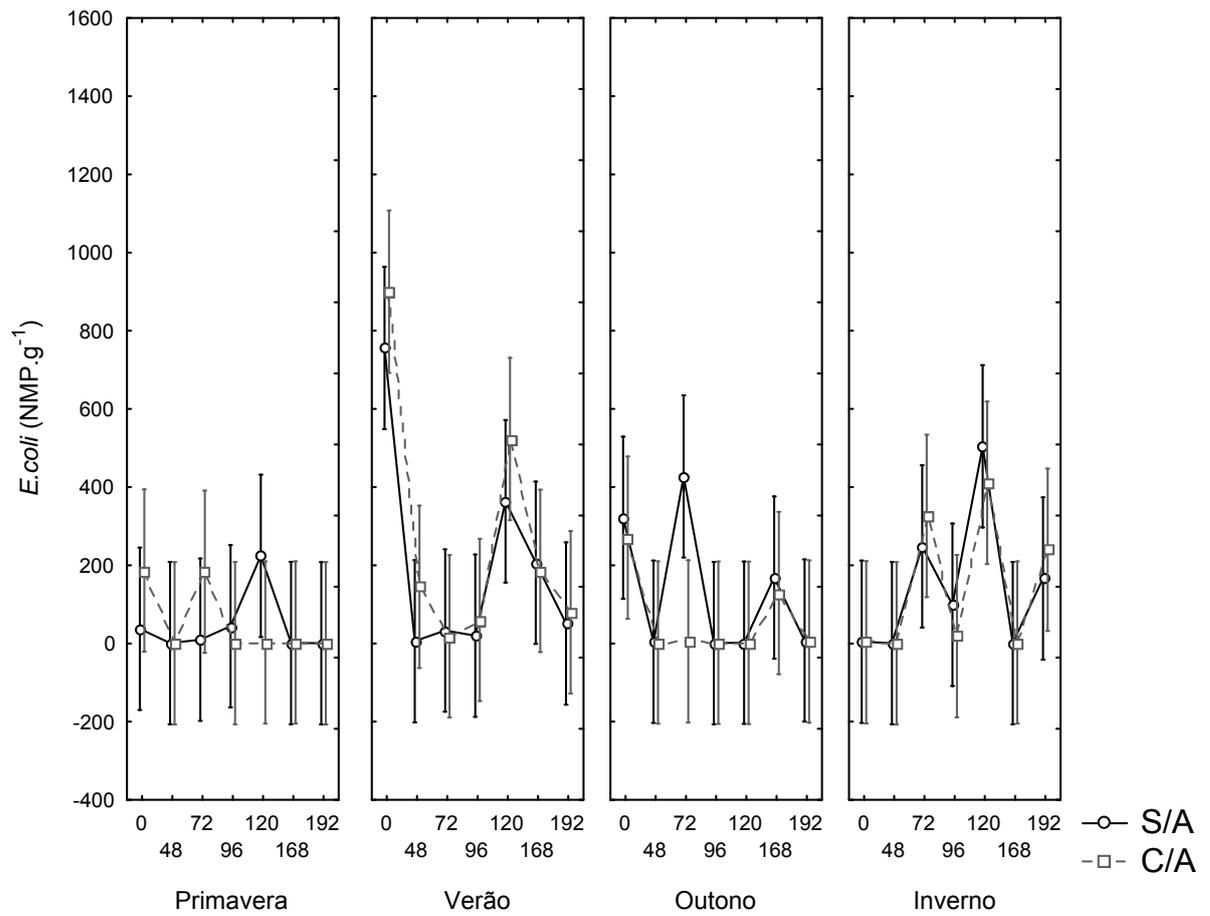


FIGURA 34 - Representação gráfica da Análise de Variância (ANOVA) da relação da quantidade de *E. coli* com a estação do ano, o ponto, a alimentação e o tempo de depuração, no ponto externo.

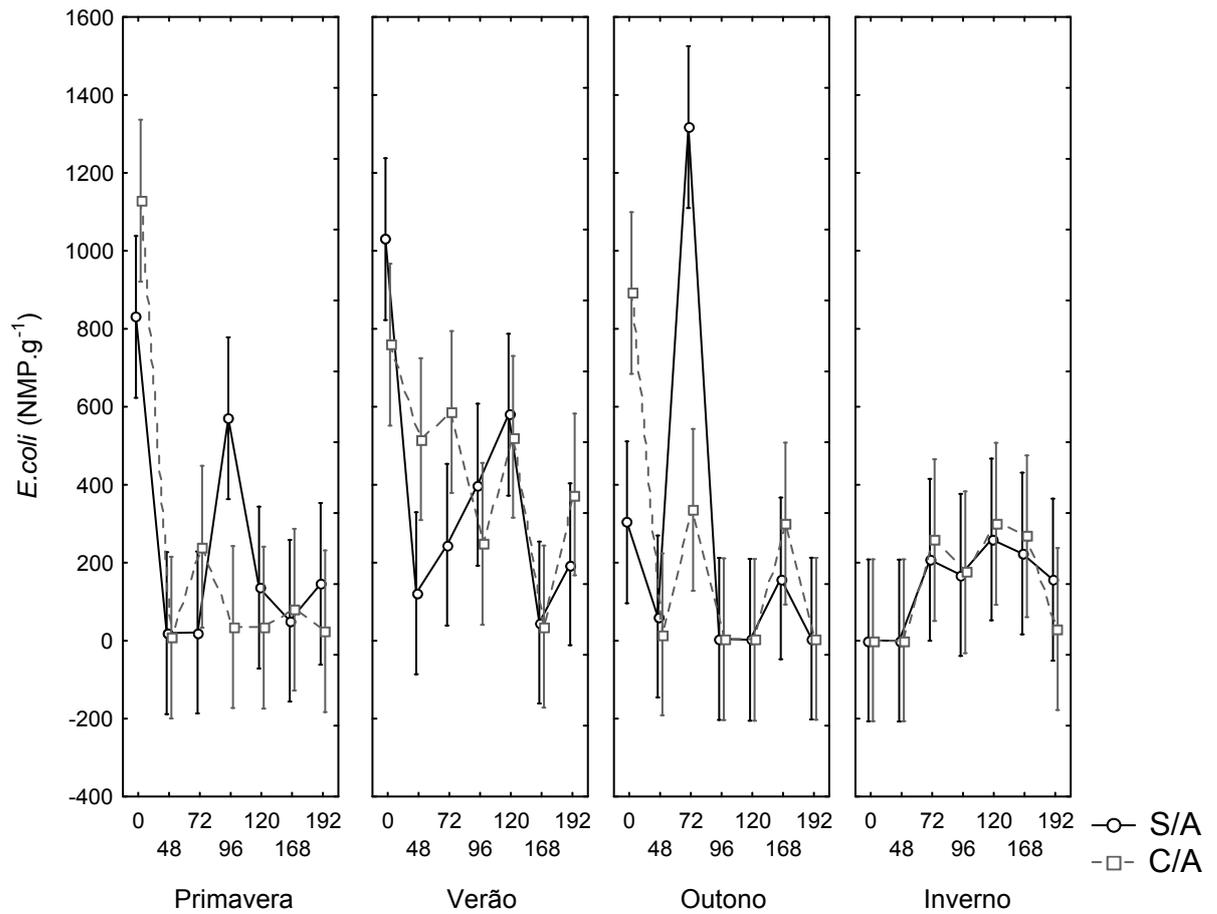


FIGURA 35 - Representação gráfica da Análise de Variância (ANOVA) da relação da quantidade de *E. coli* com a estação do ano, o ponto, a alimentação e o tempo de depuração, no ponto interno.

## 5 DISCUSSÃO

O fato da temperatura da água superficial ter sido mais elevada no verão coincide com os dados encontrados por Christo (2006) que efetuou, nos mesmos pontos, entre outras, análises físico-químicas e microbiológicas da água de superfície, coletada bimensalmente entre março de 2002 e março de 2003 em baixamar de sizígia.

Os valores de salinidade foram semelhantes, isto é, maiores no ponto externo e menores no ponto interno, aos registrados por Santos (2003), que efetuou, em julho e agosto de 2002, estudos de parâmetros físico-químicos e microbiológicos em águas superficiais nos mesmos locais da presente pesquisa. Com relação à estação do ano, as salinidades registradas neste trabalho foram inversas às reportadas por Christo (2006), isto é, enquanto a autora encontrou os maiores valores deste parâmetro na coleta realizada no verão, na presente pesquisa eles foram registradas na coleta de inverno. Tais diferenças podem estar relacionadas com a baixa quantidade de chuvas registradas no inverno de 2008. Além disto, pode ter havido variação em decorrência da diferença da altura da maré, já que a altura máxima de maré foi registrada no inverno, e apenas no verão a coleta foi realizada em maré vazante.

Já o potencial hidrogeniônico e a quantidade de seston diferiram de uma pesquisa para outra. Enquanto Santos (2003) registrou valores iguais de pH de 7,82 nas duas estações, nesta pesquisa seus valores sempre foram mais elevados na estação externa. Diferenças também foram registradas com relação à quantidade de seston na água. Santos (2003) registrou valores muito mais elevados na estação interna, e nesta pesquisa os seus valores, quando comparados período a período, foram semelhantes, e na coleta de inverno sempre menores que os observados no trabalho acima citado.

Com relação à quantidade de oxigênio dissolvido pode ser observado que na presente pesquisa seus valores sempre foram mais elevados na estação externa que na interna. Enquanto a estação externa é diretamente influenciada pela água da plataforma continental adjacente, mais salina, mais pobre em nutrientes e mais rica em oxigênio dissolvido, a interna se encontra em um braço de mar em que, que

recebe grande influência das águas dos rios adjacentes e, segundo Christo (2006), a transparência é menor. Tais características levam a crer que a quantidade deste parâmetro é diretamente influenciada pelo local. Ainda é importante ressaltar que as águas da estação externa são mais agitadas que as da interna e que, portanto, nelas pode haver maior introdução do oxigênio proveniente do ar em águas superficiais. Ainda, comparando-se os valores deste parâmetro, obtidos nesta pesquisa no inverno, com os registrados por Santos (2003), pode-se observar que, enquanto a autora acima citada registrou, nas duas estações, valores próximos dos 100% de saturação, neste trabalho seus valores foram bem menores (em torno dos 50%). Tais resultados podem estar relacionados com a ausência de chuva e conseqüente redução do aporte de água proveniente dos rios, nos dias que antecederam a coleta realizada no inverno de 2008. É importante ressaltar ainda que a maior quantidade de matéria orgânica particulada também foi registrada no inverno. Grandes quantidades de matéria orgânica tendem a levar a um aumento de bactérias heterotróficas, contribuindo assim a uma redução quantitativa do oxigênio dissolvido.

Christo (2006) registrou valores mais elevados de *E. coli* na estação interna e menores na externa. Características semelhantes foram observadas por Santos (2003) no inverno do mesmo ano. Resultados diferentes foram observados nesta pesquisa onde, na coleta de primavera, outono e inverno, os valores foram baixos nos dois locais. Já na coleta de verão, houve um aumento significativo de *E. coli*, principalmente no ponto externo. Como entre 2002 e 2008 foi implantado o sistema de tratamento de esgoto em Guaratuba, era de se esperar que os resultados fossem diferentes. Entretanto, segundo o engenheiro Wilson Barion (*com. pess.*) da Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR), as obras de manilhamento de esgoto contemplam 45% da cidade, atuando principalmente nas regiões centrais e bairros de veraneio. Como a região no entorno da Baía de Guaratuba ainda é deficiente em redes de coleta e tratamento de esgoto, boa parte dos efluentes servidos devem estar sendo despejados em suas águas. Além disto, há deficiências no sistema de coleta e tratamento de esgoto proveniente de Caiobá, bairro do município de Matinhos, situado na entrada da Baía de Guaratuba e muito freqüentado por veranistas. Problema adicional passa a ser o grande contingente de veranistas que freqüentam os municípios de Guaratuba e Matinhos durante o verão,

aumentando assim tanto a quantidade de águas servidas que tem que ser tratadas, quanto as que são lançadas diretamente na baía. Durante este período as águas da região ainda foram consistentemente consideradas, pelo Instituto Ambiental do Paraná (IAP), impróprias para banho, o que corrobora com os resultados obtidos nesta pesquisa.

Apesar do número de amostras analisadas nesta pesquisa ter sido menor que o exigido pela Resolução nº 357 (BRASIL, 2005), pode ser constatado que a quantidade de *E. coli* em todos os períodos estudados é maior que os limites estabelecidos pela referida resolução, indicando que os pontos estudados não são próprios para cultivos de bivalves. Ainda pode-se constatar que a quantidade de *E. coli* está acima do permitido pela legislação americana que avalia as condições microbiológicas das águas de cultivos (NSSP, 2003).

Muitos estudos evidenciam correlação inversa entre as quantidades de *E. coli* na água e nas ostras. Kolm e Absher (2008) compararam a quantidade de *E. coli* em espécies nativas (*C. brasiliana* e *C. rhizophorae*) e na água adjacente onde foram coletadas na Baía de Paranaguá e concluíram que nos meses com maiores índices de coliformes nas ostras (verão), os da água foram menores; Faria (2002), que efetuou estudos com *C. gigas* proveniente de cultivos na Baía da Babitonga (SC) e encontrou valores mais altos de *E. coli* na água no outono e inverno e nas ostras no verão; Siqueira (2008) analisando semente de ostras do gênero *Crassostrea* provenientes do estuário do Rio Vaza-Barris – SE, verificou valores altos de coliformes termotolerantes na água e baixos nas sementes no período chuvoso e relação inversa no período seco; Vieira (2008), analisou coliformes totais e termotolerantes em águas e *C. rhizophorae* provenientes do estuário do Rio Pacoti – CE e evidenciou que a contaminação da água de cultivo foi maior que a das ostras. Entretanto, essas correlações não foram observadas no presente estudo, onde as quantidades de *E. coli* nas ostras e na água foram consistentemente maiores no verão. Segundo Absher (*com. pess.*), a correlação direta encontrada nessa pesquisa pode estar relacionada com o aumento da quantidade de turistas no período de verão, que levam ao aumento da quantidade de esgotos gerados e possivelmente despejados na Baía, sem tratamento prévio. A maré vazante registrada no dia da coleta de verão também pode ter influenciado na quantidade de *E. coli* encontrada

tanto nas ostras como na água superficial, já que segundo Andrews (1979) as ostras possuem capacidade de filtração maior que 400 litros/dia.

Silva *et al* (2003) realizaram, entre março e outubro de 2002, um estudo com *C. rhizophorae*, provenientes de um cultivo localizado no estuário do Rio Cocó-CE. Os autores observaram contaminações entre <1,8 e 920 NMP/g de coliformes fecais nas ostras, valores muito próximos aos encontrados na presente pesquisa, na qual o número mais provável de *E. coli*/g de ostra foi entre 0,86 e 979,7 NMP/g, no tempo 0h de depuração.

Foram realizados ainda muitos trabalhos sobre depuração de bivalves. Dentre eles podem ser citados Fox *et al* (1988), que trabalharam com *Crassostrea virginica* em sistemas fechados de recirculação de água, com uma contaminação inicial de 92 NMP/100g de coliformes fecais. Segundo os autores após 24h de depuração a contaminação caiu para 18 NMP/100g e desta forma eles sugeriram que depois de 48h era de se esperar que as ostras não tivessem mais concentrações significativas de coliformes fecais; Belmonte e Espinosa (1984), trabalhando com *Mytilus chilensis*, observaram que mexilhões com contaminação inicial de 24.000 NMP/100g de coliformes fecais, atingiram 230 NMP/100g após 34h de tratamento; Rowse e Fleet, citados por Souness e Fleet (1991), demonstraram que em 12h de depuração a ostra *Crassostrea commercialis*, com níveis iniciais de 378 cels/g, eliminou toda contaminação de *E. coli* e *Salmonella charity*; Suplicy (1998), observou padrão de eliminação de bactérias fecais pelo mexilhão *Perna perna*, semelhantes aos estudos citados, ratificando os resultados que indicam que a depuração de bactérias fecais ocorre dentro de 48h, com a maior parte da eliminação ocorrendo nas primeiras 24h. Na presente pesquisa, realmente, verificou-se um decréscimo de *E. coli* tanto nas ostras alimentadas, quanto nas não alimentadas, provenientes dos dois pontos, nas primeiras 48h na primavera, no verão e no outono, entretanto os valores do microrganismo voltaram a subir nos demais tempos, tendendo a zerar somente entre as 168 e 192 horas de depuração. Isso pode estar relacionado com a espécie estudada, uma vez que poucos estudos de depuração foram realizados com *Crassostrea rhizophorae* e *Crassostrea brasiliana*, e também com os lotes de organismos escolhidos em cada tempo de depuração. Para realizar as análises, lotes de diferentes organismos foram retirados dos aquários, uma vez que um organismo analisado não poderia ter voltado para o aquário. Dessa forma, existe a

possibilidade de que os organismos analisados, por exemplo, depois 72h de depuração, no outono, sem alimentação tenham tido quantidades maiores de *E. coli* no início do experimento.

Levando-se em consideração a legislação nacional vigente, a Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) somente prevê limites estafilococos coagulase positivos e de *Salmonella* sp. em moluscos bivalves "in natura", resfriados ou congelados, não consumidos crus (BRASIL, 2001). Entretanto, sabe-se que está presente no hábito da população brasileira, a ingestão de ostras cruas ou abertas no bafo. Desta forma, sugere-se que sejam feitas alterações urgentes da legislação, incluindo limites de coliformes termotolerantes e/ou *E. coli* em bivalves a serem consumidos sem cocção.

Já as legislações que vigoram internacionalmente são extremamente rigorosas, levando-se em conta os elevados números de casos de doenças vinculadas ao consumo de alimentos contaminados de origem marinha (YOUNGER *et al.*, 2003). A maioria dos países que produzem e comercializam frutos do mar seguem legislações próprias, tomando como base os mercados da União Européia e os Estados Unidos.

A Diretriz Européia 91/492/EEC, de 15 de julho de 1991 (EEC, 1991), estabelece as normas sanitárias para a produção e a colocação de moluscos bivalves vivos no Mercado Comum Europeu. As áreas para o cultivo são classificadas seguindo padrões de qualidade microbiológica da carne dos moluscos cultivados e divididas em classe A, classe B e classe C. As áreas classificadas como classe A, podem apresentar 90% dos moluscos coletados com concentração de *E. coli* menor que 230 NMP/100g ou 2,30 NMP/g. Nessa classe, os moluscos cultivados nessas áreas podem ser introduzidos no mercado para o consumo humano. A classe B determina que os moluscos cultivados em determinada área não podem exceder 4.600 NMP de *E. coli* por 100g ou 46 NMP/g. Os moluscos provenientes da classe B somente poderão ser colocados à venda após um tratamento em centros de purificação ou após transposição em áreas classificadas como A por determinado tempo descrito pela diretriz. As áreas nas quais os moluscos cultivados apresentam um número entre 6.000 NMP e 60.000 NMP de coliformes fecais por 100g de carne, são classificadas como classe C. A produção de bivalves em áreas de classe C, obrigatoriamente, deve passar por um período

mínimo de dois meses de transposição, juntamente com um tratamento de purificação (EEC, 1991). Tomando por base essa legislação, somente as ostras analisadas no inverno, no tempo 0h de depuração (equivalente ao valor real de contaminação no momento da retirada dos organismos do cultivo), tanto no ponto interno, como no externo, calculando a média de 6 indivíduos analisados, podem ser atribuídas à classe A. Porém, como houve um erro nas diluições durante esse experimento de inverno, esses valores não podem ser considerados confiáveis. Os demais períodos estudados apresentaram contaminação entre 979,7 NMP/g (primavera, ponto interno) e 112,2 NMP/g (primavera, ponto externo).

Pouca informação sobre perda de peso durante a depuração foi encontrada da literatura. Suplicy (1998) trabalhou com depuração de *Perna perna* e creditou a perda de peso às desovas ocorridas durante o processo de depuração. Estudos realizados por Belmonte e Espinosa (1984) com o mexilhão *Mytilus chilensis*, mostram que após 25 horas de depuração ocorreu uma desova que causou turbidez da água dentro dos tanques e levou os autores a renovar toda a água após 44 horas de iniciado o processo. No presente estudo, pôde ser observada a presença de água turva, durante a lavagem dos aquários, e a perda de peso foi verificada em quase todos os tempos de depuração, desde o início (48h) até 192h. A perda de peso causada pela desova durante a depuração implica prejuízos ao produtor, e, ainda segundo Suplicy (1998), uma alteração visual dos mexilhões após o cozimento, que pode prejudicar a imagem do produto perante o consumidor. Sugere-se que sejam realizados estudos com ostras para verificar se elas também mudam o visual após o cozimento.

## 6 CONCLUSÕES E SUGESTÕES

- A contaminação da água onde são feitos os cultivos foi maior no verão e consistentemente maior no ponto externo.
- A perda de peso das ostras foi verificada em quase todos os tempos de depuração, desde o início (48h) até 192h.
- A adição de alimento somente foi significativa na variação do peso das ostras no outono e no inverno;
- O tempo de depuração foi o único fator que influenciou no peso das ostras durante
- Ao longo do período estudado houve variação significativa da quantidade de *E. coli* nas ostras, com valores mais elevados no verão;
- As ostras adquiridas do ponto interno apresentaram maior contaminação por *E. coli* que as do ponto externo;
- Os maiores valores de *E. coli* nas ostras foram registrados no início do experimento (0h) e os menores depois de 48h;
- A adição ou não de alimento não foi significativa com relação à quantidade de *E. coli* nas ostras durante todo tempo de depuração e todas as coletas realizadas;
- A quantidade de *E. coli* nas ostras tende a zerar entre as 168h e 192h de depuração;
- A pesquisa evidenciou correlação direta entre as quantidades de *E. coli* na água e nas ostras;
- As análises de água e de ostras indicam que a falta de um sistema de coleta e tratamento de esgotos sanitários está influenciando a qualidade da água destinada à maricultura na Baía de Guaratuba;
- Sugere-se que sejam realizados outros estudos de depuração de ostras da região, utilizando *C. rhizophorae* e *C. brasiliiana*;

- Sugere-se que sejam realizados novos estudos sobre a correntometria da Baía de Guaratuba, com a finalidade de entender qual a movimentação dos poluentes e contaminantes na baía;
- Alterações urgentes devem ser feitas na legislação brasileira, incluindo limites de coliformes termotolerantes e/ou *E. coli* em bivalves a serem consumidos crus;
- Depurações de ostras devem durar pelo menos 168 horas nas depuradoras que estão sendo implantadas no litoral do Paraná.

## REFERÊNCIAS

AKABOSHI, S. Notas sobre o comportamento da ostra japonesa, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1975), no litoral do Estado de São Paulo. **Boletim do Instituto de Pesca**. São Paulo. v.6, p 93-104. 1979.

ANDREWS, J.D. **Pelecypoda: Ostreidae**. In: *Reproduction of Marine Invertebrates*. New York. Academic Press. 1979.

ANGULO, J.R. **Geologia da planície costeira do Estado do Paraná**. 334f. Tese (Doutorado em Geociências) - Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1992.

ARAUJO, S. de C., PEREIRA, A. **A biologia e cultivo de ostras: Aspectos de comercialização**. Florianópolis, UFSC. 1998.

ASSAD, L.T., BURZTYN, M. **Aqüicultura no Brasil: Bases para um desenvolvimento sustentável**. Brasília, CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia. 2000.

BEIRÃO, H., TEIXEIRA, E., MEINERT, E.M., *et al.*(2000). **Processamento e Industrialização de Moluscos**. Campinas, ITAL, Centro de Tecnologia de Carnes. 2000.

BELMONTE, M. S., ESPINOSA, R. V. Reducción de la contaminación fecal em moluscos bivalvos mediante purificación controlada. **Investigación Pesquera**. v:31, p. 95-1023. 1984.

BOFFI, A.V. **Moluscos brasileiros de interesse médico e econômico**. São Paulo, Editora Hucitec, 1979.

BORREGO, J. J., MARTINEZ-MANZANARES, E., EGEA, F., CASTRO, D., MORINIGO, M. A. Accumulation and depuration of pathogenic and indicator microorganisms by the bivalve mollusc, *Chamelea gallina*, under controlled laboratory conditions. **Journal of Food Protection**. v: 54, n 8, p: 612-618. 1991.

BOYD, C. E. Chlorination and water quality in aquaculture ponds. **World Aquaculture**. v. 27, n. 3, p. 41-45. 1996.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) – **Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001.**

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) – **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005.**

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) – **Censo 2007.** Disponível em: [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br). Acesso em: 12/06/2008.

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.

CALDEIRA, G. A. **Diagnóstico sócio-econômico e caracterização dos parques ostreícolas das populações tradicionais do Complexo Estuarino de Paranaguá - Paraná - Brasil: subsídios para o gerenciamento da atividade.** 151 f. Monografia (Oceanografia) Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná. 2004.

CAMARGO, R., MARONE, E., SILVA DIAS, P. L. **Detecção de Sinal de brisa no registro de vento de Pontal do Sul (PR).** IX CONGRESSO BRASILEIRO DE METEOROLOGIA. **Anais...** p.1036-1040, Campos do Jordão.1996.

CHRISTO, S. W. **Bilogia reprodutiva e ecologia de ostras do gênero *Crassostrea sacco*, 1897 na Baía de Guaratuba (Paraná – Brasil):** Um subsídio ao cultivo. 137f. Tese (Doutorado em Ciências). Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas – Zoologia, Universidade Federal do Federal, Curitiba. 2006.

CLAYTON, W.E.L. Microbial Source Tracking- The use of new research tools for the identification and tracking of bacterial pollution sources affecting shellfish culture opportunities. **Marine Ecosystems and Aquaculture Division, Fisheries and Oceans** n. 97, Canadá. 2006.

CORRÊA, A. de A. **Estudo sobre a dinâmica de depuração de ostras de cultivo (*Crassostrea gigas*) artificialmente contaminadas com *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium.** 112f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2006.

EEC. **Council Directive of 15 July 1991.** Disponível em: <<http://vm.cfsan.fda.gov/~acrobat/hp91492.pdf>>. Acesso em: 01/10/2008. 1991.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **El estado mundial de la pesca e acuicultura (2004)** (SOFIA). Disponível em: [http://www.fao.org/documents/show\\_cdr.asp?url\\_file=//docrep/007/y5600s/y5600s04.htm@P376\\_27339](http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=//docrep/007/y5600s/y5600s04.htm@P376_27339). Acesso em 18/02/2008.

FARIA, J. M. **Estudo da qualidade bacteriológica das água e das ostras (*Crassostrea gigas*) cultivadas na Baía da Babitonga e sua adequação para fins de consumo**. 68f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Meio Ambiente) – Programa de Mestrado em Saúde e Meio Ambiente, Universidade da Região de Joinville, Joinville. 2002.

FORCELINI, H. C. D. **Coliformes totais e *Escherichia coli* no tecido das ostras comercializadas no Mercado Municipal de Guaratuba, Paraná – Brasil**. 47 f. Monografia (Oceanografia) - Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná. 2006.

FOX, J. M; CHAUVIN, A. L. Depuration of oysters in a closed recirculating system. **Water Management**. v:8, p. 36-39. 1988.

HOLT, J.G. (1994). **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9 ed. Lippincott Williams & Wilkins, 816p. 1994.

KINNE, O. **Diseases of marine animals**. Biologische Anstalt Helgoland. Hamburg, v.2. 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**. São Paulo, v.34, n.1, p.49 – 59. 2008.

KOLM, H. E., SANTOS, R. N. M., SAUTTER, K. D. Bacteria in water and sediments of Guaratuba Bay, Paraná, Brazil. **Tropical Oceanography**. Recife, v. 35, n. 1, p. 51-69. 2007.

LIANG, L.N., HE, B., JIANG, G.B., CHEN, D.Y., YAO, Z.W. Evaluation of mollusk as biomonitors to investigate heavy metal contamination along the Chinese Bohai Sea. **Science of Total Environment**. v. 324, p. 105-113. 2004.

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**. 206 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Produção). Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2002.

MAFRA, T. V. **Caracterização da atividade de ostreicultura no município de Guaratuba – Paraná – Brasil**. Monografia (Oceanografia) - Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná. 2007.

MARTINS, V. B., KOSAWA, A., PAULS, E. Organismos Aquáticos como Bioindicadores da Qualidade Ambiental com enfoque no mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1798), em Niterói-RJ. **Mundo & Vida**. v: 3, p:108-116. 2002.

MIRANDA, M.B.B., GUZENSKI, J. Cultivo larval da ostra do mangue *Crassostrea rhizophorae* (Gulding 1828), em diferentes condições de temperatura, salinidade e densidade. **Arquivos de Ciências do Mar**. Fortaleza v. 32, p. 73-84. 1999.

MONTEIRO, C. A. F. **Clima**. In: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: Geografia do Brasil. Rio de Janeiro, IBGE. 1963.

NATIONAL SHELLFISH SANITATION PROGRAM – NSSP. **Guide for the Control of Molluscan Shellfish**. Disponível em: < <http://www.cfsan.fda.gov/>>. Acesso em: 12/04/2008. 2003.

NOERNBERG, M. A., MARONE, E., LAUTERT, L. F. de C., BRANDINI, N., ANGELOTTI, R. **Caracterização da estratificação salina na Baía de Guaratuba-PR**. CONGRESSO BRASILEIRO DE OCEANOGRAFIA. **Anais...** p.224, Itajaí. 2004.

PANORAMA DA AQUICULTURA. **Panorama da malacologia**. v.11, n.64, p. 25-35. 2001.

PARANÁ. **Instituto Ambiental do Paraná (IAP)**. Disponível em: [http://www.iap.pr.gov.br/arquivos/File/Boletim\\_Litoral\\_Num18.pdf](http://www.iap.pr.gov.br/arquivos/File/Boletim_Litoral_Num18.pdf). Acesso em: 22/01/2008.

PAREJO, C.B. **Moluscos – Tecnología de Cultivo**. Madrid, Ed. Mundi-prensa. 1989.

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. **Braz. J. Microbiol.** v.37, p.159-163. 2006.

POLLI, C.R. **O cultivo de ostras no Brasil**. In: Cultivo de moluscos marinhos. UFSC, Florianópolis. 1999.

POLLI, C.R., POLI, A.T.B., MAGALHÃES, A.R.M., SILVA, F.C., SILVEIRA JR, N. **Viabilidade do cultivo de ostras consorciado com cultivo de camarão**. Relatório Final. Florianópolis, USFC, 282p. 1988.

RANA, K. Recent Trends in global aquaculture production: 1984-1995. **FAO Aquaculture Newsletter**. Rome, v.16, p.14-19. 1997.

RANA, K., PEROTTI, M., PEDINI, M., TACON, A. Major trends in global aquaculture production: 1984-1994. **FAO Aquaculture Newsletter**. Rome, v.13, p.09-12. 1996.

RICHARDS, G. P. **Shellfish Depuration**. In: Microbiology of Marine Food Products. New York, p. 395-428. 1991.

RICHARDS, G. P. **The evolution of molluscan shellfish safety**. In. Molluscan Shellfish Safety, Santiago de Compostela: Consellería de Pesca y Asuntos Marítimos de Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. **Anais...** Santiago de Compostela. 2003.

RICHARDS, G.P. Microbial Purification of Shellfish: a review of depurations and relaying. **Journal of Food Protection**. v. 51, p.218-251. 1988.

RIGOTTO, C. **Proposta da utilização de adenovírus como Indicadores de contaminação viral humana em ostras de cultivo**. 117f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2003.

RIOS, E.C. (1994). **Seashells of Brazil**. 2 ed., Editora FURG, Rio Grande. 1994.

ROCZANSKI, M., COSTA, S.W., BOLL, M.G., OLIVEIRA NETO, F.M. **A evolução da aquicultura no Estado de São Paulo – Brasil**. In: Aquicultura Brasil 2000, **Anais...** Florianópolis. 2000.

RODRICK, G.E.; SCHNEIDER, K. R. **Molluscan Shellfish Depuration**. In: Molluscan Shellfish Safety, Santiago de Compostela: Consellería de Pesca y Asuntos Marítimos de Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. **Anais...** Santiago de Compostela. 2003.

SABRY, R. C. **Parasitas em ostras de cultivos (*Crassostrea gigas* e *Crassostrea rhizophorae*) da Ponta do Sambaqui, Florianópolis – SC**. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2003.

SANTOS, P. R. N. de M. dos. **Variação espaço-temporal do bacterioplâncton e espacial do bacteriobentos da baía de Guaratuba, Paraná, Brasil.** 87p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2003.

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

SIQUEIRA, K. L. F. **Avaliação do sistema de cultivo de ostra do gênero *Crassostrea* (SACCO, 1897) no estuário do Rio Vaza-Barris (Sergipe).** 76f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Meio Ambiente) – Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente, Universidade de Tiradentes, Aracaju. 2008.

SOARES, C. R., ANGULO, R. J., LESSA, G. C. **Roteiro de excursão ao litoral do estado do Paraná. Morfodinâmica de ambientes atuais, evolução da planície durante o quaternário e problemas de erosão costeira.** In: VI CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ESTUDOS DO QUATERNÁRIO E REUNIÃO SOBRE O QUATERNÁRIO DA AMÉRICA DO SUL. **Anais...** Curitiba. 1997.

SOARES, C. R., CAMARGO R., MARONE, E. O problema de assoreamento na Marina do Sol, Município de Guaratuba (PR). **Bol. Paran. Geoc.** v.43, p. 61-77. 1995.

SOUNESS, R. A., FLEET, G. H. **Bacterial agents in shelfish depuration.** In: Molluscan Shellfish Depuration, Florida, CRC Press Inc. 1991.

STRICKLAND, J. D., PARSONS, T.R. A. Practical handbook of sea water analysis. **Bull. Fish. Res. Bd Can.** v.167. 1968.

SUPLICY, F. M. (1998). **Ensaio sobre a depuração do mexilhão *Perna perna* (L.,1758).** 81f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Departamento de Aqüicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 1998.

TEIXEIRA, W., TOLEDO, M. C. MOTTA. de, FAIRCHILD, T. R., TAIOLI, F. **Decifrando a Terra.** São Paulo, Oficina de Textos, 558p. 2003.

TESSLER, M. G., GOYA, S. C. Processos Costeiros Condicionantes do Litoral Brasileiro. **Revista do Departamento de Geografia,** v 17, p 11-23, São Paulo. 2005.

TODESCHINI, M. E. **Dinâmica espacial e temporal das características físicas e químicas do Rio Cubatão e ordenação espacial da bacia hidrográfica.** Dissertação (Mestrado em Geologia Ambiental) - Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2004.

TORTORA, G.J., FUNK, B.R., CASE, C.L. **Bactérias** In: Microbiologia, 6ª ed., Artes Médicas Sul, Porto Alegre, p. 295-319. 2002.

TRABULSI, L. R., ALTYERTHUM, F. GOMPERTZ, O. F., CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia.** 3ª Edição. São Paulo. Ed. Atheneu. 2002.

UNESCO - Organização das Nações Unidas – **Oxygen Solubility in Sea Water.** Table IV. International Oceanographic Tables. Volume 2, 141p. + XVI. 1973.

UPADHYAYA, G. S., CURRY, R. D., NICHOLS, L., CLEVINGER, T.E., McDONALD, K.F. The Design and Comparison of Continuous and Pulsed Ultraviolet Reactors for Microbial Inactivation in Water. **Transactions on Plasma Science.** v. 32, n. 5. 2004.

VIEIRA, R. H. S dos F., ATAYDE, M, A., CARVALHO, E. M. R. de, FONTANELES FILHO, A. D. Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): Isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.** v. 45, n. 3, p. 180-189. 2008.

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática.** Ed. Varela, São Paulo, 380p. 2004.

VILLALOBOS, L.B., ELQUEZABAL, L. Detección de posible *Escherichia coli* enteropatógena en el bivalvo *Pinctada imbricata* comercializado en Cumaná, Venezuela. **Bol. Inst. Oceanogr.** v.39, p. 17-23, Venezuela. 2000.

WARD, J. E. Biodynamics of suspension-feeding in adult bivalve molluscs: particle capture, processing and fate. **Invertebrate Biology.** v.115, n.3, p. 218-231. 1996.

YEN, I. C., ASTUDILLO, L.R., SOLER, J.F., BARBERA-SÁNCHEZ, A. Paralytic shellfish poisoning toxin profiles in green mussels from Trinidad and Venezuela. [Journal of Food Composition and Analysis](#), v. 19, n. 1, p. 88-94. 2005.

YOUNGER, A. D., LEE, R.J., LEES, D.N. **Microbiological Monitoring of bivalve shellfish harvesting areas in England and Wales – rational and approach.** In: Molluscan Shellfish Safety. Santiago de Compostela: Conselleria de Pesca da Xunta

de Galícia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, **Anais...** Santiago de Compostela. 2003.

ZEM, R. C. **Dinâmica sedimentar na Baía de Guaratuba.** Monografia (Oceanografia) - Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná. 2005.

## ANEXOS

ANEXO 1 - Dados brutos dos parâmetros físico-químicos, *E. coli*, maré e pluviosidade utilizados na Análise dos Componentes Principais (PCA).

Coleta_Ponto	Temp.	Sal.	pH	<i>E. coli</i> água	Seston mg/L	OD%	Pluv.	MOP mg/L	Maré	<i>E. coli</i> ostra
Primavera_Interno	24	19	7,31	147	144,8	125,23	79,4	0,1224	73,49	841,6305
Primavera_Interno	24	20	7,35	175,66	143	121,721	79,4	0,1239	73,49	992,3805
Primavera_Interno	25	21	7,39	52	192,8	130,8073	79,4	0,1227	73,49	1105,35
Primavera_Externo	25	23	7,61	118,33	106	150,9782	79,4	0,1235	84	44,7135
Primavera_Externo	25	22	7,7	28,33	106	158,6896	79,4	0,1243	84	50,574
Primavera_Externo	25	22	7,75	38,66	100,3	154,7369	79,4	0,1245	84	241,3435
Verão_Interno	26,5	13	7,28	293,33	256,6	86,0342	109,4	0,1223	63,8	1098,65
Verão_Interno	27	13	7,33	538,66	254,8	94,3494	109,4	0,1216	63,8	796,215
Verão_Interno	27	12	7,34	2043,66	274,5	90,50771	109,4	0,1223	63,8	789,355
Verão_Externo	27	15	7,75	2043,66	259,2	117,6577	109,4	0,1208	59	715,69
Verão_Externo	27	14	7,66	2289	253,1	117,3766	109,4	0,1209	59	891,315
Verão_Externo	27	15	7,78	645	256,8	114,6592	109,4	0,1208	59	876,89
Outono_Interno	23	21	7,63	184,66	53,8	139,6741	129,5	0,1204	26,16	349,625
Outono_Interno	24	23	7,62	165	55	126,1322	129,5	0,1202	26,16	260,01
Outono_Interno	23,5	23	7,63	191	53,6	123,299	129,5	0,1208	26,16	1183,765
Outono_Externo	22,5	19	7,9	291	41	170,7009	129,5	0,121	31,35	436,715
Outono_Externo	22	18	7,92	404,33	45,7	155,8281	129,5	0,121	31,35	261,12
Outono_Externo	23	17	7,99	326,33	48,9	164,5752	129,5	0,121	31,35	190,43
Inverno_Interno	19	27	7,95	40,66	15,7	53,06178	4,6	0,1217	84,49	0,235
Inverno_Interno	19	28	7,99	36,66	17	76,08441	4,6	0,1247	84,49	1,195
Inverno_Interno	18,5	29	8,02	32,66	20,4	49,596	4,6	0,1244	84,49	1,15
Inverno_Externo	19,5	34	8,23	76,66	28,3	75,1919	4,6	0,1264	100,2	3,485
Inverno_Externo	19	35	8,27	51,66	28,6	67,91011	4,6	0,1256	100,2	4,125
Inverno_Externo	19	35	8,27	88,66	24,6	74,08947	4,6	0,1245	100,2	3,52

ANEXO 2 – Valores brutos do ganho ou perda de peso das ostras durante a depuração realizada na primavera. S/A = sem alimentação, C/A = com alimentação.

<b>Ponto</b>	<b>Tempo</b>	<b>Aquário</b>	<b>Ganho/Perda peso S/A (g)</b>	<b>Ganho/Perda peso C/A (g)</b>
Ponto Externo	48h	1	0,536667	0,413333
		2	0,530000	0,673333
		3	0,740000	0,826667
	72h	1	0,903333	1,076667
		2	1,093333	0,833333
		3	0,676667	1,350000
	96h	1	0,763333	1,163333
		2	1,383333	0,656667
		3	1,163333	0,843333
	120h	1	1,090000	1,533333
		2	1,816667	1,593333
		3	1,590000	1,530000
	168h	1	1,016667	0,396667
		2	0,673333	0,280000
		3	0,256667	0,436667
	192h	1	0,483333	0,653333
		2	0,736667	0,606667
		3	0,690000	0,713333
Ponto Interno	48h	1	0,760000	-0,436667
		2	0,710000	0,590000
		3	1,116667	0,886667
	72h	1	1,243333	1,003333
		2	1,173333	1,370000
		3	1,453333	1,433333
	96h	1	1,230000	1,883333
		2	1,160000	1,433333
		3	1,473333	1,836667
	120h	1	0,313333	2,036667
		2	2,240000	2,703333
		3	2,446667	2,273333
	168h	1	1,803333	0,586667
		2	0,096667	0,523333
		3	0,563333	-0,553333
	192h	1	0,570000	0,663333
		2	1,480000	-0,360000
		3	0,710000	0,483333

ANEXO 3 – Valores brutos do ganho ou perda de peso das ostras durante a depuração realizada no verão. S/A = sem alimentação, C/A = com alimentação.

Ponto	Tempo	Aquário	Ganho/Perda peso S/A (g)	Ganho/Perda peso C/A (g)
Ponto Externo	48h	1	1,01667	0,50000
		2	0,49000	1,23000
		3	0,56667	0,63667
	72h	1	1,57000	1,15667
		2	1,67333	1,52333
		3	1,44000	1,50667
	96h	1	1,63667	3,73000
		2	1,91667	2,96333
		3	1,84000	1,81333
	120h	1	2,54333	3,01333
		2	3,07000	2,37667
		3	2,31000	2,57667
	168h	1	0,33667	0,95000
		2	0,22667	1,12333
		3	0,59000	0,15667
192h	1	1,16333	0,80000	
	2	0,79000	1,97333	
	3	0,54667	-1,36667	
Ponto Interno	48h	1	0,73000	0,98333
		2	0,04333	-2,26333
		3	0,77000	-0,99333
	72h	1	2,79333	1,41667
		2	1,74667	1,76667
		3	2,18667	1,53333
	96h	1	2,66000	0,17000
		2	2,14000	2,54333
		3	1,99000	2,07333
	120h	1	0,52000	2,47333
		2	1,90333	2,16667
		3	2,57000	2,78667
	168h	1	0,02000	1,39333
		2	0,56333	0,55000
		3	1,19333	-0,11333
192h	1	0,59000	-2,15333	
	2	0,83667	1,07000	
	3	-1,36667	1,47000	

ANEXO 4 – Valores brutos do ganho ou perda de peso das ostras durante a depuração realizada no outono. S/A = sem alimentação, C/A = com alimentação.

Ponto	Tempo	Aquário	Ganho/Perda peso S/A (g)	Ganho/Perda peso C/A (g)
Ponto Externo	48h	1	1,31667	1,00333
		2	1,07000	1,00000
		3	4,07000	1,64667
	72h	1	1,30333	1,08000
		2	1,49000	1,33667
		3	2,53000	1,70667
	96h	1	1,54667	1,91333
		2	1,75667	1,40333
		3	2,71000	2,89333
	120h	1	3,01667	1,45333
		2	2,78667	2,03333
		3	2,39667	3,30333
	168h	1	0,07000	1,13000
		2	2,30000	1,61667
		3	1,97667	1,59000
	192h	1	1,44333	0,66667
		2	4,72000	1,39000
		3	2,05667	1,09333
Ponto Interno	48h	1	-1,12667	0,76667
		2	-1,23333	1,26667
		3	-1,58333	2,98000
	72h	1	-1,48333	1,18333
		2	-1,82333	0,96667
		3	-1,86000	3,51333
	96h	1	1,09667	1,26667
		2	-1,10667	1,76000
		3	-1,43667	3,48667
	120h	1	-0,78333	1,57333
		2	-1,25667	0,56667
		3	0,72333	4,47000
	168h	1	-0,52000	1,08000
		2	0,15000	1,15333
		3	1,76333	4,86000
	192h	1	-1,12333	0,85000
		2	0,36667	0,65333
		3	1,18333	3,02667

ANEXO 5 – Valores brutos do ganho ou perda de peso das ostras durante a depuração realizada no inverno. S/A = sem alimentação, C/A = com alimentação.

Ponto	Tempo	Aquário	Ganho/Perda peso S/A (g)	Ganho/Perda peso C/A (g)
Ponto Externo	48h	1	0,22667	1,49333
		2	-1,74000	0,61000
		3	0,13000	0,63333
	72h	1	0,92667	0,96333
		2	0,34333	0,56667
		3	0,54000	1,20333
	96h	1	1,04333	1,45000
		2	0,67000	0,42000
		3	0,94333	0,80667
	120h	1	0,71333	1,06667
		2	0,91667	0,68000
		3	1,33000	0,71333
	168h	1	0,08333	-0,03667
		2	0,55333	1,51333
		3	0,36000	1,67000
	192h	1	0,35667	1,06000
		2	0,25667	0,67000
		3	1,07333	0,91333
Ponto Interno	48h	1	0,80667	0,41667
		2	0,66000	1,12667
		3	0,48000	0,44000
	72h	1	0,76667	0,95667
		2	0,92000	-2,20000
		3	0,97333	1,19000
	96h	1	1,44333	1,30667
		2	1,00667	1,20000
		3	1,08667	1,89333
	120h	1	0,85333	1,58333
		2	0,98000	1,88000
		3	1,20000	1,82000
	168h	1	-0,28000	0,93000
		2	-2,39667	0,69000
		3	-0,80333	1,22000
	192h	1	-1,19000	1,47000
		2	-1,47000	0,75000
		3	-1,54000	0,86000

ANEXO 6 – Valores brutos de *E. coli* ao longo do período de depuração das ostras coletadas na primavera. S/A = sem alimentação, C/A = com alimentação, 1, 2 e 3 = réplicas.

		0 h	48 h	72 h	96 h	120 h	168 h	192 h
Ponto Externo	S/A1	43,48	0,658	3,686	127,45	351,30	2,044	0,6434
	S/A2	45,947	0,5212	13,658	2,060	320,474	0,206	1,115
	S/A3	23,435	1,321	11,951	2,646	1,667	1,131	0,314
	C/A1	77,713	0,487	544,097	0,612	0,863	2,215	0,306
	C/A2	69,111	0,643	4,943	0,553	6,981	5,200	0,197
	C/A3	413,576	0,681	1,790	1,910	0,665	0,783	0,84
Ponto Interno	S/A1	1091,973	54,434	9,357	781,272	263,883	52,862	259,031
	S/A2	591,288	1,280	32,631	434,433	76,314	29,340	106,176
	S/A3	808,485	1,908	21,275	496,356	67,823	71,290	72,004
	C/A1	1176,276	8,108	609,624	41,192	45,489	110,703	31,027
	C/A2	1107,875	8,463	82,510	36,833	27,136	76,072	22,746
	C/A3	1102,825	6,803	31,151	26,956	27,481	51,796	18,642

ANEXO 7 – Valores brutos de *E. coli* ao longo do período de depuração das ostras coletadas no verão. S/A = sem alimentação, C/A = com alimentação, 1, 2 e 3 = réplicas.

		0 h	48 h	72 h	96 h	120 h	168 h	192 h
Ponto Externo	S/A1	884,14	4,20	14,50	8,78	435,96	173,07	83,64
	S/A2	547,24	9,53	9,62	9,65	368,84	200,63	6,93
	S/A3	835,62	4,05	75,76	41,74	286,02	246,64	63,05
	C/A1	947,01	208,71	25,94	30,40	902,83	212,99	63,03
	C/A2	1237,78	202,55	8,27	94,20	287,85	199,30	76,02
	C/A3	516,00	23,20	21,68	56,41	378,65	144,98	100,16
Ponto Interno	S/A1	1382,62	179,56	14,92	506,69	452,46	39,10	281,99
	S/A2	814,68	86,43	22,07	349,03	689,34	20,26	17,49
	S/A3	892,84	98,84	701,33	344,74	597,43	79,72	287,87
	C/A1	699,59	18,57	722,26	348,78	564	31,69	95,03
	C/A2	725,07	66,20	520,34	240,83	417,56	9,66	646,95
	C/A3	853,64	1466,42	517	155,33	587,28	66,27	383,38

ANEXO 8 – Valores brutos de *E. coli* ao longo do período de depuração das ostras coletadas no outono. S/A = sem alimentação, C/A = com alimentação, 1, 2 e 3 = réplicas.

		0 h	48 h	72 h	96 h	120 h	168 h	192 h
Ponto Externo	S/A1	399,26	5,86	1273,51	0	3,06	136,21	6,99
	S/A2	474,17	2,15	3,19	1,75	1,47	170,66	12,17
	S/A3	91,35	5,61	5,71	1,35	1,06	199,62	4,14
	C/A1	430,89	1,02	0	2,38	2,78	156,85	5,97
	C/A2	152,47	3,69	11,86	1,35	1,06	46,36	3,82
	C/A3	228,39	2,81	4,7	2,3	0,85	184,55	4,49
Ponto Interno	S/A1	628	54,88	1448,86	2,97	5,19	303,24	12,73
	S/A2	71,25	54,33	1753,33	9,43	1,63	95,54	1,39
	S/A3	211,98	76,6	750,17	1,24	0,16	80,21	1,91
	C/A1	308,04	15,47	975,64	3,57	0,56	142,32	2,88
	C/A2	917,68	18,28	13,7	3,21	0,81	437,67	1,78
	C/A3	1449,85	14,55	17,38	4,26	4,65	320,88	9,41

ANEXO 9 – Valores brutos de *E. coli* ao longo do período de depuração das ostras coletadas no inverno. S/A = sem alimentação, C/A = com alimentação, 1, 2 e 3 = réplicas.

		<b>0 h</b>	<b>48 h</b>	<b>72 h</b>	<b>96 h</b>	<b>120 h</b>	<b>168 h</b>	<b>192 h</b>
Ponto Externo	S/A1	6,97	0	320,9	265,94	425,77	0,56	396
	S/A2	0	2,53	108,88	1,47	362,42	0,21	83,47
	S/A3	5,98	0	314,83	29,89	724,43	1,98	19,28
	C/A1	2,27	0	78,74	0,86	510,46	1,39	31,9
	C/A2	7,04	1,21	566,3	2,85	142,38	2,29	317,32
	C/A3	0	0	333,28	53,16	580,23	4,1	370,27
Ponto Interno	S/A1	0	0	224,03	178,14	275,89	283,65	30,55
	S/A2	0,47	0	186,5	115,57	225,28	221,19	200,46
	S/A3	1,48	0	211,98	212,43	278,11	165,52	238,14
	C/A1	0,91	0	183,36	31,49	274,33	259,3	36,56
	C/A2	0,48	0	277,47	230,43	267,95	322,61	10,1
	C/A3	1,82	2,59	313,01	264,72	356,87	221,88	42,56