

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA

ALINE NUNES GARCIA

CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA
NA ÁREA DE CULTIVO DE MOLUSCOS BIVALVES DE ANCHIETA
(ESPÍRITO SANTO, BRASIL)

VITÓRIA

2005

ALINE NUNES GARCIA

CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA
NA ÁREA DE CULTIVO DE MOLUSCOS BIVALVES DE ANCHIETA
(ESPÍRITO SANTO, BRASIL)

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Oceanografia do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Oceanografia.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Fonseca Barroso

VITÓRIA

2005

ALINE NUNES GARCIA

CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA
NA ÁREA DE CULTIVO DE MOLUSCOS BIVALVES DE ANCHIETA
(ESPÍRITO SANTO, BRASIL)

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Oceanografia do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Oceanografia.

Aprovada em ____ de _____ 2005.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Gilberto Fonseca Barroso
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador

Prof. Dr. Renato Rodrigues Neto
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dra. Rosebel Cunha Nalesso
Universidade Federal do Espírito Santo

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Em especial, agradeço:

Ao CNPq por ter financiado este projeto e ao DERN por ter disponibilizado o laboratório para as análises;

Ao Rildo por ter sido prestativo e ajudado nas amostragens de campo, nos conduzindo de barco até a área de estudo e me ajudando, principalmente, nas coletas de mexilhões;

Aos colegas, Eduardo (Concha), Carlos Alexandre (Baiano) e Philipi (Pinto) pelos bate papos durante as viagens a campo e auxílio durante as amostragens;

Ao meu namorado, Rafa, pela ajuda no SPSS e pelas sugestões e opiniões e, principalmente, pelo apoio e companhia, ficando, muitas vezes, até altas horas no laboratório me incentivando e ajudando no que eu precisasse;

Aos amigos Jacson e Rafael (Almeidinha), pelas idéias e discussões que foram de grande importância;

Ao meu orientador, Gil, pela atenção e apoio que me foram dados durante todo o estudo e pela amizade que se estabeleceu durante esse período de convivência;

Ao professor Jean, não só pela amizade, mas por ter me agüentado em sua sala durante vários momentos, usando inclusive o seu computador;

As professoras Ieda e Viviane que sempre me ajudaram;

Aos colegas Felipe (Cachoeiro), Mariana e Ana Cláudia pelos momentos de descontração; e

A minha família pela força e incentivo, que não me deixaram desanimar.

Sem vocês, tudo seria diferente! Obrigada.

"AOS MEUS PAIS, OS EXEMPLOS DA
MINHA VIDA."

RESUMO

O cultivo de moluscos bivalves vem sendo desenvolvido no município de Anchieta, sul do Espírito Santo, em escala comercial para o mexilhão *Perna perna* e experimental para a ostra *Crassostrea gigas*. A área de cultivo de Anchieta localiza-se em um ambiente marinho/estuarino sob influência do rio Benevente, o qual tem recebido contribuições de efluentes domésticos. Neste estudo, desenvolvido como sub-projeto do Grupo Temático Maricultura Sustentável (Instituto do Milênio – Projeto Uso e Apropriação de Recursos Costeiros), foram realizadas análises microbiológicas na área de cultivo de Anchieta para fins de avaliação da qualidade sanitária. O estudo foi desenvolvido durante o ano de 2004, com amostragens mensais em quatro estações, das quais uma está localizada na foz do rio Benevente e outra no interior da área de cultivo; sendo as outras duas localizadas próximas a esta área. Os resultados demonstraram indícios de contaminação microbiológica tanto na água como na carne dos mexilhões. Análises de coliformes fecais realizadas na água, coletada no interior do cultivo, apresentaram em média 404 ± 710 NMP/100mL ($n=11$), sendo observados valores entre <2 e 2.200 NMP/100mL. Na mesma estação amostral a concentração média de enterococos foi 200 ± 344 NMP/100mL. Os valores de coliformes fecais e enterococos nos tecidos dos mexilhões alcançaram, respectivamente, concentrações de até 500 NMP/g e 240 NMP/g, ambas ocorridas no mês de junho. Os altos índices alcançados por estes microrganismos servem de alerta já que a presença destes consiste em um potencial indicador de diversos agentes etiológicos, podendo, inclusive interferir na balneabilidade das praias. Apesar da concentração média de bactérias entéricas na água ultrapassarem a concentração máxima permitida pela legislação no que tange a prática da aquicultura, a concentração média dessas bactérias nos tecidos dos mexilhões esteve abaixo do limite máximo permitido, o que, teoricamente, significa que o consumo destes mariscos não trazem riscos à saúde dos consumidores. Porém, por se tratar de organismos filtradores e, portanto, com capacidade de reter em seus tecidos os microrganismos (e.g. bactérias e vírus) presentes na água, faz-se necessário implementação de um programa de monitoramento e adoção de técnicas de depuração na região para detectar possíveis contaminações nos moluscos bivalves.

ABSTRACT

Farming of bivalve mollusks has been developed in the municipal district of Anchieta, south of the Espírito Santo State, in commercial scale for the brown mussel *Perna perna* and experimentally for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. The Anchieta farming site is subjected to located in the estuarine area of the Benevente river, which has been receiving a domestic sewage out flow. In this study, developed as sub-project of the Thematic Group of sustainable Mariculture (Millennium Institute - Use and Appropriation of Coastal Resources), project microbiological analyses carried out in the farming site aiming to of evaluate its sanitary quality. The study was developed during the year of 2004, with monthly samplings in four sampling sites, one of which is located in the mouth of the Benevente river and the others whiten the cultivation area. Bacterial concentrations in the water and in the mussels flesh indicated mivrobiological contamination. Faecal coliforms in the water of the farming site showed an average of with 404 ± 710 MPN/100mL (n=11), the range of <2 and 2.200 NMP/100mL. This sampling site average concentration of enterococci was 200 ± 344 NMP/100mL. In june of faecal coliforms and enterococci in the mussel flesh of the reached, respectively, levels concentrations of 500 NMP/g and 240 NMP/g. These high levels serve as an alert since their presence and countings indicate several potential etiological agents. Besides of heath risks of ingesting contaminated shellfish, public health risks are also threatened by bathing in contaminated beaches. In spite of the average concentration of enteric bacteria rapidly reach the maximum concentration allowed by the legislation for bivalve farming, the average concentration in the mussel flesh was considered below the allowed maximum limit. This, theoretically, shellfish means that the consumption doesn't bring risks to the consumers' health. However, due to its of filtration feeding habit and, therefore, their capacity to accumulate microorganisms in the flesh (e.g. bacteria and virus), make mandatory the adoption of a sanitary monitoring program and implementation of purification techniques in the area to avoid possible contaminations in the bivalve mollusks.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Localização da região de cultivo de moluscos bivalves de Anchieta (ES), com destaque para a área de estudo.	23
Figura 2: Variação da amplitude da maré, em outubro de 2004, segundo Tábua das Marés disponibilizada pela Diretoria de Hidrografia e Navegação (DHN, 2005).	24
Figura 3: Variação das médias mensais de pluviosidade entre os meses de dezembro de 2003 a novembro de 2004.	25
Figura 4: Localização das estações amostrais e das áreas de cultivo próximas a elas, sendo a área atualmente utilizada representada pelo polígono laranja e a reservada pelo polígono amarelo.	26
Figura 5: Representação esquemática da análise de uma amostra de água utilizando a técnica dos tubos múltiplos, com uma série de três tubos, para quatro concentrações (10^1 , 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2}). Modificado de Mari e Mariazzi (1995).	28
Figura 6: Representação esquemática dos primeiros tubos, de cada série, com as respectivas concentrações empregadas nas análises de enterococos (a) e coliformes fecais (b) de cada amostra.	28
Figura 7: Etapas do processamento dos mexilhões e da análise dos dados microbiológicos nos tecidos desses organismos: limpeza das valvas (a e b), desconchamento e retirada do líquido intervalvar (c, d e e), liquidificação dos tecidos (f, g e h), inoculação nos meios de cultura (i) e verificação dos tubos positivos para coliformes fecais (j) e enterococos (k).	30
Figura 8: Variação das concentrações médias de coliformes fecais (NMP/100mL) na área de cultivo (médias das estações P1, P2 e P3) e na foz do rio Benevente (estação Rio).	34
Figura 9: Variação das concentrações de coliformes fecais (NMP/100mL) nas estações P1, P2 e P3 comparadas ao limite máximo permitido pela Resolução CONAMA nº 20/86.	35
Figura 10: Variação das concentrações de coliformes fecais e enterococos (NMP/100mL) nas amostras de água coletadas na estação P2 durante o ano de 2004.	36
Figura 11: Variação das concentrações de coliformes fecais e enterococos (NMP/g) nos tecidos dos mexilhões coletados na estação P2 durante o ano de 2004.	37

Figura 12: Regressão linear entre as concentrações de coliformes fecais e enterococos nas amostras de água ($n = 10$, $P = 0,030$) coletadas na estação P2 durante o ano de 2004. 37

Figura 13: Regressão linear entre as concentrações de coliformes fecais e enterococos nos tecidos dos mexilhões ($n = 9$, $P = 0,010$) coletados na estação P2 durante o ano de 2004. 38

Figura 14: Concentrações médias de coliformes fecais e enterococos (NMP/g) nos tecidos dos mexilhões, coletados na estação P2 durante o ano de 2004, comparadas ao limite máximo de coliformes fecais (102 NMP/g) permitido pela Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (SNVS-MS) para o consumo de mexilhões. 41

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo geral.....	13
2.2 Objetivos específicos.....	13
3. JUSTIFICATIVA	14
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
5. ÁREA DE ESTUDO	22
6. METODOLOGIA	26
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
8. CONCLUSÃO	42
9. PERSPECTIVAS	42
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXOS	50

1. INTRODUÇÃO

Face à redução de diversos recursos marinhos naturais, ocasionada nas últimas décadas principalmente pela exploração intensiva e poluição ambiental nestes ecossistemas, e à dificuldade de manutenção da pesca como atividade econômica, muitas comunidades pesqueiras têm buscado outros meios alternativos para subsistência. Um dos meios encontrados é a prática da aquicultura, que tem como uma de suas principais características a alta capacidade de produção de organismos aquáticos em uma pequena área.

A aquicultura é uma atividade interdisciplinar que envolve tanto as ciências biológicas, quanto as engenharias e as ciências socioambientais, que incluem, por exemplo, a ecologia humana, a análise ambiental e a economia ecológica (ARANA, 1999). A atividade começou a ganhar espaço no Brasil a partir da década de 70, quando teve início o seu processo de consolidação no cenário alimentício (VALLE; PROENÇA, 2000).

O desenvolvimento da aquicultura no país tem sido bastante importante para a economia de diversos Estados, principalmente para os da região sul, que produzem anualmente aproximadamente 56.635 toneladas de produtos aquícolas, o equivalente a 49% da produção aquícola nacional (OSTRENSKY; BORGHETTI; PEDINI, 2000). No Brasil, existem mais de 64 espécies sendo cultivadas, em sua maioria peixes de água doce. Os moluscos *Perna perna*, *Crassostrea gigas* e *C. rhizophorae* estão entre as 15 principais (ROUBACH et al., 2003).

A malacocultura, cultivo de moluscos bivalves tais como: ostras (ostreicultura) e mexilhões (mitilicultura), vem sendo desenvolvida em diversos estados brasileiros (e.g. Santa Catarina e Espírito Santo). A mitilicultura, principalmente por apresentar baixos custos, é considerada uma importante alternativa de geração de renda para pescadores e ex-pescadores, que vêm sendo afetados pela falta de perspectivas para pesca tradicional (OSTRENSKY; BORGHETTI; PEDINI, 2000). No município de Bombinhas (Santa Catarina), por exemplo, muitos pescadores encontraram na atividade de malacocultura uma alternativa para o sustento de suas famílias, substituindo, portanto, a prática de uma atividade extrativista (pesca) pela

maricultura (cultivo), possibilitando a permanência de suas atividades. O mesmo pode ser observado no município de Anchieta, no estado do Espírito Santo.

Apesar da mitilicultura ainda estar em fase de desenvolvimento em vários estados brasileiros, é necessário atentar para possíveis riscos, relacionados à saúde pública, que o consumo de mexilhões contaminados pode gerar. Por estes organismos terem o hábito alimentar filtrador, podem apresentar potenciais riscos de disseminação de doenças (HUSS, 1994; JOSÉ, 1999; GOSLING, 2003).

Moluscos bivalves (mexilhões, ostras e vieiras) são organismos filtradores que se alimentam principalmente de microalgas presentes na água do mar e concentram em seus tecidos grandes quantidades de substâncias químicas, resíduos orgânicos e inorgânicos e microorganismos ingeridos juntamente com a água (DAME, 1996). Segundo José (1999), a concentração nos tecidos destes organismos de elementos bióticos e abióticos, presentes na água, reflete as condições ambientais em que vivem. Devido a este fato, caso sejam consumidos, podem trazer sérios danos ao organismo humano, representando um risco à saúde pública. Alguns moluscos chegam a filtrar cerca de até 100 litros de água por dia (DAME, 1996; SUPPLY, 2000).

Estudos desenvolvidos pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A. (EPAGRI) em parceria com a Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina (FATMA) e a Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI) enfatizam que a escolha do local de cultivo é fundamental não apenas para o seu desenvolvimento, mas também para a qualidade sanitária dos produtos cultivados. Diante desses fatos pode-se concluir que, em se tratando de atividades de maricultura, uma das maiores preocupações está na localização do cultivo em áreas resguardadas da contaminação ambiental.

Para garantir a qualidade do produto deve-se atentar para a qualidade ambiental, visto que uma das principais fontes de contaminação se deve à degradação do ambiente, muitas vezes decorrente do deságüe de efluentes domésticos, industriais e agrícolas, que podem causar enfermidades e prejudicar o crescimento das espécies. Um dos efeitos mais graves do escoamento superficial urbano é sua interceptação no habitat aquático (PITT, 1995), o que pode comprometer a qualidade sanitária das águas numa determinada região. Na tentativa de minimizar

os problemas relacionados à qualidade sanitária das águas de cultivo e dos produtos provenientes da aquicultura, diversos países estabeleceram limites máximos permissíveis da contaminação fecal para áreas de extração e cultivo de moluscos bivalves. No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) e o Ministério da Saúde estabeleceram condições e limites para que estas atividades possam ser praticadas.

Segundo Barardi, Santos e Simões (2001), atividades de maricultura devem ser constantemente monitoradas a fim de detectar e minimizar possíveis contaminações por agentes causadores de doenças, como bactérias e vírus. O desenvolvimento de programas de monitoramento da qualidade sanitária dos parques de cultivo é uma forma de minimizar ou até mesmo evitar que o ambiente de cultivo se transforme numa fonte destes agentes.

Programas de monitoramentos da qualidade da água incluem uma série de estudos que, em conjunto, permitem avaliar o cenário ambiental de um determinado corpo d'água, possibilitando o estabelecimento de diagnóstico do recurso hídrico e servindo de parâmetro para os usos deste recurso, como a balneabilidade. Em se tratando de maricultura, um dos estudos de grande importância num monitoramento é o da qualidade sanitária das águas.

Monitoramentos de contaminação em organismos oriundos da maricultura também são extremamente importantes, uma vez que seus tecidos são bastante suscetíveis ao acúmulo de organismos patogênicos e de contaminantes presentes na coluna d'água, podendo, portanto, causar uma série de doenças aos consumidores humanos caso sejam consumidos.

O consumo de mariscos na forma crua ou levemente cozidos tem contribuído na transmissão de doenças virais como gastroenterites e hepatite A (REGAN; MARGOLIN; WATKINS, 1993), além de surtos de diarreias em adultos (BARARDI; SANTOS; SIMÕES, 2001) e doenças infecciosas (MUJICA et al., 2003). Para tentar solucionar essa questão, ou pelo menos minimizar possíveis riscos à saúde pública, algumas áreas de cultivo têm tido seus produtos submetidos a programas de monitoramentos regulares.

Apesar da área de cultivo de moluscos bivalves do município de Anchieta já ter sido objeto de estudo de diferentes pesquisas (SILVA, 2003; COSTA, 2004; GARCIA-PRADO, 2004; SÁ, 2004), a mesma ainda não foi investigada quanto à qualidade sanitária. Portanto, estudos de contaminação microbiológica nesta área são de grande importância, visto, principalmente, que o produto produzido na região é consumido por grande parte da população local.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a contaminação microbiológica na área de cultivo de moluscos bivalves do município de Anchieta (ES).

2.2 Objetivos específicos

- Verificar os níveis de bactérias entéricas, coliformes fecais, na água e nos tecidos dos mexilhões *Perna perna*, a fim de detectar o potencial de contaminação;
- Avaliar os níveis de enterococos, na água (área de cultivo), para validação da qualidade sanitária neste local;
- Avaliar a correlação entre coliformes fecais e enterococos na água e tecidos dos mexilhões cultivados;

- Comparar os níveis de coliformes fecais na água e no mexilhão cultivado, na região da área de cultivo de Anchieta, com os níveis estabelecidos pela Legislação vigente no país.

3. JUSTIFICATIVA

Este estudo, desenvolvido como sub-projeto do Grupo Temático Maricultura Sustentável (Instituto do Milênio - Projeto RECOS: Uso e Apropriação de Recursos Costeiros), foi elaborado devido à necessidade de se conhecer as reais condições sanitárias da área de cultivo de moluscos bivalves de Anchieta e, dessa forma, tentar avaliar se a localização dos cultivos compromete a qualidade dos moluscos lá produzidos. Desta forma, torna-se possível a avaliação da sustentabilidade ambiental, no tocante a contaminação fecal, da atividade. Além disso, a realização deste estudo visa a obtenção de resultados que possam servir de verificação dos riscos à saúde pública conforme os limites estipulados na legislação vigente.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O Brasil está entre os países que possuem uma das maiores taxas de crescimento de moluscos bivalves: sementes de *P. perna*, com aproximadamente 2cm, atingem o tamanho comercial (8cm) num período de 6 a 7 meses (SUPLICY, 2000). O setor de produção de moluscos do estado de Santa Catarina movimentou em 2003 cerca de dezessete milhões de Reais (EPAGRI, 2004). Neste Estado, a mitilicultura teve início no fim da década de 70 (VALLE; PROENÇA, 2000), sendo o pioneiro do cultivo comercial de mexilhões no país. Ao longo dos anos a produção de Santa Catarina

aumentou significativamente, tornando-o o maior produtor brasileiro de ostras e mexilhões cultivados.

O crescente aumento do mercado consumidor de moluscos bivalves é motivo de grandes preocupações em termos de saúde pública, o que torna ainda mais importante os estudos de avaliação da contaminação microbiológica em áreas de cultivo. Ostras e mexilhões, bivalves pertencentes às famílias Ostreidae e Mytilidae, respectivamente, são os moluscos comestíveis favoritos do homem (MAGALHÃES, 2000). Segundo José (1999), inúmeras pessoas comercializam bivalves sem comprovação de origem, tornando-se responsáveis pela sanidade do produto independentemente da existência de culpa.

Estudo sobre o mercado de mexilhões, realizado por Barni et al. (2002) em alguns estados brasileiros, indicou que este produto tem mais aceitação no mercado quando vendido desconchado, a granel e resfriado. Tal estudo mostrou, também, que a tendência, a médio e longo prazo, será a exigência, por parte dos consumidores, de produtos com maior qualidade. Para que os consumidores assumam esta posição, é de fundamental importância a conscientização da população sobre os possíveis riscos decorrentes da ingestão de mexilhões, ostras e vieiras contaminados, principalmente se estes forem consumidos na forma crua.

Ambientes estuarinos e marinhos costeiros têm sido foco de diversos estudos devido ao fato de estarem sujeitos a diferentes tipos de contaminação, como as de veiculação microbiológica, que podem trazer sérios riscos à saúde pública. Diversas doenças associadas a ambientes marinhos estão relacionadas à presença de microrganismos patogênicos nestes locais, decorrente principalmente de lançamentos de efluentes domésticos lançados *in natura* no ambiente, contaminando estuários e águas costeiras. Assim, pessoas que mantiverem contato direto com estes ambientes contaminados estarão sujeitas a diversos tipos de enfermidades, principalmente àquelas associadas ao trato gastrointestinal.

Avaliações da qualidade sanitária de águas e mariscos têm sido realizadas através de programas de monitoramento de microrganismos indicadores (bioindicadores microbiológicos), que avaliam as respostas da exposição destes a contaminantes (MELANCON, 1995). Desta forma, os indicadores da qualidade ambiental têm sido utilizados para detectar a existência ou ausência de organismos patogênicos tanto

no ambiente como nos produtos dele provenientes (REGAN; MARGOLIN; WATKINS, 1993; BARARDI; SANTOS; SIMÕES, 2001; MUJICA *et al.*, 2003).

Para que um microrganismo seja considerado um bom indicador de contaminação fecal ele deve apresentar uma maior resistência à desinfecção do que os patógenos e estar exclusivamente associados ao esgoto, onde deve ocorrer em maior número que os patógenos. Bons indicadores são incapazes de se reproduzir em ambientes aquáticos e podem ser facilmente isolados, enumerados e terem seu crescimento inibido. Outra importante característica a ser observada é se estes microrganismos têm sua densidade diretamente relacionada com o grau de contaminação fecal e/ou, ainda, com o risco à saúde a partir de um dado tipo de poluição (RIBEIRO, 2002). Apesar das diversas características desejáveis em um indicador, ainda não se conhece um microrganismo que atenda a todas elas. O que se tem utilizado são microrganismos portadores de algumas destas características.

Contagens de coliformes fecais, estreptococos fecais (streptococci), leveduras, bactérias heterotróficas, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* podem ser utilizadas como indicadores de poluição (MENDONÇA-HAGLER; VIEIRA; HAGLER, 2001). Segundo Efstratiou (2001), a presença de indicadores microbiológicos de contaminação fecal é um demonstrativo de poluição recente ou mais remota, dependendo do indicador, e da possível presença de organismos patogênicos.

Em avaliações da qualidade sanitária é comum a realização de monitoramentos baseados na presença de microrganismos não patogênicos encontrados em fezes de seres humanos e animais homeotérmicos, visto que, monitoramentos de patógenos entéricos específicos não asseguram a existência ou ausência de outros patógenos (APHA; AWWA; WEF, 1998). Alguns bioindicadores são extremamente sensíveis a determinadas variações ambientais. Indicadores bacterianos, como coliformes e enterococos (enterococci), por exemplo, são extremamente afetados por estresses ambientais, tais como: temperatura da água, radiação ultravioleta, baixa concentração de nutrientes e salinidade (REGAN; MARGOLIN; WATKINS, 1993).

O grupo dos coliformes inclui organismos que não são considerados patogênicos (com exceção de algumas linhagens) e que são de grande importância,

principalmente, pelo fato de serem bons indicadores de contaminação fecal. Dentro do grupo destacam-se os coliformes fecais os quais não se multiplicam com facilidade no ambiente externo e cuja sobrevivência é similar à de bactérias patogênicas (CETESB, 1978).

Caracterizadas pela presença da enzima β -galactosidase e definidas como bastonetes gran-negativos não formadores de esporos, as bactérias do grupo coliformes fecais (termotolerantes pertencentes ao grupo dos coliformes totais) são capazes de fermentar a lactose com produção de gás em 24 horas à temperatura de 44-45°C e crescer em presença de sais biliares e outros agentes tensoativos com propriedades inibidoras semelhantes. Tais bactérias, também chamadas coliformes termotolerantes, vivem na flora intestinal do organismo humano e de outros animais homeotérmicos, sendo comumente encontrados nas fezes, onde atingem concentrações de 10^8 a 10^{10} microrganismos por grama (APHA; AWWA; WEF, 1998). O grupo dos coliformes fecais indica a ocorrência de uma microflora variada que pode ser encontrada em animais de sangue quente, solos, vegetais ou quaisquer efluentes contendo matéria orgânica.

O microrganismo predominante entre os coliformes fecais é a bactéria *Escherichia coli*, cujo hábitat exclusivo é o trato intestinal de animais homeotérmicos; onde seus percentuais equivalem a 98% da flora intestinal (APHA; AWWA; WEF, 1998). Conhecida como a única bactéria do grupo coliformes fecais de origem exclusivamente fecal, *E. coli*, tem sido encontrada somente em esgotos, efluentes, águas naturais e solos que tenham recebido contaminação fecal recente (CETESB, 1978; CONAMA, 2001).

Apesar de auxiliar na prevenção de doenças de veiculação entérica, o uso de coliformes fecais como indicadores no controle da qualidade da água não é efetivo na prevenção de patologias ocasionadas por microorganismos cujo habitat é o meio marinho, além de ser desconhecida sua eficácia em relação à contaminação por vírus (JOSÉ, 1999; BARARDI; SANTOS; SIMÕES, 2001).

Para se avaliar a qualidade sanitária das águas, mais especificamente a qualidade microbiológica, muitos pesquisadores (WANG, 1997; VIEIRA et al., 1999; DIONÍSIO; RHEINHEIMER; BORREGO, 2000; MENDONÇA-HAGLER; VIEIRA; HAGLER, 2001) têm utilizado a colimetria – avaliação da contaminação da água por bactérias

do grupo coliformes. Apesar de não determinar o risco da presença de vírus e, portanto, não garantir totalmente a qualidade da água, a avaliação da contaminação por coliformes ainda é bastante realizada em estudos de monitoramento ambiental.

Outro indicador fecal bastante utilizado é o grupo dos estreptococos fecais, que apesar de poder ser isolado de fezes de animais é em sua maioria de origem fecal humana. Todos estreptococos de origem fecal que produzem antígenos do grupo D são considerados enterococos (HARTMAN; DEIBEL; SIEVERDING, 1992).

Enterococos são, portanto, bactérias do grupo dos estreptococos fecais, pertencentes ao gênero *Enterococcus*, o qual se caracteriza pela alta tolerância às condições adversas de crescimento, tais como: capacidade de crescer na presença de 6,5% de cloreto de sódio, a pH 9,6 e nas temperaturas de 10° e 45°C (HARTMAN; DEIBEL; SIEVERDING, 1992; CONAMA 2001). Este grupo é composto por bactérias gram-positivas que são usualmente mais resistentes à água do mar e à tratamentos de água do que o grupo coliformes (MENDONÇA-HAGLER; VIEIRA; HAGLER, 2001).

Alguns monitoramentos microbiológicos realizados em tecidos de moluscos bivalves têm sido feitos através da avaliação da concentração de bactérias, tais como as do grupo coliformes (CHRISTENSEN et al., 1998) e enterococos (REGAN; MARGOLIN; WATKINS, 1993). Poucos programas de monitoramento avaliam a contaminação dos tecidos de moluscos por vírus intestinais, pois este tipo de avaliação requer métodos mais avançados e complexos, exigindo, portanto, maiores investimentos. Santa Catarina é um dos únicos Estados brasileiros cuja produção de frutos do mar é submetida a este tipo de avaliação; o Estado tem seus produtos avaliados desde 1997 (BARARDI; SANTOS; SIMÕES, 2001).

Segundo a Resolução nº 020, de 18 de junho de 1986, do CONAMA (ANEXO A), que estabelece a classificação das águas do Território Nacional segundo seus usos preponderantes e os níveis máximos de coliformes aceitáveis, águas salinas (salinidade igual ou superior a 30) e salobras (salinidade igual a 0,5 ou inferior a 30) destinadas à prática da aquicultura são enquadradas nas classes 5 e 7, respectivamente.

Para fins de monitoramentos da qualidade sanitária, o Art. 24 desta Resolução estabelece que:

Os métodos de coleta e análise das águas devem ser os especificados nas normas aprovadas pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normatização e Qualidade Industrial - INMETRO ou, na ausência delas, no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA-AWWA-WPCF, última edição, ressalvado o disposto no Art. 12.

O Art. 12 declara que “os padrões da qualidade das águas estabelecidas nesta Resolução constituem-se em limites individuais para cada substância”.

No caso da avaliação da qualidade microbiológica em alimentos, a Portaria nº451, de 19 de setembro de 1997, da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (SNVS-MS) (ANEXO B), declara:

A metodologia para amostragem, coleta, condições de acondicionamento, de transporte e de análise, quando não especificada, deve obedecer, na ordem apresentada, o disposto pelo Codex Alimentarius, pelo "International Commission on Microbiological Specifications for Foods" (I.C.M.S.F.), pelo "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods" (American Public Health Association) e pelo "Bacteriological Analytical Manual" (AOAC/FDA) últimas edições, bem como outras Referências internacionalmente reconhecidas, adotando-se e registrando-se programas de controle e garantia de qualidade analítica. À medida que forem estabelecidas metodologias oficiais, as mesmas devem ser adotadas, substituindo as referências apresentadas, quando for o caso.

O CONAMA (1986) determina que águas das classes 5 (salinas) e 7 (salobras) devam ter os valores de coliformes fecais, em 80% ou mais das 5 amostras mensais (coletadas em qualquer mês), inferiores a 1.000 NMP/100mL. Porém, para que animais marinhos/estuarinos possam ser consumidos crus por seres humanos, a concentração de coliformes fecais nas águas utilizadas para fins de pesca e aquicultura deve ser de no máximo 14 NMP/100mL, não excedendo em mais de 10% das amostras 43 NMP/100mL.

Considerando o cultivo de moluscos bivalves na águas das classes 5 e 7, a Lei é falha, pois ignora a possibilidade de depuração, contraria um princípio de Saúde Pública de que qualquer alimento deve apresentar condições sanitárias adequadas por ocasião da comercialização, e não estabelece de maneira competente a forma pela qual as espécies cultivadas devem ser ingeridas (PROENÇA; OLIVEIRA NETO, 2000). Conforme as disposições desta Resolução, é proibido o consumo, na forma

crua, de moluscos bivalves no Brasil, o que segundo estes autores é incoerente, visto, por exemplo, que os padrões e normas de países europeus quando aplicados às ostras cultivadas em Santa Catarina as classificam como de excelente qualidade (JOSÉ, 1999).

Visando complementar e aperfeiçoar a legislação vigente, no que diz respeito aos problemas de saúde pública e à necessidade de uniformizar os padrões para o comércio entre os países, a SNVS-MS (1998) estabeleceu, nos Anexos I, II e III da Portaria nº 451, de 19 de setembro de 1997, critérios e padrões microbiológicos para diferentes grupos de alimentos. O Anexo I desta Portaria, que trata dos pescados e produtos de pesca, estabeleceu, entre outros, o valor máximo permitido de coliformes fecais (102 NMP/g) para este grupo de alimentos, sendo que os valores máximos estabelecidos independem da forma de consumo, que pode ser: crus *in natura*, crus refrigerados e congelados, pré-cozidos ou empanados.

Mendonça-Hagler, Vieira e Hagler (2001), estudando a qualidade microbiológica em águas costeiras brasileiras, encontraram correlação positiva das concentrações de coliformes fecais com outros parâmetros indicadores de poluição (e.g. matéria orgânica) e, também, com a ocorrência de alguns microrganismos patogênicos.

Regan, Margolin e Watkins (1993), avaliando alguns indicadores microbiológicos (coliformes totais e fecais, *Clostridium perfringens*, *Enterococci*, MSB (Male-specific Bacteriophage) e polivírus) para determinação da qualidade sanitária e segurança de mariscos em diferentes áreas, previamente consideradas como *própria*, *parcialmente própria* e *imprópria*, da Baía Narragansett, na Ilha de Rhode, encontraram larga variação nas concentrações de coliformes, que, segundo eles, pode estar relacionada à eventos chuvosos anteriores ao período de coleta. Em tal estudo, os Enterococos foram detectados durante todo o período de coleta (julho/1987 a maio/1990) e em todas as áreas, porém em densidades geralmente baixas. Os autores encontraram nas amostras de moluscos bivalves coletadas nas áreas *próprias*, *parcialmente próprias* e *impróprias*, respectivamente, as seguintes concentrações de enterococos: <20 NMP/100g, <20-110 NMP/100g e <20-3.500 NMP/100g.

Vieira et al. (1999) ao avaliarem mensalmente, durante o período de um ano (novembro de 1997 a outubro de 1998), o grau de contaminação fecal da Praia da

Barra do Ceará (Fortaleza, CE), através da quantificação de coliformes totais e fecais pela técnica dos tubos múltiplos, correlacionando esse índice com a média pluviométrica da região, concluíram que não há correlação do período chuvoso com o aumento ou diminuição do índice de poluição na praia, que pode ocorrer na seca e/ou no inverno. Segundo os autores, esse estudo permitiu avaliar a balneabilidade das águas da Praia da Barra do Ceará, que sofre influência da descarga do rio Ceará, mesmo não tendo suas amostragens realizadas conforme recomendado pela Resolução nº 020/86 do CONAMA. À mesma conclusão também chegaram Sant'Anna e Dalfior (2004) ao analisarem a influência da pluviosidade nas concentrações de coliformes fecais, encontradas semanalmente no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2003 na praia da Curva da Jurema (Vitória – ES). Neste estudo, os autores utilizaram os dados de pluviosidade referente à quantidade de chuva ocorrida nos três dias anteriores à data de amostragem.

Visto a necessidade de proteção de recursos naturais importantes para as atividades econômicas de turismo e pesca, medidas de saneamento básico devem ser tomadas visando a eliminação ou redução de problemas de contaminação em ambientes costeiros (MENDONÇA-HAGLER; VIEIRA; HAGLER, 2001). Visando a melhoria da qualidade dos produtos aquícolas, Ceccarelli (2001) recomenda a depuração de organismos aquáticos, antes do aproveitamento para consumo, e a manipulação e o processamento higiênico de produtos e subprodutos aquáticos. Este autor recomenda ainda que o consumo de espécies aquáticas sem cozimento prévio deve ser evitado ou precavido.

Tais medidas podem ser bastante eficazes na certificação da qualidade do produto. No caso do processo de depuração, a eficiência depende da quantidade de vírus bioacumulados e da associação destes a resíduos sólidos, já que a bioacumulação é proporcional ao grau dessa associação e ao nível de poluição no local da criação (BARARDI; SANTOS; SIMÕES, 2001). Alguns produtores que implantaram este processo para reduzir o grau de contaminação em mariscos obtiveram bons resultados. Experiências realizadas com mexilhões contaminados por coliformes fecais mostraram que o nível sanitário de purificação de 10 coliformes fecais por mL de tecido é alcançado nas primeiras 24 horas de depuração (SPENCER, 2002). A depuração pode ser *natural*, quando a concentração de microrganismos na água apresenta baixos níveis, permitindo uma eliminação de partículas maior do que a

retenção, ou *controlada*, que pode ocorrer de maneira natural, quando os mexilhões são colocados em águas de qualidade confiável, ou de maneira artificial, utilizando unidade de depuração. Neste caso, a eficiência do processo depende de vários fatores, dentre os quais se destacam: tipo de tanque, parâmetros físico-químicos da água, espécie cultivada, densidade de acondicionamento, tipo de microrganismo a ser eliminado e níveis de contaminação inicial.

5. ÁREA DE ESTUDO

O município de Anchieta, fundado em 1565, abrange uma área de aproximadamente 420 km² e localiza-se no litoral Centro-Sul do Espírito Santo (ES), a cerca de 79 km ao sul de Vitória (capital do Estado). Anchieta, inicialmente chamada Reritiba, surgiu a partir de um aldeamento de índios catequizados pelos jesuítas e recebeu esse nome em homenagem ao padre José de Anchieta, que viveu na cidade seus últimos anos e morreu em 9 de junho de 1597 (ANCHIETA ON LINE, 2002).

O município de Anchieta é economicamente importante para o Estado devido, principalmente, à presença do Porto de Ubú, que é utilizado principalmente pela SAMARCO Mineração S.A. para transporte de minério de ferro – em julho de 2004 os embarques totalizaram aproximadamente $1,2 \times 10^6$ toneladas métricas (SAMARCO, 2004).

O turismo também contribui para a economia da região. A geomorfologia diferenciada ao longo do Município se traduz em seus vários aspectos naturais (praias arenosas, costões rochosos, lagoas costeiras e manguezais); são aproximadamente 25 km de praias, sendo algumas bastante freqüentadas no verão (GUIA DO TURISTA, 2004).

O Município destaca-se, entretanto, não apenas pelas atividades ligadas ao turismo e mineração, mas também pelas práticas da maricultura (cultivo de moluscos bivalves) e pesca artesanal. Atualmente, uma das principais fontes de renda não só dos pescadores da região, mas também da comunidade, tem sido o cultivo do

mexilhão *Perna perna*, implantado em 1998, havendo também o cultivo experimental da ostra do Pacífico, *Crassostrea gigas*.

A região de cultivo de moluscos bivalves de Anchieta está localizada nas coordenadas 20°48'50,7"S e 40°39'40,4"W, sendo atualmente composta por sete áreas de cultivo de mexilhões, das quais duas estão atualmente ocupadas (Figura 1). A técnica utilizada para o cultivo dos mexilhões é do tipo suspenso flutuante (long-line). As sementes de mexilhões (com aproximadamente 2cm) “plantadas” no cultivo são provenientes dos costões da região e da própria estrutura de cultivo.

Cada área de cultivo atualmente ocupada, em Anchieta, possui um ou mais módulos, sendo que cada módulo é formado por conjunto de aproximadamente 12 espinhéis (*long-lines*), cada um com 25 bóias e 50 cordas de mexilhões, dispostos paralelamente entre si na superfície da água.

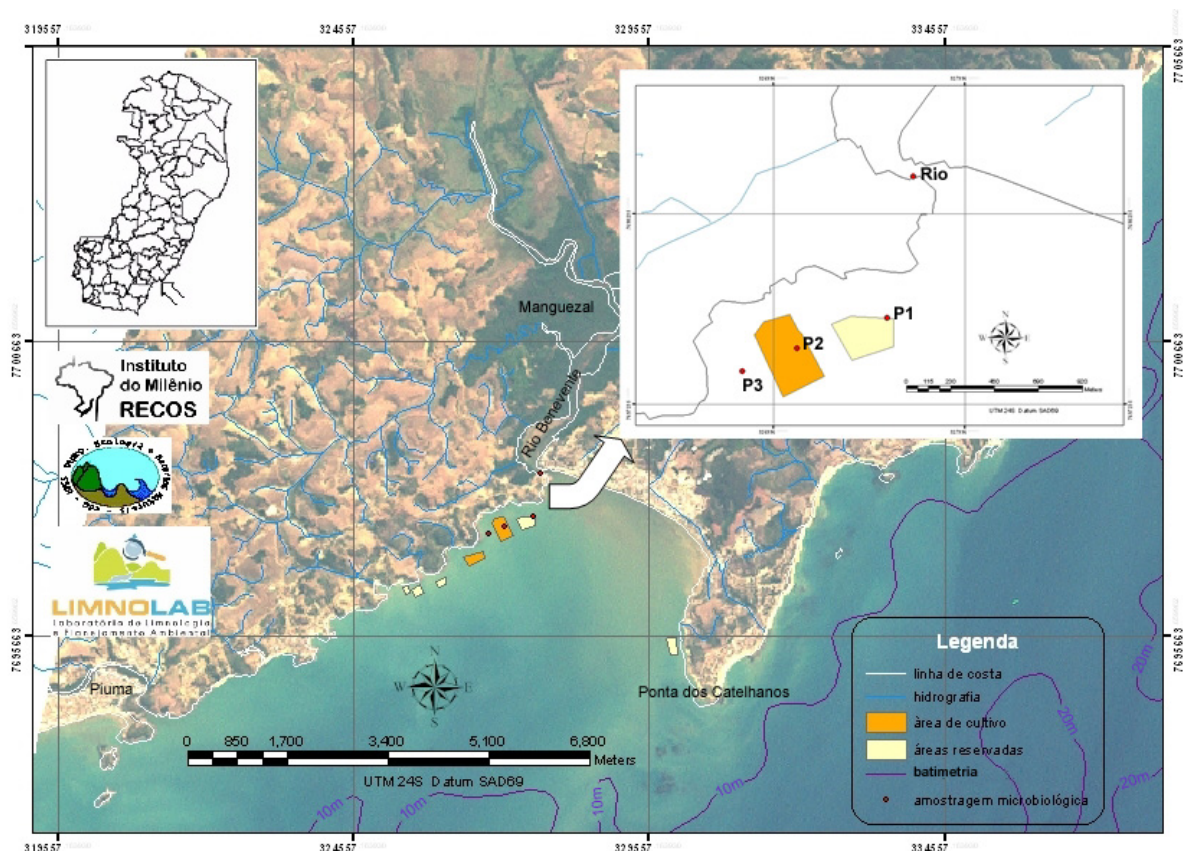


Figura 1: Localização da região de cultivo de moluscos bivalves de Anchieta (ES), com destaque para a área de estudo.

A área do cultivo escolhida para o estudo abrange os dois módulos localizados nas proximidades da desembocadura do rio Benevente, em ambiente marinho/estuarino, entre as Praias do Coqueiro, do Balanço e Mar Vila, pouco freqüentadas durante a baixa estação. A área estudada caracteriza-se por ser uma região relativamente exposta, com vento predominante do quadrante Nordeste (SÁ, 2004) e maré com amplitude de 1,7 m, sendo a altura mínima de -0,1 m e a máxima de 1,6 m (DHN, 2005). A maré local (Porto da Ponta do Ubu) apresenta características de marés semi-diurnas com predomínio de micromarés (Figura 2).

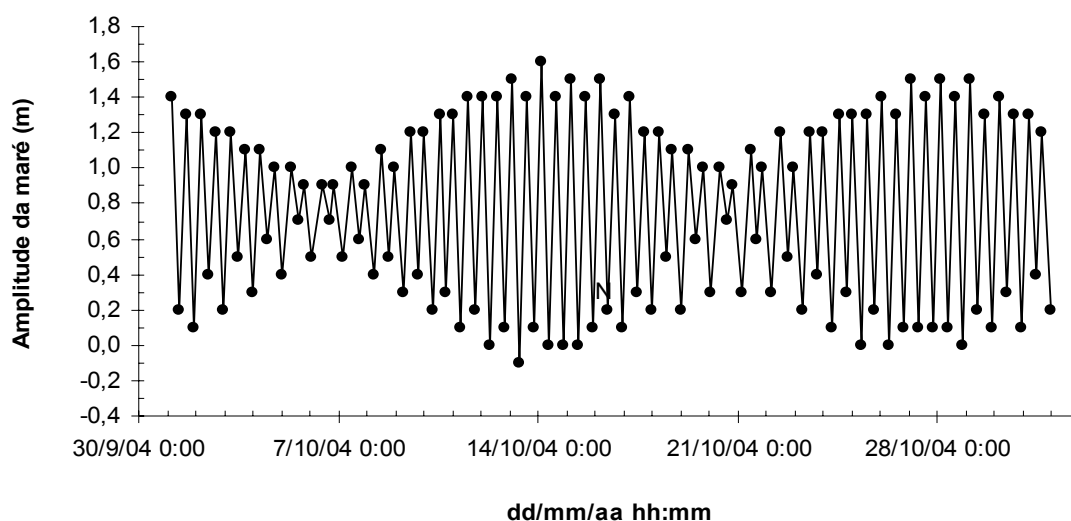


Figura 2: Variação da amplitude da maré, em outubro de 2004, segundo Tábua das Marés disponibilizada pela Diretoria de Hidrografia e Navegação (DHN, 2005).

A partir dos índices mensais de pluviosidade registrados entre dezembro de 2003 e dezembro de 2004, na região que abrange a área estudada, segundo dados pluviométricos fornecidos pelo Setor de Meio Ambiente da SAMARCO Mineração, observa-se que a região está sujeita a uma redução das chuvas entre dezembro de 2003 e junho de 2004, seguido de um leve aumento nos meses de julho e agosto; em setembro o índice pluviométrico atingiu o seu menor valor, 0,0 mm (Figura 3).

Segundo Pires¹, não há registros pluviométricos referentes aos meses de outubro e dezembro de 2004 (informação verbal), o que impossibilita informações concretas a respeito da pluviosidade nestes dois meses. Diante dos dados obtidos constatou-se que em pelo menos cinco meses do ano de 2004 (janeiro, fevereiro, julho, agosto e novembro) os índices de pluviosidade estiveram acima de 170,0 mm, atingindo um máximo de 209,2 mm em novembro, sugerindo o período chuvoso de dezembro de 2003 a fevereiro de 2004 e o período seco de março a junho de 2004.

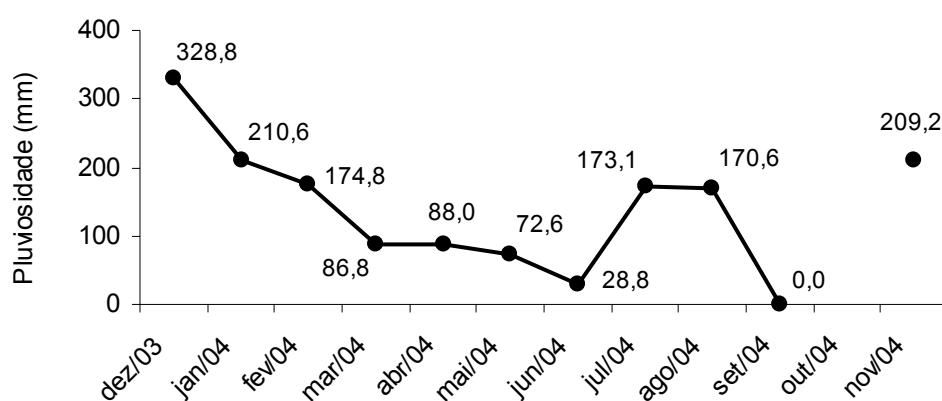


Figura 3: Variação das médias mensais de pluviosidade entre os meses de dezembro de 2003 a novembro de 2004.

Estudos sobre bioincrustação nos mexilhões (SÁ, 2004) e comunidade macrobentônica do sedimento (COSTA, 2004) já foram desenvolvidos neste local. Os mais recentes estudos realizados na área de cultivo de Anchieta foram desenvolvidos como sub-projetos do Grupo Temático Maricultura Sustentável do Instituto Milênio (Projeto RECOS), o qual investiga a qualidade ambiental e a sustentabilidade do cultivo. Dentre estes estudos estão o de Subtil (2005), que avaliou a influência da matéria orgânica sobre o sedimento, o de Pinto (2005), que

¹ PIRES, L. R. R., estagiária do Setor de Meio Ambiente da SAMARCO Mineração, foi a responsável pelo fornecimento dos índices de pluviosidade da região de Anchieta. O fornecimento dos dados foi feito através de contato telefônico, realizado em fevereiro de 2005.

realizou um estudo sobre o fitoplâncton em diferentes ambientes da área de cultivo, e o de Oliveira (2005), que estudou as variações espaciais e temporais da biomassa fitoplanctônica.

6. METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado mensalmente ao longo do ano de 2004, totalizando 12 campanhas de amostragens, realizadas pela manhã e, preferencialmente, na primeira semana de cada mês.

Para estudo da contaminação microbiológica foram definidas quatro estações amostrais, distribuídas da seguinte forma: uma na foz do rio Benevente (Rio), duas ao redor do primeiro módulo de cultivo (P1 e P3) e uma no interior do mesmo (P2) (Figura 4). Em todas estas estações, foram mensuradas temperatura, transparência e salinidade; a temperatura e a salinidade foram obtidas através de Multiparâmetro YSI 556MPS e a transparência através de Disco de Secchi.

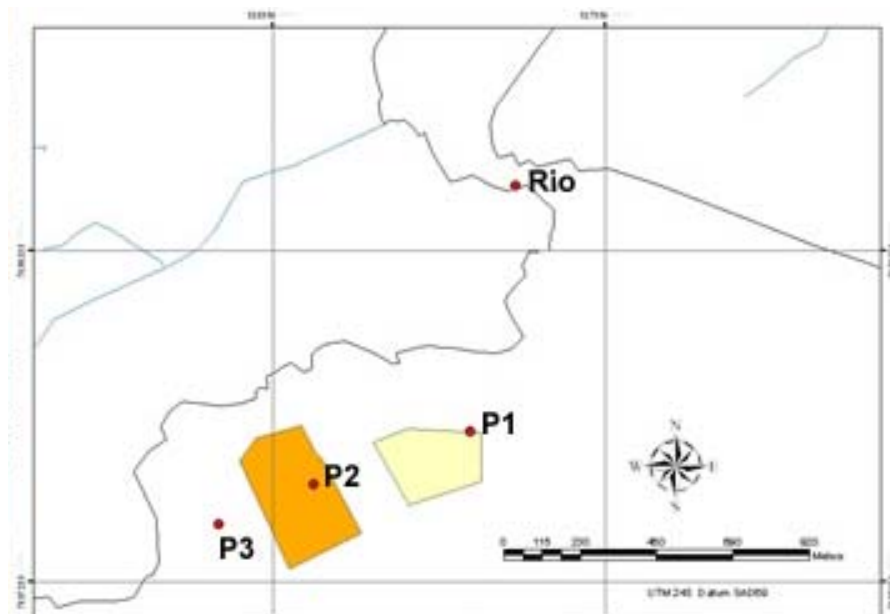


Figura 4: Localização das estações amostrais e das áreas de cultivo próximas a elas, sendo a área atualmente utilizada representada pelo polígono laranja e a reservada pelo polígono amarelo.

As amostras de água foram coletadas manualmente, na subsuperfície, utilizando-se frascos de polietileno (200 mL) previamente autoclavados, sendo armazenadas em caixa térmica para transporte até o laboratório. A refrigeração das amostras coletadas é recomendada, pois previne o decaimento ou crescimento de organismos nas amostras (MIESCIER et al. 1992), além de minimizar as chances de haver alterações, principalmente quando a temperatura ambiente do ar for superior a 13° C (APHA; AWWA; WEF, 1998).

No Laboratório de Hidrogeoquímica, do Departamento de Ecologia e Recursos Naturais (DERN) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), as amostras foram submetidas à análise de coliformes fecais, sendo as amostras da estação P2 submetidas também à análise de enterococos; esta análise, porém, teve início somente na segunda campanha (fevereiro), totalizando 11 campanhas. Para as análises de coliformes fecais e enterococos foram utilizados os meios de cultura Merck A-1 (APHA; AWWA; WEF, 1998) e Chromocult (LITSKY; MALLMANN; FIFIELD, 1953; MANAFI; SOMMER, 1993; AMOROS, 1995), respectivamente.

Para avaliar a concentração de coliformes fecais e enterococos no tecidos dos mexilhões, cerca de 20 mexilhões foram coletados mensalmente, durante 10 campanhas, na área do cultivo. Os mexilhões foram colocados em sacos plásticos esterilizados e com fecho hermético, sendo armazenados em caixa térmica e levados ao Laboratório de Hidrogeoquímica para as respectivas análises.

As análises microbiológicas, tanto da água como dos tecidos dos mexilhões, foram realizadas dentro de um período de 8 horas a partir da amostragem em campo. O procedimento analítico para as amostras de água baseou-se na metodologia dos tubos múltiplos (Figura 5) descrita pela APHA, AWWA e WEF (1998). Para as amostras dos tecidos dos mexilhões também foi utilizada a técnica de tubos múltiplos, neste caso, porém, conforme metodologia descrita por Miescier et al. (1992) e Whitman (2004).

A técnica dos tubos múltiplos, adotada neste estudo para determinar a concentração dos bioindicadores na água e nos tecidos de mexilhões, foi aplicada em todas as análises utilizando-se séries de cinco tubos e cinco concentrações: 10mL, 1mL, 0,1mL, 0,01mL e 0,001mL, para cada amostra (Figura 6).

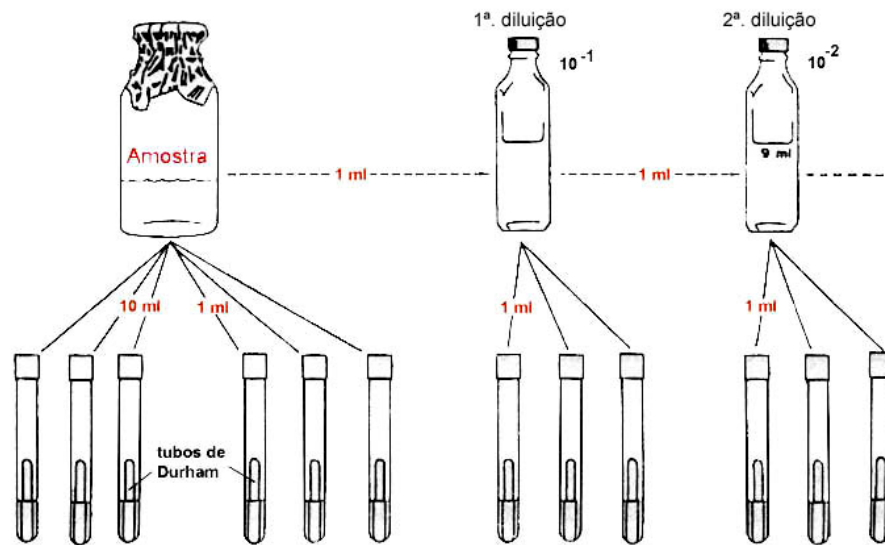


Figura 5: Representação esquemática da análise de uma amostra de água utilizando a técnica dos tubos múltiplos, com uma série de três tubos, para quatro concentrações (10^1 , 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2}). Modificado de Mari e Mariazzi (1995).

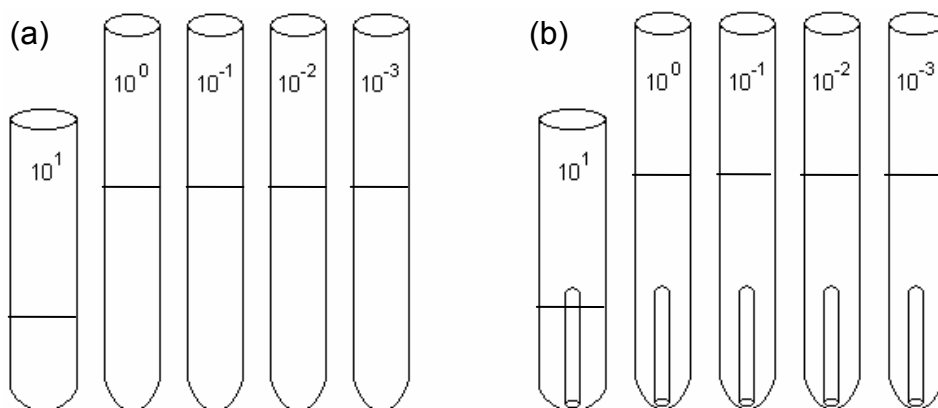


Figura 6: Representação esquemática dos primeiros tubos, de cada série, com as respectivas concentrações empregadas nas análises de enterococos (a) e coliformes fecais (b) de cada amostra.

É importante ressaltar, que durante a incubação das amostras foram colocados, juntamente aos tubos inoculados, tubos controle (não inoculados), visando indentificar possíveis resultados falso-positivos, aumentando, desta forma, o grau de confiabilidade dos resultados encontrados.

Em linhas gerais, o procedimento de análise laboratorial de coliformes fecais e enterococos nas amostras consiste na diluição, inoculação em tubos de ensaios contendo o meio de cultura específico para cada análise e, após 24 horas, leitura dos tubos positivos em cada diluição, que possibilitará, através de consulta da tabela de NMP (Número Mais Provável), o cálculo da concentração do microrganismo na amostra conforme a combinação das diluições utilizadas (APHA; AWWA; WEF, 1998). Porém, no caso da análise destes microrganismos nos tecidos dos mexilhões, deve-se, antes da inoculação, preparar a solução com os tecidos dos mexilhões para, só então proceder com a análise propriamente dita. Neste caso então, as principais etapas do procedimento de análise dos tecidos são: limpeza das valvas do mexilhão, desconchamento e recolhimento do líquido intervalvar para preparo da solução; liquidificação do material recolhido (tecidos e líquido intervalvar); diluição e inoculação nos meios de cultura; e verificação dos tubos positivos (Figura 7).

Os resultados das análises são expressos em NMP/100mL para as amostras de água e em NMP/100g para as amostras de mexilhões, porém neste estudo, para facilitar a comparação com a legislação, os valores do NMP de bactérias encontrados em 100 gramas de tecidos de mexilhões foram divididos por 100, permitindo que os resultados das análises microbiológicas em mexilhões fossem expressos em NMP/g. O uso do NMP é particularmente importante no procedimento de análise de coliformes associada a testes na água, esgotos e alimentos em geral, podendo ser empregado também no isolamento e enumeração de estafilococos, estreptococos, *Vibrio parahaemolyticus* e salmonela quando análises quantitativas, ao invés de qualitativas, forem necessárias (APHA; AWWA; WEF, 1998). Para avaliar a correlação entre coliformes fecais e enterococos foi utilizado o Teste de Correlação de Pearson (SPSS, 1997).



Figura 7: Etapas do processamento dos mexilhões e da análise dos dados microbiológicos nos tecidos desses organismos: limpeza das valvas (a e b), desconchamento e retirada do líquido intervalvar (c, d e e), liquidificação dos tecidos (f, g e h), inoculação nos meios de cultura (i) e verificação dos tubos positivos para coliformes fecais (j) e enterococos (k).

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios de transparência da água entre as estações P1, P2 e P3 foram, respectivamente, $1,01 \pm 0,50$ m (n=12), $1,03 \pm 0,40$ m (n=12) e $1,02 \pm 0,39$ m (n=12), mostrando-se espacialmente mais homogênea, variando entre 0,40 m e 2,00 m, sendo os menores valores observados em setembro e outubro e os maiores observados em junho e julho. Ao comparar as estações da área de cultivo (P1, P2 e P3) com a estação da foz do rio Benevente (Rio) observa-se que naquelas as transparências são quase duas vezes superiores às registradas nesta estação. No rio a transparência variou entre 0,12m (abril) e 1,00m (junho), alcançando uma média de $0,50 \pm 0,26$ m (n=12). Os valores freqüentemente mais baixos na estação Rio se devem à grande quantidade de partículas/sedimento em suspensão carregados pelo rio, o que dificulta a penetração da luz. Porém, em períodos de maré enchente o mar exerce uma forte influência sobre o rio, permitindo uma transparência na estação Rio semelhante àquelas comumente encontradas nas outras estações (P1, P2 e P3).

Os valores médios de temperatura foram semelhantes, predominando em torno de 24°C, sendo a maior variação (5,2°C) observada na foz do rio Benevente (estação Rio), onde a temperatura mínima foi 21,2°C (junho) e a máxima 26,4°C (outubro). Os maiores valores de temperatura foram registrados no mês de abril, chegando a 27,7°C (estação P1). Ao contrário da temperatura, a salinidade apresentou considerável variação tanto temporalmente como espacialmente (Tabela 1). Os maiores valores de salinidade foram registrados no mês de março, chegando a 36,5 (estação P3). As salinidades mais baixas foram verificadas na estação Rio, onde a mesma variou entre 0,0 (abril) e 26,55 (novembro), sendo em média de $8,61 \pm 8,06$ (n=12). Comparando-se as estações amostrais, verificou-se que a estação Rio foi a que apresentou os menores valores para ambos parâmetros. Em geral, os meses de agosto e abril foram os que apresentaram os valores mais baixos de temperatura e salinidade, respectivamente. As variações de temperatura e salinidade da água na área estudada são bastante comuns devido principalmente à influência direta da maré sobre a região.

Quanto as análises microbiológicas, não foram obtidos resultados de coliformes fecais referentes ao mês de julho (7ª campanha) devido a problemas no equipamento de banho maria, essencial na análise de coliformes. Isso, portanto, justifica a ausência destes dados no respectivo mês. Nas análises realizadas não houve contaminação nos tubos controle, assegurando uma maior confiabilidade dos resultados uma vez que não foram identificados, portanto, resultados falso-positivos.

Tabela 1: Estatística descritiva dos parâmetros físico-químicos nas estações de amostragem durante o ano de 2004.

ESTAÇÃO	ANÁLISES	TRANSPARÊNCIA (m)	TEMPERATURA (°C)	SALINIDADE
RIO (N=12)	Média	0,50	24,34	8,61
	Desvio padrão	0,26	1,70	8,06
	Máximo	1,00	26,40	26,55
	Mínimo	0,12	21,20	0,00
P 1 (N=12)	Média	1,01	24,67	28,79
	Desvio padrão	0,50	1,35	9,44
	Máximo	2,00	27,70	36,41
	Mínimo	0,40	23,00	7,60
P 2 (N=12)	Média	1,03	24,88	30,21
	Desvio padrão	0,40	1,19	8,19
	Máximo	1,60	27,00	36,45
	Mínimo	0,50	23,05	13,19
P 3 (N=12)	Média	1,02	24,57	31,26
	Desvio padrão	0,39	1,05	7,71
	Máximo	1,80	26,20	36,52
	Mínimo	0,50	22,54	16,30

A concentração média de coliformes fecais na água do cultivo (estação P2) foi 404 ± 710 NMP/100mL (n=11), sendo observados valores de até 2.200 NMP/100mL (maio). Nesta estação amostral, a concentração de enterococos na água alcançou 1.100 NMP/100mL (abril) (Tabela 2). Quando as médias mensais de coliformes

fecais das estações P1, P2 e P3 são comparadas aos valores encontrados na foz do rio (estação Rio), constata-se um padrão temporal bastante semelhante (Figura 8). Ressalta-se que as concentrações foram sempre mais elevadas na foz do rio Benevente, o que indica a provável origem da contaminação.

O Instituto Estadual do Meio Ambiente (IEMA), através do monitoramento da água na Bacia do rio Benevente, realizado em duas estações (BEN1D005 e BEN1C010) no período de 1999 a 2002, registrou concentrações de coliformes fecais entre 1.000 NMP/100mL (2002) e >160.000 NMP/100mL (1999), sendo observado uma redução nas concentrações de coliformes fecais com o passar dos anos. Porém é importante ressaltar que a estação BEN1D005, localizada a montante do rio, próxima a Alfredo Chaves, apresentou em geral concentrações inferiores às encontradas na estação BEN1C010, cuja localização está à jusante da primeira estação. O aumento da concentração dessas bactérias rio abaixo indica que a contaminação do rio em sua foz possa ser proveniente de outras regiões. No entanto, supõe-se que a maior parte da contaminação na foz do rio por bactérias entéricas seja proveniente da cidade de Anchieta, devido, principalmente, ao lançamento de esgoto *in natura* no rio por parte da população situada às suas margens.

Tabela 2: Estatística descritiva da concentração (NMP/100mL de água e NMP/g de tecido de mexilhão) de coliformes fecais (CF) e enterococos (EF) nas estações de amostragem durante o ano de 2004.

ANÁLISES	ÁGUA (NMP/100mL)					TECIDOS (NMP/g)	
	CF				EF	CF	EF
	P1	P2	P3	RIO	P2 ¹	P2 ²	P2 ²
Nº de amostras	11	11	11	11	11	9	10
Média	485	404	37	2028	200	72	31
Desvio padrão	665	710	61	1981	344	163	74
Valor máximo	2300	2200	170	5000	1100	500	240
Valor Mínimo	7	<2	<2	8	<2	<0,02	0,27

¹Análise com início em fevereiro. ²Análises com início em março.

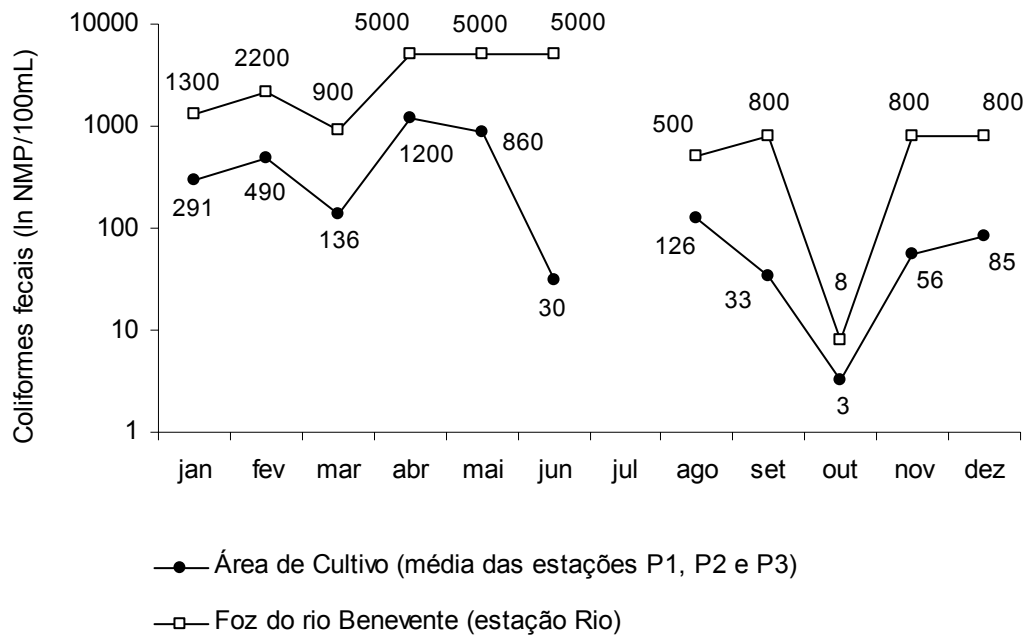


Figura 8: Variação das concentrações médias de coliformes fecais (NMP/100mL) na área de cultivo (médias das estações P1, P2 e P3) e na foz do rio Benevente (estação Rio).

Quando as estações da área de cultivo são comparadas entre si nota-se que a estação mais próxima ao rio (P1) apresentou, em geral, maiores concentrações, diminuindo em direção a estação mais afastada (P3) (Figura 9). Cabe ressaltar que as concentrações de coliformes fecais apresentaram níveis superiores aos permitidos pela legislação brasileira para o uso de águas costeiras para fins de aquicultura. Este padrão foi constante para a estação P1, com transição para estação P2 e picos eventuais para estação P3. Entretanto, em outubro, todas as estações de amostragem, inclusive aquela localizada na foz do rio (Rio), apresentaram níveis de coliformes fecais abaixo do limite máximo permitido. Isso pode ser explicado pela ausência de chuva no mês de setembro, o que teria reduzido o transporte de águas continentais através do rio, minimizando a contaminação da água em sua foz e, conseqüentemente, a influência do rio sobre a área de cultivo. Outra explicação pode estar relacionada ao horário das amostragens. Amostras coletadas durante a maré alta ou enchente estão sujeitas a

concentrações de coliformes mais baixas devido a forte influência das águas marinhas sobre as águas do rio, responsáveis pelo transporte destas bactérias.

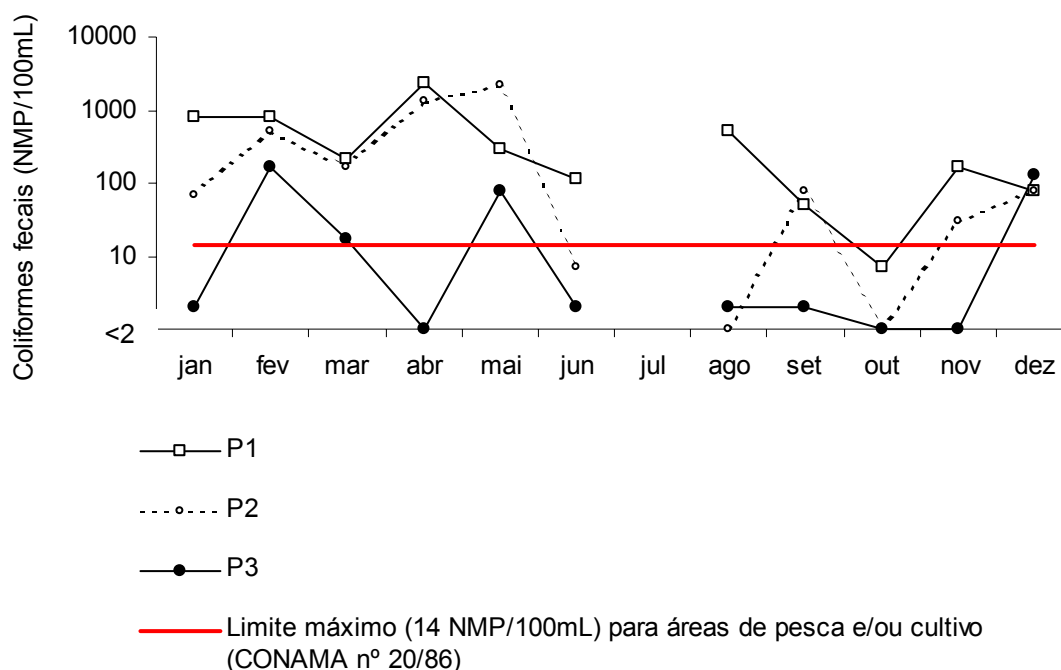


Figura 9: Variação das concentrações de coliformes fecais (NMP/100mL) nas estações P1, P2 e P3 comparadas ao limite máximo permitido pela Resolução CONAMA nº 20/86.

Comparando-se as variações das concentrações de coliformes fecais e enterococos na água (Figura 10) e nos tecidos (Figura 11), observou-se que em pelo menos seis meses do ano as concentrações de ambos indicadores seguiram um padrão semelhante, indicando uma possível dependência entre estas variáveis na água (Figuras 12) e nos tecidos (Figura 13). Os resultados obtidos nas análises de correlação entre coliformes fecais e enterococos utilizando o Teste de Correlação de Pearson (Tabela 3), mostraram correlações significativas entre estas bactérias, tanto na água ($r = 0,797$; $P = 0,010$) como nos tecidos dos mexilhões ($r = 0,682$; $P = 0,030$), indicando uma alta representatividade dos coliformes fecais como bioindicador.

Aparentemente, o aumento da concentração de bactérias entéricas na água, implica no aumento dessas bactérias na carne dos moluscos. Porém, apesar deste fato ter sido observado principalmente entre os meses de março e maio, período em que a concentração de coliformes fecais na água passou de 170 NMP/100mL (março) para 2200 NMP/100mL (maio) e na carne passou de 0,50 NMP/g (março) para 80 NMP/g (maio), constatou-se que, neste caso, não há correlações significativas. A acumulação de coliformes fecais nos tecidos do mexilhão foi, em média, maior do que a de enterococos. Porém, a menor concentração de enterococos pode implicar em maiores riscos de contaminação dos consumidores.

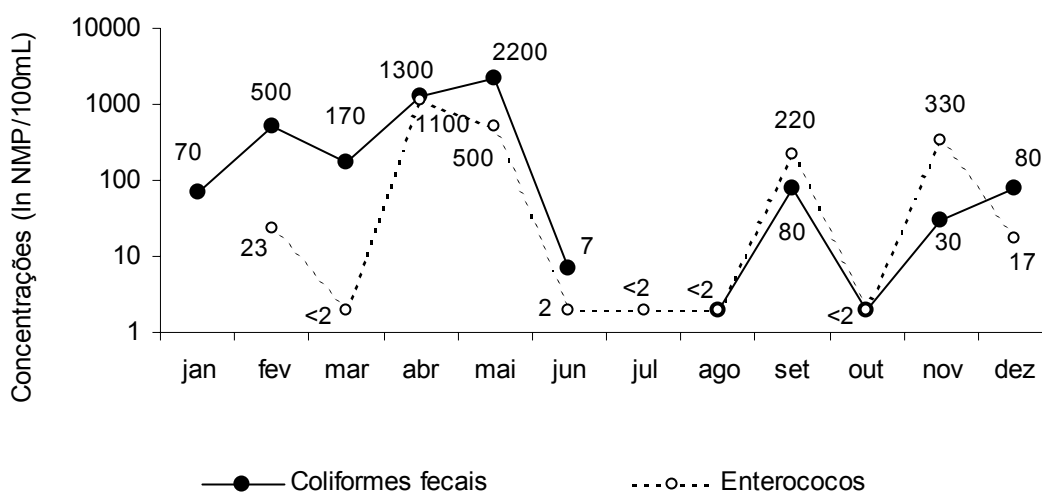


Figura 10: Variação das concentrações de coliformes fecais e enterococos (NMP/100mL) nas amostras de água coletadas na estação P2 durante o ano de 2004.

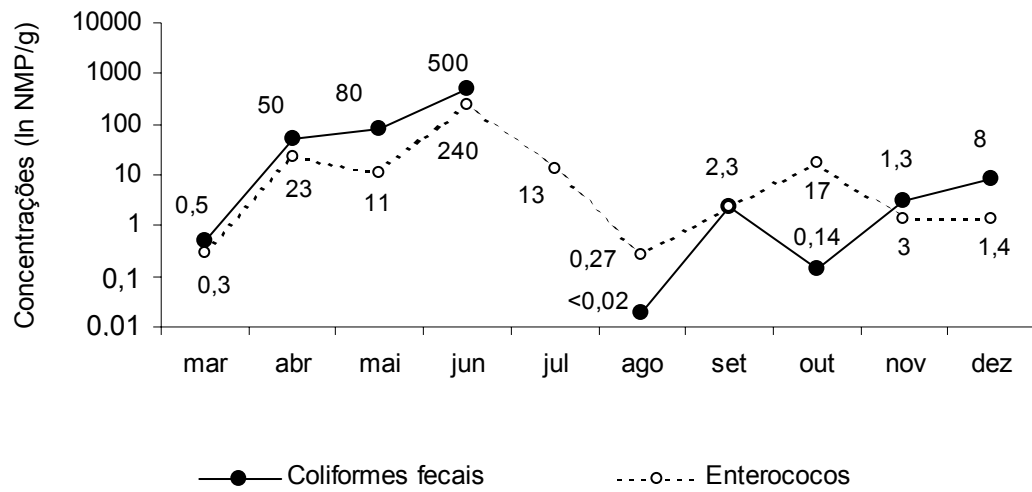


Figura 11: Variação das concentrações de coliformes fecais e enterococos (NMP/g) nos tecidos dos mexilhões coletados na estação P2 durante o ano de 2004.

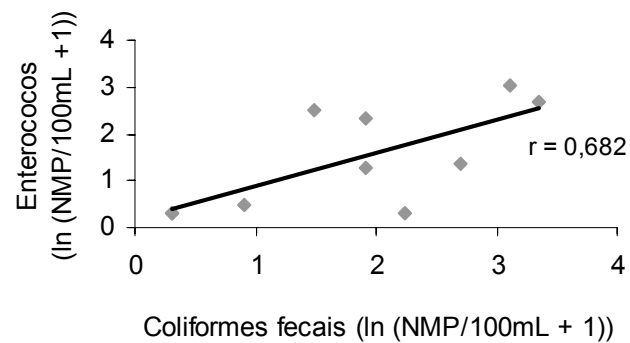


Figura 12: Regressão linear entre as concentrações de coliformes fecais e enterococos nas amostras de água (n = 10, P = 0,030) coletadas na estação P2 durante o ano de 2004.

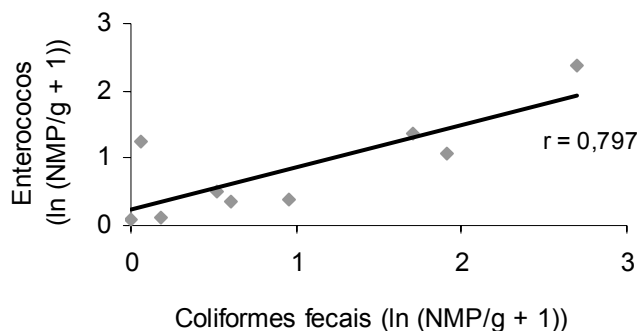


Figura 13: Regressão linear entre as concentrações de coliformes fecais e enterococos nos tecidos dos mexilhões ($n = 9$, $P = 0,010$) coletados na estação P2 durante o ano de 2004.

Tabela 3: Correlação entre as concentrações de coliformes fecais e enterococos encontradas durante o ano de 2004. Aplicação do Teste de Correlação de Pearson.

		ENTEROCOCOS (tecido)	ENTEROCOCOS (água)	COLIFORMES FECAIS (tecido)
COLIFORMES FECAIS (água)	Correlação de Pearson (r)	-0,146	0,682	-0,031
	Significância (P)	0,708	0,030*	0,938
	Número de valores (n)	9	10	9
COLIFORMES FECAIS (tecido)	Correlação de Pearson (r)	0,797	-0,120	1
	Significância (P)	0,010*	0,759	-
	Número de valores (n)	9	9	9
ENTEROCOCOS (água)	Correlação de Pearson (r)	-0,148	1	-0,120
	Significância (P)	0,684	-	0,759
	Número de valores (n)	10	10	9

* Correlação significativa: $P < 0,05$.

Em princípio, a concentração de enterococos nos tecidos é proporcionalmente menor do que a dos coliformes fecais. Porém, em outubro, observou-se que a concentração de enterococos (17 NMP/g) foi superior a de coliformes fecais (0,14 NMP/g), cuja concentração foi equivalente a 0,83% da concentração de enterococos.

O fato da concentração de enterococos nos tecidos dos mexilhões ter sido superior à de coliformes fecais no mês de outubro pode ter sido decorrente de diversos fatores, entre eles: ausência de chuvas no período que antecedeu à coleta, maior resistência dos enterococos às condições ambientais (e.g. radiação ultravioleta e salinidade) e diferença na quantidade de enterococos e coliformes fecais ingeridos durante a alimentação. Segundo Hanes e Fragala (1967), enterococos sobrevivem em média 2,4 dias, enquanto os coliformes fecais aproximadamente 0,8 dia, o que, provavelmente, explica a redução do número de bactérias entéricas na área de cultivo de Anchieta durante períodos com baixos índices pluviométricos. A redução ou ausência da pluviosidade torna mais lento o transporte dessas bactérias, fazendo com que elas levem um tempo maior para chegar ao corpo receptor, neste caso o rio Benevente, e, conseqüentemente, ao cultivo. Nestes casos é comum haver uma perda maior de coliformes fecais, em virtude de sua baixa resistência, levando a uma menor disponibilidade destas bactérias na água, o que acaba interferindo na concentração de bactérias assimiladas pelos mexilhões.

Regan, Margolin e Watkins (1993), ao avaliarem a qualidade sanitária e a segurança de mariscos em diferentes áreas da Baía de Narragansett encontrou, em áreas previamente consideradas próprias para o desenvolvimento de cultivo de moluscos bivalves, organismos cultivados cujas concentrações de enterococos nos tecidos foram <20 NMP/100g ($<0,2$ NMP/g). No cultivo de Anchieta a concentração média de enterococos nos tecidos dos mexilhões foi de 31 ± 74 NMP/g, portanto, segundo valores de enterococos encontrados por este autor para áreas *próprias*, *parcialmente próprias* e *impróprias*, a área estudada é considerada imprópria para o cultivo. Uma alternativa para minimizar a possível contaminação dos moluscos da área de cultivo de Anchieta por enterococos e garantir uma maior qualidade do produto, em termos de saúde pública, seria a realocação do cultivo para outro local, de preferência onde não haja influência do rio. Eventuais análises microbiológicas da água, realizadas no mesmo período deste estudo, em uma área de cultivo mais

afastada do rio, também em Anchieta, apresentaram concentrações de coliformes fecais entre <2 NMP/100mL (agosto e setembro/2004) e 50 NMP/100mL (dezembro/2004), apresentando uma concentração média de 14 ± 20 NMP/100mL ($n=6$). Com estas análises, confirmou-se uma redução da concentração de coliformes fecais com o afastamento da foz do rio, favorecendo uma possível realocação do cultivo localizado próximo ao rio. Análises de qualidade ambiental realizadas por Sodré (2001) no cultivo de mexilhões *P. perna* de Guaibura (Guarapari, ES), também apresentaram concentrações de coliformes fecais na água inferiores aos encontrados em Anchieta. Na área de cultivo de Guaibura os níveis de coliformes fecais na água ($<2-8$ NMP/100mL) apresentaram-se dentro dos padrões exigidos pelo CONAMA (1986), estando, ao contrário da área de cultivo de Anchieta, apta à prática de aquicultura.

Apesar de no mês de junho o limite de coliformes fecais (102 NMP/g) imposto pela Portaria nº541/97 do Ministério da Saúde ter sido ultrapassado, chegando a concentração de 500 NMP/g, nos outros meses de estudo a concentração destes organismos nos mexilhões esteve entre 0,14 e 80 NMP/g. Portanto, considerando-se a concentração média de coliformes fecais nos tecidos dos mexilhões (72 ± 163 NMP/g), ao longo do ano de 2004, nota-se que o valor encontrado esteve abaixo do limite máximo permitido por esta Portaria (Figura 14), permitindo, portanto, segundo a legislação, o consumo destes organismos. O alto desvio padrão observado é decorrente, principalmente, da grande concentração encontrada no mês de junho.

Os resultados das análises microbiológicas indicaram contaminação por coliformes fecais na água (738 ± 1315 NMP/100mL, $n=44$), considerando o limite máximo admissível de 14 NMP/100mL (CONAMA, 1986). Comparando-se a legislação brasileira com a de outros países, observa-se que no Brasil a legislação é mais flexível, uma vez que permite a coleta de organismos que, segundo os limites da Comunidade Européia, só poderiam ser comercializados se, antes de sua coleta, os mesmos fossem submetidos ao processo de purificação controlada; na Comunidade Européia são permitidas a coleta e venda direta para consumo humano quando os bivalves coletados apresentam NMP menor que 300 coliformes fecais por 100 gramas (3 NMP/g) de carne em teste de 5 tubos e 3 diluições (JOSÉ, 1999). Em média, a concentração de coliformes fecais nos tecidos dos mexilhões de Anchieta

foi 72 ± 163 NMP/g ($n = 9$), ou seja, 24 vezes maior que a permitida pela Comunidade Européia.

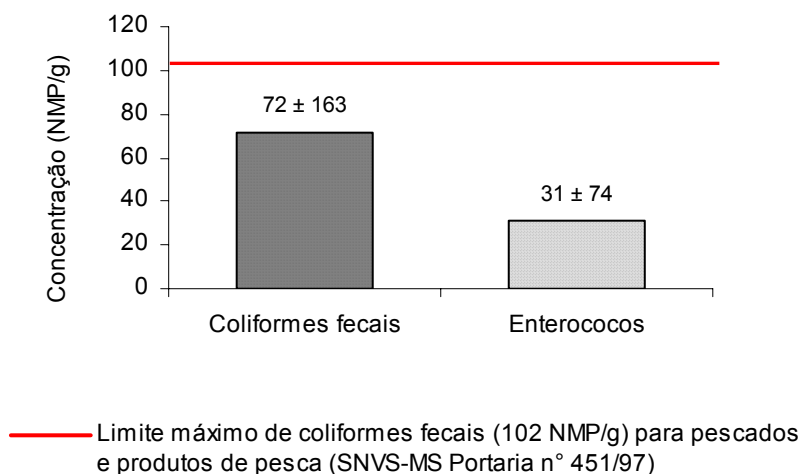


Figura 14: Concentrações médias de coliformes fecais e enterococos (NMP/g) nos tecidos dos mexilhões, coletados na estação P2 durante o ano de 2004, comparadas ao limite máximo de coliformes fecais (102 NMP/g) permitido pela Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (SNVS-MS) para o consumo de mexilhões.

A grande variação, entre os diversos países, dos limites máximos permissíveis de bactérias entéricas na água, para a prática da aquicultura, e nos tecidos, para comercialização de pescados e subprodutos da pesca, torna duvidosa a afirmação sobre a qualidade sanitária de determinado produto aquícola, no que diz respeito às condições ideais de consumo, baseado apenas nos limites impostos pela legislação. Uma solução para o problema seria a realização de estudos mais aprofundados sobre o assunto com o intuito de padronizar estes limites. No entanto, outras medidas podem ser tomadas para que os níveis de contaminação sejam controlados, entre elas: medidas de saneamento básico, visando a melhoria da qualidade das águas nas regiões costeiras; implementação de programas de monitoramento; e adoção de técnicas de depuração, garantindo níveis reduzidos de contaminantes que possam ter sido ingeridos juntamente com a água.

8. CONCLUSÃO

A seleção de áreas de cultivo de moluscos bivalves para consumo não deve levar em consideração apenas fatores relacionados às áreas abrigadas do batimento das ondas, salinidade adequada, disponibilidade de sementes, disponibilidade de alimento e acesso, mas também ao aspecto sanitário da água. Os resultados obtidos no presente estudo indicam que há contaminação microbiológica na área de cultivo de moluscos bivalves do município de Anchieta (ES), porém, apesar das concentrações de coliformes fecais na água terem ultrapassado o limite máximo permitido pela legislação brasileira para o cultivo de mexilhões, os produtos oriundos do cultivo apresentaram concentrações aceitáveis para consumo humano, conforme as especificações da legislação brasileira, independente da forma em que são consumidos.

9. PERSPECTIVAS

Visto que a maricultura tem apresentado um crescimento cada vez maior no Estado do Espírito Santo, espera-se que mais pesquisas sejam realizadas nas regiões costeiras com intuito de classificar as áreas para a prática desta atividade. Neste caso seria importante um estudo de gerenciamento costeiro integrado.

Uma outra necessidade é a realização de monitoramentos detalhados nas áreas de cultivo. Estudos de contaminação viral na água e nos tecidos dos mexilhões seriam bastante importantes no sentido de qualificar a sanidade do produto, sugerindo-se ainda, avaliações de microrganismos tóxicos nestas áreas.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA; AWWA; WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 20 ed. Washington: APHA, 1998.

AMOROS, I. Evaluation of Chromocult[®] Enterococci Broth (with Agar). **Poster presentation Congress of Spanish Society of Microbiology**. Madrid, 1995.

ANCHIETA ON LINE. **Anchieta – ES**: localização. 2002. Disponível em: <<http://www.anchietaonline.com.br/anchieta>>. Acesso em: 18 jun. 2004.

ARANA, L. V. **Aqüicultura e desenvolvimento sustentável**: subsídios para a formulação de políticas de desenvolvimento da aqüicultura brasileira. Florianópolis: UFSC, 1999. 310 p.

BARARDI, C. R. M.; SANTOS, C. S. dos; SIMÕES, C. M. O. Ostras de qualidade em Santa Catarina. **Ciência hoje**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 172, p. 70-73, jun. 2001.

BARNI, E.J.; SILVA, M.C.; ROSA, R. de C.C.; OGLIARI, R.A. Estudo do mercado de mexilhões em São Paulo, Curitiba e Porto Alegre. Florianópolis: Epagri, 2002. 43p. (Epagri. Documento, 210). Disponível em: <http://www.acaq.org.br/arquivos/estudo_pr_sp_rs.pdf>. Acesso em: 27 de julho de 2004.

CECCARELLI, P. S. Aqüicultura integrada: possíveis problemas de saúde devido ao uso de excretas na aqüicultura. **Panorama da aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 63, p. 38-40, jan./fev. 2001.

CHRISTENSEN, B. F.; LEES, D.; HENSHILWOOD, K.; BJERGSKOV, T.; GREEN, J. Human enteric viruses in oysters causing a large outbreak of human food borne infection in 1996/97. **Journal of shellfish research**, v. 17, n. 5, p. 1633-1635, 1998.

CETESB. Determinação do Número Mais Provável de coliformes totais e fecais pela técnica de tubos múltiplos. Normalização Técnica, n. L5.202, p. 1-21. São Paulo: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 1978.

CONAMA. Resolução nº 020, de 18 de junho de 1986. Dispõe sobre a classificação das águas de todo o Território Nacional e os limites de contaminantes orgânicos e inorgânicos segundo o seu uso. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 30 de julho de 1986.

CONAMA. Resolução nº 274, de novembro de 2000. Dispõe sobre a qualidade das águas utilizadas para fins de balneabilidade. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 08 de janeiro de 2001.

COSTA, K. G. **Efeito do cultivo do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) na comunidade macrobentônica do sedimento da praia do Coqueiro, município de Anchieta – ES**. 2004. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Programa Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2004.

DAME, R. F. Organismic level processes. In: _____. **Ecology of marine bivalves: an ecosystem approach**. c. 3, p. 35-74. New York: CRC Press, 1996.

DHN. **Tábuas das marés**: Terminal da Ponta do Ubu (Estado do Espírito Santo). Disponível em: <www.dhn.mar.mil.br/chm/tabuas>. Acesso em: 03 de março de 2005.

DIONÍSIO, L. P. C.; RHEINHEIMER, G.; BORREGO, J. J. Microbiological pollution of Ria Formosa (South of Portugal). **Marine Pollution Bulletin**. v. 40, n. 2, p. 186-193. Great Britain: Elsevier Science Ltd, 2000.

EFSTRATIOU, M. A. Managing coastal bathing water quality: the contribution of microbiology and epidemiology. **Marine Pollution Bulletin**. v. 42, n. 6, p. 425-432, Great Britain: Elsevier Science Ltd, 2001.

EPAGRI. **Informativo EPAGRI** (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A.): IBAMA concede licença a maricultores. 2004. <<http://www.epagri.rct-sc.br>>. Acesso em: 27 de julho de 2004.

GARCIA-PRADO, J. A. **Avaliação comparativa do crescimento e da engorda de *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) e *C. gigas* (Thunberg, 1793) na Praia do Coqueiro, Anchieta, ES**. 2004. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) –

Programa Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2004.

GOSLING, E. Public health. In: _____. **Bivalve molluscs: biology, ecology and culture**. c. 12, p. 412-431. Malden: Blackwell Science, 2003.

GUIA DO TURISTA. **Descobrimdo o Brasil**. Editora Guia do Turista. Disponível em: <<http://www.guiadoturista.com.br/suacidade.asp?cod=277>>. Acesso em: 18 jun. 2004.

HANES, N. B.; FRAGALA, C. Effect of seawater concentration on the survival of indicator bacteria. **J Water Pollut Control Fed**. p. 39-97, 1967.

HARTMAN, P. A.; DEIBEL, R. H.; SIEVERDING, L. M. Indicator microorganisms and pathogens: enterococci. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3. ed., c. 32, p. 523-531. Washington: APHA, 1992.

HUSS, H. H. Assurance of seafood quality. **FAO Fisheries Technical Paper**. n. 34. Rome: FAO, 1994. 169p.

JOSÉ, V. F. Bivalves e a segurança do consumidor. In: JACOBI, Pedro Roberto (editor). **Ciência ambiental: os desafios da interdisciplinaridade**. 1. ed., p. 39-60. São Paulo: ANNABLUME. dez., 1999.

LITSKY, W.; MALLMANN, W.L.A.; FIFIELD, C.W. A new medium for the detection of enterococci in water. **Amer. J. Pbl. Helth**. n. 43, p. 873-879, 1953.

MAGALHÃES, A. R. M. Sanidade de moluscos e crustáceos. In: VALENTI, W. C.; POLI, C. R.; PEREIRA, J. A.; BORGHOTTI, J. R. (Eds). **Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. c. 6.3, p. 221-231. Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000. 399 p.

MANAFI, M. A.; SOMMER, R. Rapid identification of enterococci with a new fluorogenic-chromogenic assay. **Wat. Sci. Tech**. n. 27; p. 271-274, 1993.

MARI, A. J.; & MARIAZZI, A. A. Cuantificacion de bacterias indicadoras de contaminacion fecal. In: LOPRETTO, E. C. & TELL, G. **Ecosistemas de aguas**

continentales: metodologias para su estudio. p. 95-104. La Plata: Ediciones SUR. 1, 1995.

MELANCON, M. J. Bioindicators used in aquatic and terrestrial monitoring. In: HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON JÚNIOR, G. A.; CAIRNS JÚNIOR, J. (Eds). **Handbook of ecotoxicology**. c. 11, p. 220-240. New York: Lewis Publishers, 1995. 755 p.

MENDONÇA-HAGLER, L. C.; VIEIRA, R. H. S. F.; HAGLER, A. N. Microbial quality of water, sediment, fish and shellfish in some brazilian coastal regions. In: FARIA, B. M.; FARJALLA, V. F.; ESTEVES, F. A. (Eds). **Aquatic microbial ecology in Brazil**. Series oecologia brasiliensis, v. 9, p. 197-216. PPGE-UFRJ. Rio de Janeiro, Brazil, 2001.

MIESCIEER, J. J.; HUNT, D. A.; REDMAN, J.; SALINGER, A.; LUCAS, J. P. Molluscan shellfish: oysters, mussels, and clams. In: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; TECHNICAL COMMITTEE ON MICROBIOLOGICAL METHODS FOR FOODS. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3 ed., c. 48, p. 897- 918. Washington: APHA, 1992.

MUJIKA, M.; CALVO, M.; LUCENA, F.; GIRONES, R. Comparative analysis of pathogens and potencial indicators in shellfish. **International journal of food microbiology**, n. 83, p. 75-85. Elsevier Science Ltd, 2003.

OLIVEIRA, C. A. M. **Variações espaciais e temporais da biomassa fitoplanctônica em uma área de maricultura no município de Anchieta – ES**. 2005. Monografia (Graduação em Oceanografia) – Bacharelado em Oceanografia, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2005.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; PEDINI, M. Situação atual da aqüicultura brasileira e mundial. In: VALENTI, Wagner Cotroni (editor). **Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. c. 12. p. 353-381. Brasília: CNPq / Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000. 399p.

PINTO, P. dos S. **Estudo do fitoplâncton em diferentes ambientes de uma área de malacocultura (Anchieta – ES)**. 2005. Monografia (Graduação em

Oceanografia) – Bacharelado em Oceanografia, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2005.

PITT, R. E. Effects of urban runoff on aquatic biota. In: HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON JÚNIOR, G. A.; CAIRNS JÚNIOR, J. (Eds). **Handbook of ecotoxicology**. cap. 28, p. 609-630. New York: Lewis Publishers, 1995. 755 p.

PROENÇA, C. E. M. de; OLIVEIRA NETO, F. M. de. Legislação. In: VALENTI, W. C.; POLI, C. R.; PEREIRA, J. A.; BORGHOTTI, J. R. (Eds). **Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. c. 4, p. 143-179. Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000. 399 p.

REGAN, P. M.; MARGOLIN, A. B.; WATKINS, W. D. Evaluation of microbial indicators for the determination of the sanitary quality and safety of shellfish. **Journal of shellfish research**, v. 12, n. 1, p. 95-100. 1993.

RIBEIRO, E. N. **Avaliação de indicadores microbianos de balneabilidade em ambientes costeiros de Vitória/ES**. 2002. 122f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2002.

ROUBACH, R.; CORREIA, E.S.; ZAIDEN, S.; MARTINO, R.C.; CAVALLI, R.O. Aqüicultura brasileira. **Panorama da aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 76, p. 47-57, mar./abr. 2003.

SÁ, F. S. de. **O efeito dos organismos incrustantes e sua fauna associada, no crescimento do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) em estruturas de cultivo**. 2004. 58f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Programa Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2004.

SAMARCO. Confira a produção de julho. **Notícias Samarco**, 2 de agosto de 2004. Disponível em:<<http://www.samarco.com.br>>. Acesso em: 27 de agosto de 2004.

SANT'ANNA, R. O.; DALFIOR, J. S. **Variabilidade da concentração de coliformes fecais na praia da Curva da Jurema, Vitória (ES)**. 2004. 48 f. Trabalho de

Conclusão de Curso (Tecnologia em Saneamento Ambiental), Centro Federal de Educação Tecnológica do Espírito Santo, Vitória, 2004.

SNVS-MS. **Portaria nº 451, de 19 de setembro de 1997**. Dispositivo legal que aprova o Regulamento Técnico Princípios Gerais para o Estabelecimento de Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos e seus Anexos I, II e III. Brasil: 2 de julho de 1998.

SILVA, D. N. E. **Padrão de fixação de sementes do mexilhão *Perna perna* (Linné, 1758) no costão rochoso da Praia do Coqueiro, Anchieta – ES**. 2003. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2003.

SODRÉ, F. N. G. A. dos S. **Avaliação da qualidade ambiental e crescimento do mexilhão *Perna perna* (LINNÉ, 1758) no Parque de Cultivo de Moluscos Bivalves de Guaibura, Guarapari – ES**. 2001. 99f. Monografia (Especialização em Ecologia e Recursos Naturais) – Programa Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2001.

SPENCER, B. E. Processing live bivalves for consumption. In:____. **Molluscan shellfish farming**. c. 12, p. 245-264. Malden: Blackwell Science, 2002.

SPSS. **8.0.0. Standard Version**. Copyright © Statistical Package Social Science Inc., 1989 – 1997.

SUBTIL, E. L. **Variação espacial do fósforo e da matéria orgânica e granulometria em locais sob influência direta e indireta de cultivo de moluscos bivalves**. 2005. Monografia (Graduação em Oceanografia) – Bacharelado em Oceanografia, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2005.

SUPLICY, F. A capacidade de suporte nos cultivos de moluscos: está no Decreto, mas poucos sabem exatamente do que se trata. **Panorama da aquicultura**, v. 10, n. 57, p. 21-24, jan/fev, 2000.

VALLE, R. P.; PROENÇA, C. E. M. de. Evolução e perspectivas da aquicultura no Brasil. In: VALENTI, Wagner Cotroni (editor). **Aquicultura no Brasil**: bases para um

desenvolvimento sustentável. c. 13. p. 383-398. Brasília: CNPq / Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000. 399p.

VIEIRA, R. H. S. dos F.; SILVA, P. R. F. G. da; LEHUGEUR, L. G. de O.; SOUZA, O. V. de. Colimetria da água da Praia da Barra do Ceará – Fortaleza – Ceará. **Arq. Ciên. Mar.**, n.32. p. 119-122. Fortaleza, 1999.

WANG, C. W. Assessment of microbial water quality of coastal waters in Southeast Asian countries. In: VIEGERS, G. *et al* (Eds). **Asian marine environmental management quality criteria for aquatic life and human health protection**. Proceeding, Asian Penang, Malaysia, jun, p. 24-28/496, 1997.

WHITMAN, K. A. **Finfish and shellfish bacteriology manual**: techniques and procedures. 1. ed. Ames: Iowa State Press, 2004. 258 p.

ANEXOS

ANEXO A

RESOLUÇÃO CONAMA Nº 020, de 18 de junho de 1986 (RESUMIDA)

O CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA, no uso das atribuições que lhe confere o art. 7º, inciso IX, do Decreto 88.351, de 1º de junho de 1983, e o que estabelece a RESOLUÇÃO CONAMA Nº 003, de 5 de junho de 1984;

Considerando ser a classificação das águas doces, salobras e salinas essencial à defesa de seus níveis de qualidade, avaliados por parâmetros e indicadores específicos, de modo a assegurar seus usos preponderantes;

Considerando que os custos do controle de poluição podem ser melhor adequados quando os níveis de qualidade exigidos, para um determinado corpo d'água ou seus diferentes trechos, estão de acordo com os usos que se pretende dar aos mesmos;

Considerando que o enquadramento dos corpos d'água deve estar baseado não necessariamente no seu estado atual, mas nos níveis de qualidade que deveriam possuir para atender às necessidades da comunidade;

Considerando que a saúde e o bem-estar humano, bem como o equilíbrio ecológico aquático, não devem ser afetados como consequência da deterioração da qualidade das águas;

Considerando a necessidade de se criar instrumentos para avaliar a evolução da qualidade das águas, em relação aos níveis estabelecidos no enquadramento, de forma a facilitar a fixação e controle de metas visando atingir gradativamente os objetivos permanentes;

Considerando a necessidade de reformular a classificação existente, para melhor distribuir os usos, contemplar as águas salinas e salobras e melhor especificar os parâmetros e limites associados aos níveis de qualidade requeridos, sem prejuízo de posterior aperfeiçoamento;

RESOLVE estabelecer a seguinte classificação das águas, doces, salobras e salinas do Território Nacional:

Art. 1º - São classificadas, segundo seus usos preponderantes, em nove classes, as águas doces, salobras e salinas do Território Nacional:

ÁGUAS SALINAS

VI - Classe 5 - águas destinadas:

a) à recreação de contato primário;

- b) à proteção das comunidades aquáticas;
- c) à criação natural e/ou intensiva (aquicultura) de espécies destinadas à alimentação humana.

ÁGUAS SALOBRAS

VIII - Classe 7 - águas destinadas:

- a) à recreação de contato primário;
- b) à proteção das comunidades aquáticas;
- c) à criação natural e/ou intensiva (aquicultura) de espécies destinadas à alimentação humana.

Art. 2º - Para efeito desta resolução são adotadas as seguintes definições.

- a) CLASSIFICAÇÃO: qualificação das águas doces, salobras e salinas com base nos usos preponderantes (sistema de classes de qualidade).
- b) ENQUADRAMENTO: estabelecimento do nível de qualidade (classe) a ser alcançado e/ou mantido em um segmento de corpo d'água ao longo do tempo.
- c) CONDIÇÃO: qualificação do nível de qualidade apresentado por um segmento de corpo d'água, num determinado momento, em termos dos usos possíveis com segurança adequada.
- d) EFETIVAÇÃO DO ENQUADRAMENTO: conjunto de medidas necessárias para colocar e/ou manter a condição de um segmento de corpo d'água em correspondência com a sua classe.
- e) ÁGUAS DOCES: águas com salinidade igual ou inferior a 0,50 %.
- f) ÁGUAS SALOBRAS: águas com salinidade igual ou inferior a 0,5 % e 30 %.
- g) ÁGUAS SALINAS: águas com salinidade igual ou superior a 30 %.

ÁGUAS SALINAS

Art. 8º - Para as águas de Classe 5, são estabelecidos os limites ou condições seguintes:

- a) materiais flutuantes: virtualmente ausentes;
- b) óleos e graxas: virtualmente ausentes;
- c) substâncias que produzem odor e turbidez: virtualmente ausentes;
- d) corantes artificiais: virtualmente ausentes;
- e) substâncias que formem depósitos objetáveis: virtualmente ausentes;

f) coliformes: para o uso de recreação de contato primário deverá ser obedecido o Art. 26 desta Resolução. Para o uso de criação natural e/ou intensiva de espécies destinadas à alimentação humana e que serão ingeridas cruas, não deverá ser excedida uma concentração média de 14 coliformes fecais por 100 mililitros, com não mais de 10% das amostras excedendo 43 coliformes fecais por 100 mililitros. Para os demais usos não deverá ser excedido um limite de 1,000 coliformes fecais por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 5 amostras mensais colhidas em qualquer mês; no caso de não haver, na região, meios disponíveis para o exame de coliformes totais por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 5 amostras mensais colhidas em qualquer mês;

g) DBO5 dias a 20°C até 5 mg/1 O₂;

h) OD, em qualquer amostra, não inferior a 6 mg/1 O₂;

i) pH: 6,5 à 8,5, não devendo haver uma mudança do pH natural maior do que 0,2 unidade;

j) substâncias potencialmente prejudiciais (teores máximos):

Alumínio:	1,5 mg/l Al	Sulfetos com H ₂ S:	0,002 mg/1 S
Amônia não ionizável:	0,4 mg/1 NH ₃ .	Tálio :	0, 1 mg/1 TI
Arsênio:	0,05 mg/1 As	Urânio Total:	0,5 mg/1 U
Bário:	1,0 mg/i Ba	Zinco:	0,17 mg/1 Zn
Berílio:	1,5 mg/1 Be	Aldrin:	0,003 - ug/1
Boro:	5,0 mg/1 B	Clordano:	0,004 ug/1
Cádmio:	0,005 mg/1 Cd	DDT:	0,001 ug/1
Chumbo:	0,01 mg/1 Ph	Demeton:	0,1 ug/1
Cianetos:	0,005 mg/l CN	Dieldrin:	0,003 ug/1
Cloro residual:	0,01 mg/1 Cl	Endossulfan:	0,034 ug/1
Cobre :	0,05 mg/1 Cu	Endrin:	0,004 ug/1
Cromo hexavalente:	0,05 mg/l Cr	Epóxido de Heptacloro:	0,001 ug/1
Estanho:	2,0 mg/1 Sn	Heptacloro:	0,001 ug/1
Índice de fenóis:	0,001 mg/l C ₆ H ₅ OH	Metoxicloro:	0,03 ug/1
Ferro:	0,3 mg/1 Fe	Lindano (gama - BHC):	0,004 ug/1
Fluoretos:	1,4 mg/l F	Dodecacloro + Nonadoro:	0,001 ug/1
Manganês:	0,1 mg/1 Mn	Gution:	0,01 ug/1
Mercúrio:	0,0001 mg/1 Hg	Malation:	0,1 ug/1

Níquel:	0,1 mg/l Ni	Toxafeno:	0,005 ug/1
Nitrato :	10,0 mg/1N	Compostos organofosforados	e
Nitrito :	1,0 mg/ N	carbonatos totais:	10,0 ug/1 em Paration
Prata:	0,005 m/1 Ag	2,4 .- D:	10,0 ug/1
Selênio:	0,01 mg/1 Se	2, 4, 5 - TP:	10,0 ug/1
Substâncias tensoativas que reagem com o azul de metileno:	0,5 mg/1 - LAS	2, 4, 5 - T:	10,0 ug/1

ÁGUAS SALOBRAS

Art. 10 - Para as águas de Classe 7, são estabelecidos os limites ou condições seguintes:

- a) DBO5 dias a 20°C até 5 mg/1 O₂;
- b) OD, em qualquer amostra, não inferior a 5 mg/1 O₂;
- c) pH: 6,5 a 8,5
- d) óleos e graxas: virtualmente ausentes;
- e) materiais flutuantes: virtualmente ausentes;
- f) substâncias que produzem cor, odor e turbidez: virtualmente ausentes;
- g) substâncias que formem depósitos objetáveis: virtualmente ausentes;
- h) coliformes; para uso de recreação de contato primário deverá ser obedecido o Art. 26 desta Resolução, Para o uso de criação natural e/ou intensiva de espécies destinadas à alimentação humana e que serão ingeridas cruas, não deverá ser excedido uma concentração média de 14 coliformes fecais por 100 mililitros com não mais de 10% das amostras excedendo 43 coliformes fecais por 100 mililitros. Para os demais usos não deverá ser excedido um limite de 1.000 coliformes fecais por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 5 amostras mensais, colhidas em qualquer mês; no caso de não haver na região, meios disponíveis para o exame de coliformes fecais, o índice limite será de até 5.000 coliformes totais por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 5 amostras mensais, colhidas em qualquer mês;
- i) substâncias potencialmente prejudiciais (teores máximos);

Amônia não ionizável:	0,4 mg/1 NH ₃ .	Dieldrin:	0,003 ug/1
-----------------------	----------------------------	-----------	------------

Arsênio:	0,05 mg/1 As	Endrin:	0,004 ug/1
Cádmio:	0,005 mg/1 Cd	Endossulfan:	0,034 ug/1
Cianetos:	0,005 mg/1 CN	Epóxido de heptacloro:	0,001 ug/1
Chumbo:	0,01 mg/1 Pb	Gution:	0,01 ug/1
Cobre:	0,05 mg/1 Cu	Heptacloro:	0,001 ug/1
Cromo hexavalente:	0,05 mg/1 Cr	Lindano (gama . BHC):	0,004 ug/1
Índice de fenóis:	0,001 mg/1C6H5OH	Malation:	0,1 ug/1
Fluoretos:	1,4 mg/1 F	Metoxicloro:	0,03 ug/1
Mercúrio:	0,0001 mg/1 Hg	Dodecacloro + Nonacloro:	0,001 ug/1
Níquel:	0,1 mg/1 Ni	Paration:	0,04 ug/1
Sulfetos como H2S:	0,002 mg/1 S	Toxafeno:	0,005 ug/1
Zinco:	0,17 mg/1 Zn	Compostos organofosforados e carbonatos totais:	10,0 ug/1 em Paration
Aldrin:	0,003 ug/1	2,4 - D:	10,0 ug/1
Clordano:	0,004 ug/1	2, 4, 5 - T:	10,0 ug/1
DDT:	0,001 ug/1	2, 4, 5 - TP:	10,0 ug/1
Demeton:	0,1 ug/1		

Art. 12 - Os padrões de qualidade das águas estabelecidos nesta Resolução constituem-se em limites individuais para cada substância. Considerando eventuais ações sinérgicas entre as mesmas, estas ou outras não especificadas, não poderão conferir às águas características capazes de causarem efeitos letais ou alteração de comportamento, reprodução ou fisiologia da vida.

§ 1º - As substâncias potencialmente prejudiciais a que se refere esta Resolução, deverão ser investigadas sempre que houver suspeita de sua presença,

§ 2º - Considerando as limitações de ordem técnica para a quantificação dos níveis dessas substâncias, os laboratórios dos organismos competentes deverão estruturar-se para atenderem às condições propostas. Nos casos onde a metodologia analítica disponível for insuficiente para quantificar as concentrações dessas substâncias nas águas, os sedimentos e/ou biota aquática deverão ser investigados quanto a presença eventual dessas substâncias.

Art. 13 - Os limites de DBO, estabelecidos para as Classes 2 e 3, poderão ser elevados, caso o estudo da capacidade de autodepuração do corpo receptor demonstre que os teores mínimos de OD, previstos, não serão desobedecidos em nenhum ponto do mesmo, nas condições críticas de vazão

(Qcrit. " Q7,10 , onde Q7.10, é a média das mínimas de 7 (sete) dias consecutivos em 10 (dez) anos de recorrência de cada seção do corpo receptor).

Art. 14 - Para os efeitos desta Resolução, consideram-se entes, cabendo aos órgãos de controle ambiental, quando necessário, quantificá-los para cada caso.

Art. 15 - Os órgãos de controle ambiental poderão acrescentar outros parâmetros ou tornar mais restritivos os estabelecidos nesta Resolução, tendo em vista as condições locais.

Art. 16 - Não há impedimento no aproveitamento de águas de melhor qualidade em usos menos exigentes, desde que tais usos não prejudiquem a qualidade estabelecida para essas águas.

Art. 17 - Não será permitido o lançamento de poluentes nos mananciais sub-superficiais.

Art. 18 - Nas águas de Classe Especial não serão tolerados lançamentos de águas residuárias, domésticas e industriais, lixo e outros resíduos sólidos, substâncias potencialmente tóxicas, defensivos agrícolas, fertilizantes químicos e outros poluentes, mesmo tratados. Caso sejam utilizadas para o abastecimento doméstico deverão ser submetidas a uma inspeção sanitária preliminar.

Art. 19 - Nas águas das Classes 1 a 8 serão tolerados lançamentos de desejos, desde que, além de atenderem ao disposto no Art. 21 desta Resolução, não venham a fazer com que os limites estabelecidos para as respectivas classes sejam ultrapassados.

Art. 20 - Tendo em vista os usos fixados para as Classes, os órgãos competentes enquadrarão as águas e estabelecerão programas de controle de poluição para a efetivação dos respectivos enquadramentos, obedecendo ao seguinte:

a) o corpo de água que, na data de enquadramento, apresentar condição em desacordo com a sua classe (qualidade inferior à estabelecida,), será objeto de providências com prazo determinado visando a sua recuperação, excetuados os parâmetros que excedam aos limites devido às condições naturais;

b) o enquadramento das águas federais na classificação será procedido pela SEMA, ouvidos o Comitê Especial de Estudos Integrados de Bacias Hidrográfica; - CEEIBH e outras entidades públicas ou privadas interessadas;

c) o enquadramento das águas estaduais será efetuado pelo órgão estadual competente, ouvidas outras entidades públicas ou privadas interessadas;

d) os órgão competentes definirão as condições específicas de qualidade dos corpos de água intermitentes;

e) os corpos de água já enquadrados na legislação anterior, na data da publicação desta Resolução, serão objetos de reestudo a fim de a ela se adaptarem;

f) enquanto não forem feitos os enquadramentos, as águas doces serão consideradas Classe 2, as salinas Classe 5 e as salobras Classe 7, porém, aquelas enquadradas na legislação anterior permanecerão na mesma classe até o reenquadramento;

g) os programas de acompanhamento da condição dos corpos de água seguirão normas e procedimentos a serem estabelecidos pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA.

Art. 21 - Os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados, direta ou indiretamente, nos corpos de água desde que obedeçam às seguintes condições:

a) pH entre 5 a 9;

b) temperatura: inferior a 40°C, sendo que a elevação de temperatura do corpo receptor não deverá exceder a 3°C;

c) materiais sedimentáveis: até ml/litro em teste de 1 hora em cone Imhoff. Para o lançamento em lagos e lagoas, cuja velocidade de circulação seja praticamente nula, os materiais sedimentáveis deverão estar virtualmente ausentes;

d) regime de lançamento com vazão máxima de até 1,5 vezes a vazão média do período de atividade diária do agente poluidor;

e) óleos e graxas:

- óleos minerais até 20 mg/1;

- óleos vegetais e gorduras animais até 50 mg/1;

f) ausência de materiais flutuantes;

g) valores máximos admissíveis das seguintes substâncias:

Amônia:	5,0 mg/1 N	Mercúrio:	0,01 mg/1 Hg
Arsênio total:	0,5 mg/1 As	Níquel:	2,0 mg/1 Ni
Bário:	5,0 mg/ Ba	Prata:	0, 1 mg/1 Ag
Boro:	5,0 mg/1 B	Selênio:	0,05 mg/1 Se
Cádmio:	0,2 mg/1 Cd	Sulfetos:	1,0 mg/1 S
Cianetos:	0,2 mg/1 CN	Sulfitos:	1,0 mg/1 S03
Chumbo:	0,5 mg/1 Pb	Zinco:	5,0 mg/1 Zn

Cobre:	1,0 mg/1 Cu	Compostos organofosforados e carbonatos totais:	1,0 mg/1 em Paration
Cromo hexavalente:	0,5 mg/1 Cr	Sulfeto de carbono:	1,0 mg/1
Cromo trivalente:	2,0 mg/1 Cr	Tricloroeteno:	1 ,0 mg/1
Estanho:	4,0 mg/1 Sn	Clorofórmio:	1 ,0 mg/1
Índice de fenóis:	0,5 mg/1C6H5OH	Tetracloroeto de Carbono:	1,0 mg/1
Ferro solúvel:	15,0 mg/1 Fe	Dicloroeteno:	1,0 mg/1
Fluoretos:	10,0 mg/1 F	Dicloroeteno:	0,05 mg/1
Manganês solúvel:	1,0 mg/1 Mn		

Compostos organoclorados não listados acima (pesticidas, solventes, etc);

Outras substâncias em concentrações que poderiam ser prejudiciais: de acordo com limites a serem fixados pelo CONAMA.

h) tratamento especial, se provierem de hospitais e outros estabelecimentos nos quais haja despejos infectados com microorganismos patogênicos.

Art. 22 - Não será permitida a diluição de efluentes industriais com aluas não poluídas, tais como água. de abastecimento, água de mar e água de refrigeração.

Parágrafo Único - Na hipótese de fonte de poluição geradora de diferentes despejos ou emissões individualizadas, os limites constantes desta regulamentação aplicar-se-ão a cada um deles ou ao conjunto após a mistura, a critério do órgão competente.

Art. 23 - Os efluentes não poderão conferir ao corpo receptor características em desacordo com o seu enquadramento nos termos desta Resolução.

Parágrafo Único - Resguardados os padrões de qualidade do corpo receptor, demonstrado por estudo de impacto ambiental realizado pela entidade responsável pela emissão, o órgão competente poderá autorizar lançamentos acima dos limites estabelecidos no Art. 21, fixando o tipo de tratamento e as condições para es« lançamento.

Art. 24 - Os métodos de coleta e análise« das águas devem ser os especificados nas normas aprovadas pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normatização e Qualidade Industrial - INMETRO ou, na ausência delas, no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA-AWWA-WPCF, última edição, ressalvado o disposto no Art. 12. O índice de fenóis deverá ser determina do conforme o método 510 B do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 16ª edição, de 1985.

Art. 25 - As indústrias que, na data da publicação desta Resolução, possuírem instalações ou projetos de tratamento de seus despejos, aprovados por órgão integrante do Sistema Nacional do Meio Ambiente - SISNAMA, que atendam à legislação anteriormente em vigor, terão prazo de três (3) anos, prorrogáveis até cinco (5) anos, a critério do Órgão Estadual Local, para se enquadrarem nas exigências desta Resolução. No entanto, as citadas instalações de tratamento deverão ser mantidas em operação com a capacidade, condições de funcionamento e demais características para as quais foram aprovadas, até que se cumpram as disposições desta Resolução.

DISPOSIÇÕES GERAIS

Art. 35 - Aos órgãos de controle ambiental compete a aplicação desta Resolução, cabendo-lhes a fiscalização para o cumprimento da legislação, bem como a aplicação das penalidades previstas, inclusive a interdição de atividades industriais poluidoras.

Art. 36 - Na inexistência de entidade estadual encarregada do controle ambiental ou se, existindo, apresentar falhas, omissões ou prejuízo sensíveis aos usos estabelecidos para as águas, a Secretaria Especial do Meio Ambiente poderá agir diretamente, em caráter supletivo.

Art. 37 - Os órgãos estaduais de controle ambiental manterão a Secretaria Especial do Meio Ambiente informada sobre os enquadramentos dos corpos de água que efetuarem, bem como das normas e padrões complementares que estabelecerem.

Art. 38 - Os estabelecimentos industriais, que causam ou possam causar poluição das águas, devem informar ao órgão de controle ambiental, o volume e o tipo de seus efluentes, os equipamentos e dispositivos antipoluidores existentes, bem como seus planos de ação de emergência, sob pena das sanções cabíveis, ficando o referido órgão obrigado a enviar cópia dessas informações ao IBAMA, à STI (MIC), ao IBGE (SEPLAN) e ao DNAEE (MME).

Art. 39 - Os Estados, Territórios e o Distrito Federal, através dos respectivos órgãos de controle ambiental, deverão exercer sua atividade orientadora, fiscalizadora e punitiva das atividades potencialmente poluidoras instaladas em seu território, ainda que os corpos de água prejudicados não sejam de seu domínio ou jurisdição.

Art. 40 - O não cumprimento ao disposto nesta Resolução acarretará aos infratores as sanções previstas na Lei nº 6.938, de 31 de agosto de 1981, e sua regulamentação pelo Decreto nº 88.351, de 01 de junho de 1983.

Art. 41 - Esta Resolução entrará em vigor na data de sua publicação, revogadas as disposições em contrário.

ANEXO B

PORTARIA Nº 451, DE 19 DE SETEMBRO DE 1997 (*) (RESUMIDA)

A Secretária de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, no uso de suas atribuições legais, conforme legislação nacional vigente e considerando:

a necessidade do constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário, com vistas a proteção da saúde da população;

quanto a definição de critérios e padrões microbiológicos para alimentos é indispensável às Boas Práticas de Produção de Alimentos e Prestação de Serviços na área da Alimentação;

a importância de compatibilizar a legislação nacional com regulamentos harmonizados no Mercosul, relacionados aos critérios e padrões microbiológicos para alimentos - Resoluções Mercosul GMC nº 59/93, 69/93, 70/93, 71/93, 82/93, 16/94, 43/94, 63/94, 78/94, 79/94, 29/96, 30/96, 31/96, 32/96, 34/96, 42/96, 78/96, 81/96, 82/96, 83/96, 145/96, RESOLVE:

Art. 1º - Aprovar o Regulamento Técnico Princípios Gerais para o Estabelecimento de Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos e seus Anexos I, II e III.

Art. 2º - Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação. Revogadas as disposições em contrário, em especial a Portaria DINAL/SNVS nº 01, de 28 de janeiro de 1987.

MARTA NÓBREGA MARTINEZ

REGULAMENTO TÉCNICO

PRINCÍPIOS GERAIS PARA O ESTABELECIMENTO DE CRITÉRIOS E PADRÕES MICROBIOLÓGICOS PARA ALIMENTOS

INTRODUÇÃO

Os princípios gerais a serem aplicados para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos têm justificativa no que se refere aos problemas de saúde pública e na necessidade de uniformizar os padrões para o comércio entre os países.

Por esta razão, organismos internacionais como FAO ("Food Agricultural Organization", OMS (Organização Mundial da Saúde) tem demonstrado preocupação crescente sobre este tema.

O CODEX ALIMENTARIUS tem editado continuamente documentação normativa que regulamenta este tema e o I.C.M.S.F. ("International Commission on Microbiological Specifications for Foods") tem publicado embasamento técnico e tem colaborado com as atividades do CODEX ALIMENTARIUS.

Considerando que os países que integram o MERCOSUL também integram e participam ativamente na elaboração dos documentos do CODEX ALIMENTARIUS e do I.C.M.S.F., estes últimos poderão ser considerados como referências.

Os padrões estabelecidos pela presente Portaria se referem aos produtos alimentícios expostos à venda no comércio ou de alguma forma dados ao uso e/ou consumo.

CRITÉRIOS E PADRÕES MICROBIOLÓGICOS APLICÁVEIS AOS ALIMENTOS

Princípios gerais para o estabelecimento

1- Definição para os critérios microbiológicos para os alimentos:

1.1- Caracterização dos microrganismos e/ou suas toxinas considerados de interesse. Para esta finalidade os microrganismos compreendem bactérias, vírus, bolores e leveduras;

1.2- Classificação dos alimentos segundo o perigo (risco) epidemiológico;

1.3- Métodos de análise que permitam sua determinação, assim como o estabelecimento de um sistema de Garantia de Qualidade Analítica;

1.4- Plano de Amostragem para a determinação do número e tamanho de unidades de amostras a serem analisadas;

1.5- Tolerância microbiológicas (normas e padrões) que devem ser respeitadas;

1.6- Caracterização das tolerâncias em função do número de unidades de amostras analisadas.

2- Categorias principais dos critérios para elaboração de padrões microbiológicos:

2.1- Critério (padrão) obrigatório:

Refere-se aos microrganismos considerados patogênicos e/ou seus marcadores, de importância para a saúde pública e de acordo com a classe de alimentos.

2.2- Critérios (padrão) complementar (recomendatório):

2.2.1- São os critérios relativos à avaliação do processo tecnológico utilizado para a obtenção de um produto acabado;

2.2.2- São os critérios que podem orientar o fabricante mas que não tem finalidade de inspeção final.

3- Finalidades dos padrões microbiológicos para alimentos:

3.1- Proteção da Saúde do Consumidor;

3.2- Uniformização de Padrões microbiológicos para as práticas comerciais.

4- Considerações sobre os princípios para o estabelecimento e aplicação das Normas e Padrões Microbiológicos:

4.1- Os princípios são aqueles indicados nos documentos elaborados pelo CODEX ALIMENTARIUS.

Estes princípios devem respeitar as disposições estabelecidas em documentos que tratam de BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO e suas formas de avaliações, como Análise de Perigos e Controle de Pontos Críticos (HACCP).

4.2- Em situações de perigo (risco) epidemiológico que justifique um ALERTA SANITÁRIO, devem ser realizadas outras determinações microbiológicas não incluídas nas Normas e Padrões estabelecidos, em função do problema.

5- Componentes das normas e padrões microbiológicos:

5.1- Os microrganismos selecionados para o produto em questão;

5.2- Os métodos recomendados para sua determinação;

5.3- As tolerâncias relacionadas com os microrganismos selecionados e sua distribuição nas amostras analisadas, de acordo com o plano de amostragem;

5.4- O plano de amostragem adequado para o alimento considerado.

6- Plano de Amostragem e Manipulação das Amostras:

6.1- De acordo com o CODEX ALIMENTARIUS, I.C.M.S.F. e outros organismos internacionais reconhecidos.

7- Alimentos que obrigatoriamente devem estar sujeitos a Controles Microbiológicos:

7.2 - Produtos cárnicos que se consomem sem tratamento térmico: como os curados, as embutidos, os afiambrados, os salgados e os defumados, entre outros;

7.3 - Alimentos refrigerados: de aves, vegetais, pescados e moluscos, entre outros;

7.4 - Alimentos congelados: como os pratos preparados, os gelados comestíveis e sorvetes, os pescados e moluscos, os vegetais e o gelo entre outros;

7.10 - outros alimentos que se julgar necessário.

8- Determinações analíticas: tomar-se-á como referência os critérios estabelecidos pelo CODEX ALIMENTARIUS, I.C.M.S.F. e outros organismos reconhecidos internacionalmente.

9- Procedimentos Gerais:

9.1. A metodologia para amostragem, coleta, condições de acondicionamento, de transporte e de análise, quando não especificada, deve obedecer, na ordem apresentada, o disposto pelo Codex Alimentarius, pelo "International Commission on Microbiological Specifications for Foods" (I.C.M.S.F.), pelo "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods" (American Public Health Association) e pelo "Bacteriological Analytical Manual" (AOAC/FDA) últimas edições, bem como outras Referências internacionalmente reconhecidas, adotando-se e registrando-se programas de controle e garantia de qualidade analítica. À medida que forem estabelecidas metodologias oficiais, as mesmas devem ser adotadas, substituindo as referências apresentadas, quando for o caso;

9.2. A amostra deve ser enviada ao laboratório devidamente identificada e em condições adequadas para a realização da análise. Deve estar acompanhada de esclarecimentos que incluem: motivo e finalidade da análise, condições de conservação no ponto de coleta e outras, quando pertinentes;

9.3. A análise deve ser precedida de inspeção visual e não será efetuada nas seguintes situações:

9.3.1 quando a amostra embalada na origem apresentar sinais de violação;

9.3.2 quando a amostra embalada na origem tiver sido coletada e/ou acondicionada e/ou transportada em condições inadequadas desde que o laudo de inspeção já tenha condenado o produto;

9.3.3 quando a amostra estiver manifestamente alterada;

9.3.4 quando a amostra não estiver adequadamente identificada;

9.3.5 as exceções são aceitas sempre que a amostra estiver implicada com enfermidades transmitidas por alimentos. Neste caso, a amostra deve estar acompanhada de relatório adicional contendo informações sobre o caso e que possam ser úteis para orientar as análises.

9.4. Em produtos alimentícios de qualquer forma destinados ao consumo, pode-se dispensar a coleta e a análise quando forem constatadas, pela Autoridade Sanitária, irregularidades ou falhas no acondicionamento ou embalagem, armazenamento, transporte, prazo de validade, venda ou exposição à venda. Nestes casos, as intervenções legais e penalidades cabíveis não dependem de análise e laudo laboratoriais;

9.5. A quantidade mínima da amostra ou de cada unidade da amostra, é de 100g ou 100 ml. Sempre que possível, deve-se enviar ao laboratório, unidades do produto na embalagem original, obedecendo a quantidade mínima necessária. Quando se tratar de amostras a granel ou em porções não embaladas na origem, deve-se cumprir com as Boas Práticas de coleta, segundo o item 9.1,

respeitando a quantidade mínima necessária para análise. Toleram-se exceções sobre a quantidade mínima no caso de amostras relacionadas com a elucidação de Doenças Transmitidas por Alimentos (ETAs);

9.6. Quando a amostra contém vários elementos na sua composição, como cobertura, recheio, misturas (saladas mistas) e similares, a alíquota retirada para amostragem e análise deve conter todos os elementos, na proporção similar ao do produto em questão;

9.7. Os presentes padrões se referem a resultados obtidos da análise de alíquotas retiradas da amostra, tanto da sua parte superficial como profunda. No primeiro caso considerou-se que a parte superficial foi desprezada antes do preparo ou consumo. A alíquota para análise de pequenos animais (aves, rãs, coelhos e similares) e de verduras como alface, agrião e similares, poderão ser obtidas pelo processo de enxaguadura, desde que respeitadas as metodologias e controles para a necessária quantificação;

9.8. O presente Regulamento apresenta tolerâncias estabelecidas conforme consta nos Anexos I e II.

9.9. Para a amostragem estatística de lotes ou partidas, deve-se coletar aleatoriamente 10 (dez) unidades ou porções, respeitando-se a quantidade mínima necessária para cada unidade amostral. Pode-se adotar um plano estatístico para os produtos relacionados no Anexo I, que deve seguir os dispostos no Codex Alimentarius e I.C.M.S.F.;

9.10. Quando, nos pontos de venda ou de qualquer forma de exposição ao consumo, o lote ou partida do produto alimentício estiver fracionado ou de alguma forma não disponível na sua totalidade; quando o número total de unidades do lote for igual ou inferior a 100 (cem) unidades, ou ainda, quando o produto estiver relacionado com doenças transmitidas por alimentos, pode-se dispensar a amostragem estatística e proceder a coleta de uma amostra indicativa;

9.11. No caso de análise de amostra indicativa, a mesma deve ter como tolerância máxima o valor m , quando estiver especificado um plano de amostragem para o produto em questão. (Anexo II). A presença de *Salmonella* em uma unidade amostral é interpretada para todo o lote e/ou partida;

9.12. No caso de amostras representativas ou de amostragem estatísticas de lotes ou partidas, para as quais não estejam especificados planos específicos de amostragem, (Anexo I), os valores de tolerância para m e M serão como segue:

9.12.1 - os números estabelecidos para a contagem padrão em placas. coliformes totais, coliformes de origem fecal (coliformes termotolerantes), clostrídios sulfito redutores, bolores e leveduras, devem ser considerados como m . O valor M será 10 (dez) vezes superior ao valor m . Nestes casos, o n tem valor 5 (cinco) e o c , valor 3 (três);

9.12.2 - os números estabelecidos para *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Vibrio parahaemolyticus*, devem ser considerados como valores correspondentes ao M. O valor m deve ser 10 vezes inferior ao valor M. Nestes casos, o n tem valor 5 (cinco) e o c, valor 2 (dois);

9.12.3 - Para a determinação de Salmonelas, o n é igual a 10 (dez), o c igual a 0 (zero), com ausência na alíquota assinaladas.

9.13. Devem ser realizadas determinações analíticas de outros microrganismos e/ou de substâncias tóxicas de origem microbiana, mesmo não constantes nos critérios e respectivas tolerâncias do presente Regulamento, sempre que se torne necessário para avaliar perigos e riscos relacionados com a segurança do produto alimentício em questão; para a obtenção de dados adicionais sobre o estado sanitário do produto; no caso de ocorrência de enfermidades de origem alimentar ou quando houver indicações epidemiológicas e dados científicos que justifiquem um alerta sanitário;

9.14. Para fins de avaliação de perigos e riscos microbiológicos, é recomendável o estabelecimento de programas específicos que possam contribuir com as ações de vigilância sanitária;

9.15. No caso de amostras para a realização de programas para avaliação do risco microbiológico; certificação de medidas preventivas para avaliar o plano de Análise de Perigos, Pontos e Controles Críticos (HACCP) e para elucidação de enfermidades transmitidas por alimentos, pode-se proceder somente às determinações analíticas relacionadas com a finalidade e justificativa do problema;

9.16. No que se refere à metodologia para Clostrídio sulfito redutores, adota-se a descrição para *Clostridium perfringens* que consta dos textos constantes nos Procedimentos Gerais número 1 deste Regulamento, quanto aos meios de cultura e métodos de semeadura. A caracterização de Clostrídio sulfito redutores é feita por incubação a 46° C por 24h, em anaerobiose. As colônias sulfito redutoras devem ser isoladas e caracterizadas como bastonetes Gram positivos, não formadores de esporos nos meios usuais de laboratório. (Bastonetes Gram positivos, anaeróbios, sulfito redutores);

9.17. Deve ser respeitada a legislação vigente com relação aos limites de micotoxinas;

9.18. Devem ser respeitadas as legislações vigentes específicas para água potável e água mineral;

9.19. As interpretações e as possíveis conclusões dos laudos de análise microbiológica de produtos alimentícios devem observar as instruções constantes no Anexo III do presente Regulamento;

9.20. O laudo de análise microbiológica, por ser determinação analítica não relacionada com a perecibilidade do produto alimentício, poderá ser expedido em prazo máximo de 10(dez) dias ou, quando justificável por razões da metodologia, em prazo de até 20(vinte) dias;

9.21. Quando a análise laboratorial indicar resultado em desacordo com a presente Regulamento, devem ser adotados procedimentos técnicos e administrativos conforme o estabelecido na legislação vigente;

9.22. O Anexo II deste Regulamento refere-se aos padrões já acordados no âmbito do MERCOSUL. À medida que novos padrões forem estabelecidos para outras classes de produtos específicos, os mesmos serão incorporados.

ANEXO I

Os limites e tolerâncias para as diferentes classes de produtos alimentícios constantes deste Regulamento devem obedecer os critérios e padrões especificados neste Anexo, nas condições previstas para sua aplicação, conforme consta dos Procedimentos Gerais. Os critérios e respectivos limites são como segue:

GRUPO DE	Salmonelas (ausência em)	Coliformes Totais: NMP (máximo)	Coliformes Fecais: NMP (máximo)	Clostrídios Sulfitos Redutores: a 46°C (máximo)	<i>Staphylococcus aureus</i> : NMP ou contagem direta (máximo)	Bolores + Leveduras (máximo)	Contagem Padrão em placa (máximo)	<i>Bacillus cereus</i> (máximo)	<i>Vibrio Parahaemolyticus</i> (máximo)
IV- PESCADO E PRODUTOS DE PESCA									
a) Pescados "in natura" crus									
- peixes	25g	-	102/g	-	103/g	-	-	-	5 x 103/g
- crustáceos	25g	-	102/g	-	103/g	-	-	-	5 x 103/g
- moluscos	25g	-	102/g	-	103/g	-	-	-	5 x 103/g
b) Pescados crus refrigerados e congelados									
- peixes	25g	-	102/g	-	103/g	-	-	-	103/g
- crustáceos	25g	-	102/g	-	103/g	-	-	-	103/g
- moluscos	25g	-	102/g	-	103/g	-	-	-	103/g
c) Pescado seco e/ou salgado	25g	-	102/g	5 x 102/g	103/g	-	-	-	-
d) Pescado defumado	25g	-	102/g	5 x 102/g	103/g	-	-	-	-
e) Pescado pré-cozido e empanado	25g	-	102/g	5 x 102/g	103/g	-	-	103/g	-

