

Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal

Print version ISSN 1981 – 2965

Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal, v. 1, n. 1, p. 1 – 13, 2007

<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20070001>

*Artigo Científico*

*Medicina Veterinária*

**Quantificação de vibrios, de coliformes totais e termotolerantes em ostra nativa *Crassostrea rhizophorae*, e na água do estuário do Rio Jaguaribe, Fortim-CE**

**\* Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira<sup>1</sup>, Régis Fernandes Vasconcelos<sup>2</sup>, Edirsana Maria Ribeiro de Carvalho<sup>3</sup>**

---

**Resumo:** Este trabalho objetivou a quantificação de *Vibrio* e de coliformes totais (Ct) e fecais ou termotolerantes (CT) através do Número Mais Provável (NMP) em amostras de ostra (*Crassostrea rhizophorae*) e das águas onde elas foram capturadas. As amostras foram coletadas no estuário do Rio Jaguaribe e transportadas em caixas isotérmicas ao laboratório, onde foram realizados os testes microbiológicos. Para Ct o NMP variou de <1,8 a 3.500/100mL na água, e de <1,8 a 9.200/g nas ostras, enquanto que para CT, variou de <1,8 a 490/100mL e <1,8 a 430/g para água e ostra, respectivamente. A análise estatística revelou concentrações significativamente maiores de *Vibrio* e Coliformes nas ostras do que na água, confirmando o potencial bioacumulador destes organismos. As amostras de água mantiveram-se dentro dos limites para CT estabelecidos pela Resolução N°357/2005 do CONAMA. As ostras foram avaliadas segundo *The European Union Shellfish Quality Assurance Programme-EUSQAP*, tendo em vista a inexistência no Brasil de padrões regulamentadores de CT em ostras *in natura*, consumidas cruas. De acordo com este Programa, todas as amostras mantiveram-se dentro dos padrões aceitáveis. Não existe legislação no Brasil que regule *Vibrio* em águas ambientais. Pelo fato dos moluscos bivalves, especificamente as ostras, serem freqüentemente consumidos na sua forma *in natura*, seria de

grande importância a implementação de uma legislação adequada que regulamentasse a concentração das bactérias avaliadas neste estudo.

**Palavras-chave:** *Vibrio*, coliformes totais e termotolerantes, ostra, *Crassostrea.rhizophorae*.

**Quantification of vibrios, total and termotolerant coliforms in wild oyster *Crassostrea rhizophorae* and in water from the Jaguaribe River estuary, Fortim- Ceará State**

**Abstract:** This study was designed to assess the contamination of oysters (*Crassostrea rhizophorae*) and its living water by *Vibrio*, total coliforms (TC) and thermotolerants fecal coliforms (TFC) through Most Probable Number (MPN) estimates. The material consists of samples withdrawn at the Jaguaribe River estuary (Ceará State) which were readily taken over to laboratory where the pertinent microbiological tests were made. The MPN estimates for TFC varied in the ranges of <1.8 – 3,500/100mL and <1.8 – 9,200/g in water and oyster, while those for CT varied in the ranges of <1.8 - 490/100mL and <1.8 - 430/g, respectively. Contents of *Vibrio* and coliforms were found to be statistically greater in oysters than in water, what attests to the bioaccumulative potential of these organisms. The water-derived estimates were kept within the limits set up by CONAMA's Act # 357/2005. The oyster-derived estimates were also kept within acceptable quality limits, but in this case according to standards set up by *The European Union Shellfish Quality Assurance Programme*, given the lack of lawful MPN values for *Vibrio* and TFC to regulate the consumption of fresh oysters in Brazil. Since most bivalve mollusks, especially oysters, are eaten in their raw state, it would be highly desirable that specific guidelines were undertaken to prevent their contamination by *Vibrio* and coliforms.

**Keywords:** *Vibrio*, Total and Termotolerant coliforms, oyster *Crassostrea.rhizophorae*.

---

1. Professor e pesquisador do Instituto de Ciências do Mar e do Departamento de Engenharia de Pesca;

2. Mestrando em Ciências Marinhas Tropicais;

3. Mestranda em Engenharia de Pesca.

\*Autor correspondente - E.mail- [regine@labomar.ufc.br](mailto:regine@labomar.ufc.br)

Instituto de Ciências do Mar/UFC- Av. da Abolição 3207, Meireles, Fortaleza, Ceará

## **Introdução**

A contaminação de alimentos por bactérias patogênicas é de grande interesse para a saúde

pública. De acordo com Germano et al. (1993), são confirmados apenas 1,0 a 10% do número real de surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos – DTA's. Embora as estatísticas brasileiras sejam precárias, acredita-se que a incidência de doenças microbianas de origem alimentar seja bastante elevada (Franco & Landgraf, 1996).

Moluscos bivalves são organismos filtradores que possuem a capacidade de acumular, principalmente em suas brânquias e intestino, substâncias e microrganismos presentes na água. Uma única ostra possui a capacidade de filtrar, aproximadamente, quatro litros de água por hora, de maneira que a quantidade de bactérias em seu intestino é superior à encontrada na água circundante

(Wood, 1979). A ostra do mangue, *Crassostrea rhizophorae*, apresenta uma distribuição geográfica que abrange a região Sul do Caribe, Venezuela, Suriname e Brasil até o Uruguai (Rios, 1994), sendo uma das principais espécies de bivalves consumidas no Nordeste brasileiro. Em diversos Estados brasileiros, inclusive no Ceará, tem-se por hábito o consumo desse molusco na forma *in natura*. A microbiota presente na carne desses organismos está diretamente relacionada ao ambiente do qual eles se originam (Zamarioli et al., 1997) sendo o seu consumo, freqüentemente, relacionado com doenças infecciosas de origem alimentar (Cook et al., 2001; Jose, 1996).

A maioria dos padrões que normatizam a qualidade microbiológica da água de cultivos utilizam a quantificação de coliformes, pois este grupo é indicador de contaminação fecal (Machado et al., 2001).

O presente trabalho teve como objetivo quantificar *Vibrio*, coliformes totais (Ct) e termotolerantes (CT), através do Número Mais Provável (NMP), em amostras de ostras e de água provenientes do estuário do Rio Jaguaribe, Fortim – CE. Paralelamente foram determinados os parâmetros físico-químicos da água onde as ostras foram coletadas.

### Material e métodos

Durante o período de setembro de 2005 a setembro de 2006 foram coletadas 15 amostras da ostra nativa *Crassostrea rhizophorae* no estuário do Rio Jaguaribe, no Município de Fortim – CE (Figura 1). Cada coleta, feita durante a maré vazante, foi de trinta ostras adultas, totalizando 450 indivíduos analisados. Simultaneamente, foram coletadas amostras de água em frasco âmbar de 1 litro. Após as coletas, as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas e transportadas ao Laboratório de Microbiologia do Pescado e Ambiental, do Instituto de Ciências do

Mar – LABOMAR/UFC, onde foram realizadas as análises microbiológicas.

Para a contagem de Coliformes Totais (Ct) e Termotolerantes (CT) nas ostras, após a lavagem, secagem e abertura asséptica das conchas, foram retirados 25g de carne juntamente com o líquido intervalvar que, em seguida, foram homogeneizados com 225mL de solução salina 0,85% obtendo-se, desta forma, a diluição  $10^{-1}$ , a partir da qual foram preparadas as demais diluições, de  $10^{-2}$  a  $10^{-4}$ . As determinações de Ct e CT foram realizadas segundo Garthright (2001).

Para as contagens de *Vibrio* foram adotados os mesmos procedimentos empregados para contagem de coliformes, fazendo-se uso de salina a 1% esterilizada (Kaysner & Depaola Jr., 2004).

As variáveis físico-químicas, salinidade (S), oxigênio dissolvido (OD) e temperatura (T) foram determinadas *in locu* durante cada amostragem, enquanto o pH foi medido no laboratório. Os equipamentos utilizados foram: refratômetro Biobrix 211

BP (salinidade), oxímetro Lutron DO-5510 (OD e T) e pHmetro Marconi PA200P (pH).

Todos os resultados de NMP de CF, CT e *Vibrio* encontrados nas amostras de água (NMP/mL) e de ostra (NMP/g) foram logaritmizados e comparados pelo teste *t* de Student não-pareado unilateral, para um nível de significância de 5%, usando o *software* BioEstat 4.0. Para verificação de correlação, os resultados obtidos foram comparados através do coeficiente de correlação de Pearson, utilizando-se o mesmo programa estatístico.

### **Resultados e discussão**

Os valores de NMP para Ct para as amostras de água e ostra variaram de <1,8 a 3.500/100mL e de <1,8 a 9.200/g, respectivamente, enquanto que, para CT nas amostras de água variaram de <1,8 a 490/100mL e nas de ostras de <1,8 a 430/g (Tabela 1).

Os atuais padrões microbiológicos para alimentos estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa,

2001), Resolução N° 12, não limitam Ct ou CT em moluscos bivalves *in natura* consumidos crus, o que dificulta a avaliação da qualidade microbiológica desse alimento. Na Portaria anterior N° 451 (Ministério da Saúde, 1997), havia limites máximos de NMP de 10<sup>2</sup>/g para CT nesse tipo de alimento. Entretanto, uma vez que esta Portaria está revogada, foi utilizado *The European Union Shellfish Quality Assurance Programme – EUSQAP* (Rodgers, 2001) para classificar a qualidade microbiológica das ostras analisadas. Segundo esse Programa, os moluscos são classificados em três categorias: **A**, **B** e **C**. O que difere uma da outra é a quantidade permitida de CT por 100g de massa visceral juntamente com o líquido intervalvar. Na categoria **A**, a permissão é de < 300 CT /100g; na categoria **B** 90% das amostras não podem exceder a 6.000 CT/100g e na **C** não podem exceder a 60.000 CT/100g. De acordo com esse Programa, as amostras seriam assim classificadas: onze (73,3%) estariam na categoria **A**; duas estariam na

categoria **B** (13,3%); e duas na categoria **C**

(13,3%).

**Tabela 1.** Número Mais Provável (NMP) de Coliformes totais e Termotolerantes e de *Vibrio* spp. em amostras de água e de ostra coletadas no Estuário do Rio Jaguaribe, Fortim- CE.

Coleta	Coliformes Totais		Coliformes Termotolerantes		<i>Vibrio</i>	
	Água (NMP/100mL)	Ostra (NMP/g)	Água (NMP/100mL)	Ostra (NMP/g)	Água (NMP/100mL)	Ostra (NMP/g)
1	<1,8	20	<1,8	<1,8	6.450	9.200
2	<1,8	110	<1,8	110	7.000	330
3	2	170	2	2	35.000	9.200
4	29,9	<1,8	<b>27,6</b>	<b>&lt;1,8</b>	24.000	9.200
5	<1,8	2	<b>&lt;1,8</b>	<b>2</b>	14.000	9.200
6	33,4	9.200	<b>31,4</b>	<b>27,86</b>	>1.600.000	4.300
7	4,5	<1,8	<b>4,5</b>	<b>&lt;1,8</b>	>1.600.000	>16.000
8	2	<1,8	<b>2</b>	<b>&lt;1,8</b>	13.000	>16.000
9	7,8	<1,8	<b>2</b>	<b>&lt;1,8</b>	>1.600.000	>16.000
10	<1,8	2	<b>&lt;1,8</b>	<b>&lt;1,8</b>	24.000	>16.000
11	50	2	<b>20,6</b>	<b>2</b>	21.000	>16.000
12	93	34,2	<b>68</b>	<b>12,2</b>	920.000	9.200
13	3.500	430	<b>490</b>	<b>430</b>	920.000	16.000
14	<1,8	<1,8	<b>&lt;1,8</b>	<b>&lt;1,8</b>	45.000	35.000
15	<1,8	2	<b>&lt;1,8</b>	<b>2</b>	45.000	350.000

Com relação às análises de água, seguiu-se os padrões para corpos d'água estabelecidos pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA em sua Resolução 357/2005 que determina que para o cultivo de moluscos bivalves destinados à alimentação humana, a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes, de

Os testes estatísticos revelaram que houve diferença estatística ( $\alpha=5\%$ ) entre as amostras de água e ostras tanto para Ct ( $p<0,0001$ ) como para CT ( $p<0,0001$ ). A análise constatou a existência de correlação entre Ct e CT da água ( $r = 0,6022$  e  $p = 0,0175$ ) e da ostra ( $r = 0,7311$  e  $p = 0,0019$ ) e entre CT da água e CT da ostra ( $r = 0,6286$  e  $p = 0,0120$ ). É interessante frisar que os resultados de CT das amostras de água, para uma melhor comparação com a legislação do CONAMA (2005), estão grafados na tabela em NMP/100mL, e os de ostra sempre em NMP/g, entretanto, para a aplicação dos testes estatísticos os dados foram transformados em unidades semelhantes a fim de possibilitar a comparação dos resultados. As amostras de

um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local, não deverá exceder 43/100mL. Ao calcularmos a média geométrica, encontramos um valor de 6,18, o que significa que as amostras de água estariam dentro do padrão exigido pelo CONAMA (2005) para cultivo de bivalves destinados à alimentação humana.

ostras apresentaram números de Ct e CT estatisticamente maiores que as amostras de água.

Machado et al. (2001) sugerem que a determinação de Ct em tecidos moles e líquido intervalvar, para avaliar a qualidade dos moluscos, apresenta maiores possibilidades como padrão de normatização no cultivo do que a análise em água das áreas produtivas, uma vez que as ostras seriam concentradoras dos resíduos, e conseqüentemente, dos CT existentes na água onde ela estivesse inserida.

Nas contagens de *Vibrio* o NMP das amostras de água variou de 6.450 a  $>1.600.000/100\text{mL}$  e nas ostras de 330 a

>16.000/g. Não existe legislação no Brasil que regulamente os níveis toleráveis de *Vibrio* em moluscos bivalves, nem em águas destinadas à aquicultura.

As concentrações de *Vibrio* nas amostras de ostra foram estatisticamente maiores ( $p = 0,0001$ ) que nas amostras de água, confirmando que as ostras, sendo animais filtradores, possuem a capacidade de concentrar em seu intestino, bactérias presentes na água (Wood, 1979; Nunes & Parsons, 1998). Além disso, a análise constatou presença de correlação entre CT e *Vibrio* na água ( $r = 0,5247$  e  $p = 0,0446$ ).

Outra hipótese, que pode explicar as maiores concentrações de *Vibrio* observadas nas ostras, seria a descarga de efluentes contaminados e o carreamento de matéria orgânica para o estuário. Em estudo realizado nesse mesmo estuário, foi observada durante os testes microbiológicos, uma alta positividade para CT em alguns pontos do rio possivelmente devido ao lançamento de águas residuais (Vieira et al., *in press*). Ainda,

segundo estes autores, a poluição orgânica de natureza fecal pode favorecer a multiplicação dos vírios.

Os parâmetros físico-químicos, durante o período amostrado, apresentaram as seguintes variações: Temperatura (T) de 28,8 a 31,5°C; Salinidade (S) de 6 a 45‰; Oxigênio Dissolvido (OD) de 3,8 a 7,0mg/L; e pH de 6,90 a 8,23 (Tabela 2).

As elevadas temperaturas e a pequena amplitude térmica apresentada durante o período amostrado podem ser consideradas normais para os trópicos e, nestas condições, o desenvolvimento de bactérias mesófilas é favorecido. De acordo com Gauthier et al. (1993), o risco de poluição em águas marinhas por *Escherichia coli* e por enterobactérias patogênicas para o homem, é muito mais acentuado em águas quentes e ricas em matéria orgânica. Vale salientar que o crescimento de coliformes termotolerantes pode ocorrer em temperaturas de até 44,5° C (Mendonça-Hagler et al., 2001).

De acordo com West (1989), os vírios podem aparecer em grandes

concentrações quando as temperaturas das águas aumentam e, em regiões temperadas, eles estão presentes na água do mar durante todo o ano, porém, sua concentração é exacerbada nos meses quentes, aumentando sua acumulação nos moluscos filtradores e em outros animais marinhos. Lima (1997) também afirma que os vîbrios dependem diretamente da temperatura do meio para seu desenvolvimento.

A salinidade se manteve em níveis elevados durante as dez primeiras amostragens, regredindo notavelmente nas coletas 11, 12 e 13 em decorrência do período chuvoso, variando de 6 a 45‰ durante o período amostrado. De acordo com a Resolução N° 274 (CONAMA, 2000), para estes valores de salinidade as águas são classificadas em salobras (0,5 a 30‰) e salinas (>30‰).

Os três pontos onde foram detectados maiores quantidades de *Vibrio na* água, inclusive com valores indefinidos para NMP de > 1.600.000 / 100mL coincidiu com as mais altas medidas de salinidade (até a 10<sup>a</sup>

amostra), indicando que *Vibrio* depende de NaCl para se reproduzir (Wong et al., 1992). De acordo com Murray et al. (2004), as espécies de *Vibrio* crescem naturalmente em estuários e ambientes marinhos no mundo inteiro, sendo todas as espécies capazes de sobreviver e se multiplicar em águas contaminadas com elevada salinidade e temperatura variando de 10 a 30°C.

Segundo Rozen & Belkin (2001), o pH da água do mar se situa normalmente entre 7,5 e 8,5 e sofre influência da temperatura, pressão e atividades fotossintética e respiratória dos microrganismos. Estes autores afirmam que um pH em torno de 8,0 contribui para um efeito deletério na sobrevivência de *E. coli*, enquanto que um pH mais ácido, de aproximadamente 5,0, favorece o desenvolvimento da bactéria. As águas examinadas variaram o pH de 7,60 a 8,23 (Tabela 2) sendo que as águas consideradas salinas estiveram dentro do intervalo de normalidade no pH. O mesmo não se pode dizer da medida de Oxigênio Dissolvido (OD), pois cinco medidas de OD,

das amostras consideradas salinas, estavam abaixo do preconizado pela Resolução 357 (CONAMA, 2005) (Tabela 2). Segundo esta Resolução, águas salinas onde haja pesca ou cultivos de organismos para fins de consumo intensivo devem apresentar uma medida de OD nunca inferior a 5,0 mg/L. Águas salobras devem, segundo a mesma Resolução, apresentar medidas de OD não inferior a 4mg/L. Assim, um total de seis medidas (40%) de OD estaria fora do limite recomendado pela Resolução supracitada. É importante considerar, entretanto, o horário das medições e a nebulosidade na ocasião da coleta, uma vez que nas primeiras horas do dia e em dias nublados os níveis de OD são

Tendo em vista o potencial patogênico apresentado pelos víbrios à saúde humana, é de extrema importância a elaboração de uma legislação clara e específica que regulamente os níveis destas bactérias em moluscos e em águas destinadas ao cultivo de organismos aquáticos. Muito embora exista legislação

geralmente reduzidos. Como mostra claramente a tabela, as menores concentrações de OD ocorreram no início da manhã, enquanto que os valores mais altos ocorreram principalmente em horários de maior insolação (Tabela 2).

Águas que abrigam moluscos quitinosos possibilitam o desenvolvimento de vibriões patogênicos, sendo o consumo destes moluscos frequentemente associado às infecções causadas por *Vibrio* (West, 1989). Nos Estados Unidos, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) de Atlanta estimou que, entre 8.028 infecções causadas por *Vibrio* registradas, foram observadas 57 mortes (Mead et al., 1999).

para CT em águas de cultivo de bivalves (Resolução 357, CONAMA, 2005), não existe nenhum limite desses microrganismos na RDC N°12 (ANVISA, 2001) para moluscos *in natura* que serão consumidos crus, fato já comentado anteriormente.

**Tabela 2.** Variáveis físico-químicas durante o período amostrado.

Coleta	Hora	T (°C)	S (‰)	OD (mg/L)	pH
01	12:10	29,6	37	4,60	8,06
02	11:45	29,6	40	6,00	8,10
03	11:35	29,6	40	6,80	8,23
04	11:15	29,5	41	7,00	7,65
05	10:20	29,6	40	4,90	7,60
06	10:00	29,7	40	5,00	8,02
07	11:35	31,5	40	5,70	7,69
08	07:05	28,8	44	4,60	8,23
09	09:30	29,5	45	4,70	8,16
10	10:40	30,7	42	4,70	8,02
11	07:00	30,4	16	3,80	7,65
12	07:50	29,2	25	4,08	7,97
13	11:30	31,0	6	5,60	7,60
14	16:55	27,7	38	6,20	7,86
15	17:00	28,0	38	6,10	7,93

## Conclusões

Embora as ostras tenham apresentado uma maior concentração de coliformes Termotolerantes em relação às amostras de água, estas se mantiveram dentro dos limites máximos permitidos em todas as amostras analisadas, de acordo com *The European*

*Union Shellfish Quality Assurance Programme – EUSQAP.*

As amostras de água mantiveram-se dentro dos limites para CT determinados pela Resolução 357/2005 (CONAMA, 2005) para águas de cultivos de moluscos bivalves destinados à alimentação humana, indicando

uma boa qualidade da água no local de estudo (Estuário do Rio Jaguaribe, Fortim - CE).

Pelo fato dos moluscos bivalves, especificamente as ostras, serem freqüentemente consumidos na sua forma *in natura*, seria de grande importância a implementação de uma legislação adequada que regulamentasse a concentração das bactérias avaliadas neste estudo.

### Referências bibliográficas

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Resolução – RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_01r\\_dc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01r_dc.htm)>. Acesso em: 18 de julho de 2006.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA. Resolução Nº 274, de 29 de novembro de 2000. Disponível em: <[http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/praias/res\\_conama\\_274\\_00.pdf](http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/praias/res_conama_274_00.pdf)>. Acesso em: 20 de julho de 2006.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA. Resolução Nº 357, de 17 de março de 2005. Disponível em: <[http://www.crq4.org.br/downloads/resolucao\\_357.pdf](http://www.crq4.org.br/downloads/resolucao_357.pdf)>. Acesso em: 20 de julho de 2006.

COOK, D.W.; BURKHARDT III, W.; DEPAOLA, A.; MCCARTHY, S.A.; CALCI, K.R. Molluscan shellfish: oyster, mussels and clams. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (eds.). **Compendium of Methods for the**

**Microbiological Examination of Foods**. 4 ed. Washington: APHA, p.507-514, 2001.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, 182 p., 1996.

GARTHRIGHT, W.E. Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition, Revision A, 1998. Final revision: 2001. Appendix 2: most probable number from serial dilutions. In: Food and Drug Administration – FDA / Center for Food Safety and Applied Nutrition - CFSAN. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-a2.html>>. Acesso: 05 de maio de 2006.

GAUTHIER, M.J.; BREITTMAYER, V.A.; BRAUX, A.S. Expression génique chez es bactéries entériques dans les conditions marines. In: PNUE/OMS – Cicles biogéochimiques de polluants spécifiques (Activité K): Survie des pathogenes. Rapports finaux sur les projets de recherche (1992-1993). *MAP Technical Reports* series Nº 76. UNEP, Athens, 1993.

GERMANO, P.M.L.; MIGUEL, M.; MIGUEL, O.; GERMANO, M.I.S. Prevenção e controle das toxinfecções de origem alimentar. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.7, n.27, p.6-11, agosto 1993.

JOSE, V.F. Bivalves e a segurança do consumidor. 1996. 182 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Ambiental) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

KAYSNER, C. A.; DE PAOLA JR., A. Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition, Revision A, 1998. Chapter 9 – *Vibrio*. Substantially rewritten and revised May 2004. In: Food and Drug Administration – FDA / Center for Food Safety and Applied Nutrition - CFSAN. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-9.html>>. Acesso em: 19 de maio de 2006.

LIMA, F.C. Víbrios marinhos. II. Víbrios não coléricos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.11, n.49, p.8-13, maio/junho 1997.

MACHADO, I.C.; PAULA, A.M.R.; BUZZO, A.; JAKABI, M.; RISTORI, C.; SAKUMA, H. Estudo da ocorrência de contaminação orgânica no estuário de Cananéia, como subsídio para a extração, manejo e cultivo da ostra do mangue (*Crassostrea brasiliana*). 2. Análise da ostra (tecidos moles e líquido intervalvar). **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.15, n.83, p.44-48, abril 2001.

MEAD, P.S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V. McCAIG L.F.; BRESEE J.S.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P.M.; TAUXE, R.V. Food-related illness and death in the United States. **Emerging Infectious Diseases**, v.5, n.5, p.607-25, September-October 1999.

MENDONÇA-HAGLER, L.C.; VIEIRA, R.H.S.F.; HAGLER, A.N. In: FARIA, B.M.; FARJALLA, V.F.; ESTEVES, F.A. (eds.). Microbial quality of water, sediment, fish and shellfish in some Brazillian coastal regions. Aquatics Microbial Ecology in Brazil. **Series Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v.9, p.197-216, 2001.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Portaria Nº 451, de 19 de setembro de 1997. Disponível em: <[http://www.pqsys.com.br/links/p\\_451\\_1.htm](http://www.pqsys.com.br/links/p_451_1.htm)>. Acesso em: 20 de julho de 2006.

MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; KOBAYASHI, G.S.; PFALLER, M.A. **Microbiologia Médica**. 4. ed., Rio de Janeiro. Editora Guanabara, 2004.

NUNES, A.J.P.; PARSONS G.J. Dynamics of tropical coastal aquaculture systems and the consequences to waste production. **World Aquaculture**, Baton Rouge, Louisiana-USA, v.29, n.2, p. 27-37, June 1998.

RIOS, E.C. **Seashells of Brazil**. 2 ed. Rio Grande: Editora da FURG, 492 p., 1994.

RODGERS, C.J. The NSW Shellfish Quality Assurance Program: an operational review. **Final Report**, 123 p., Jan. 2001.

ROZEN, Y.; BELKIN, S. Survival of enteric bacteria in seawater. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v.725, p.1-17, 2001.  
VIEIRA, R.H.S.F.; CASTRO, H.M.P.; REIS, E.M.F.; REIS, C.M.F.; MADRID, R.M.; HOFER, E. Aspectos Microbiológicos de Águas Estuarinas no Nordeste Brasileiro (Rio Grande do Norte e Ceará) (aceito para publicação nos **Arquivos de Ciências do Mar**).

WEST, P.A. The human pathogenic vibrios. A public health update with environment perspectives. **Epidemiology and Infection**, v.103, n.1, p.1-34, August 1989.

WONG, H-C.; TING, S.H.; SHIEH, W.R. Incidence of toxigenic Vibrios in foods available in Taiwan. **Journal of Applied Bacteriology**, London, v.73, n.3, p.197-202, Sep. 1992.

WOOD, P.C. **Manual de higiene de los mariscos**. Zaragoza, España. Editorial Acribia. 83 p., 1979.

ZAMARIOLI, L.A.; PEREIRA, O.M.; FAUSTINO, J.S.; HENRIQUES, M.B.; VASQUES, R.O.; ANDRADE, T.C.; SANTOS, M.A. Estudo microbiológico do tecido mole de bivalves *Crassostrea brasiliana*, *Perna perna* e *Mytella falcata* recém-coletados nos bancos naturais do litoral da baixada santista. São Paulo. Secretaria da Saúde do Estado. **Relatório Apresentado ao Grupo de Vigilância Sanitária DIR XIX**. São Paulo, 1997.

