

Estudo microbiológico da ostra invasora *Saccostrea cucullata*: variação sazonal de coliformes totais e termotolerantes no Complexo Estuarino de Cananéia durante a temporada de 2018-2019

Edison Barbieri¹  Ana Lúzia de Souza Araújo²  Karina Fernandes Oliveira Rezende³  Felipe Vásquez-Ponce⁴ 

¹Instituto de Pesca, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - APTA. Governo do Estado de São Paulo. São Paulo/SP, Brasil.

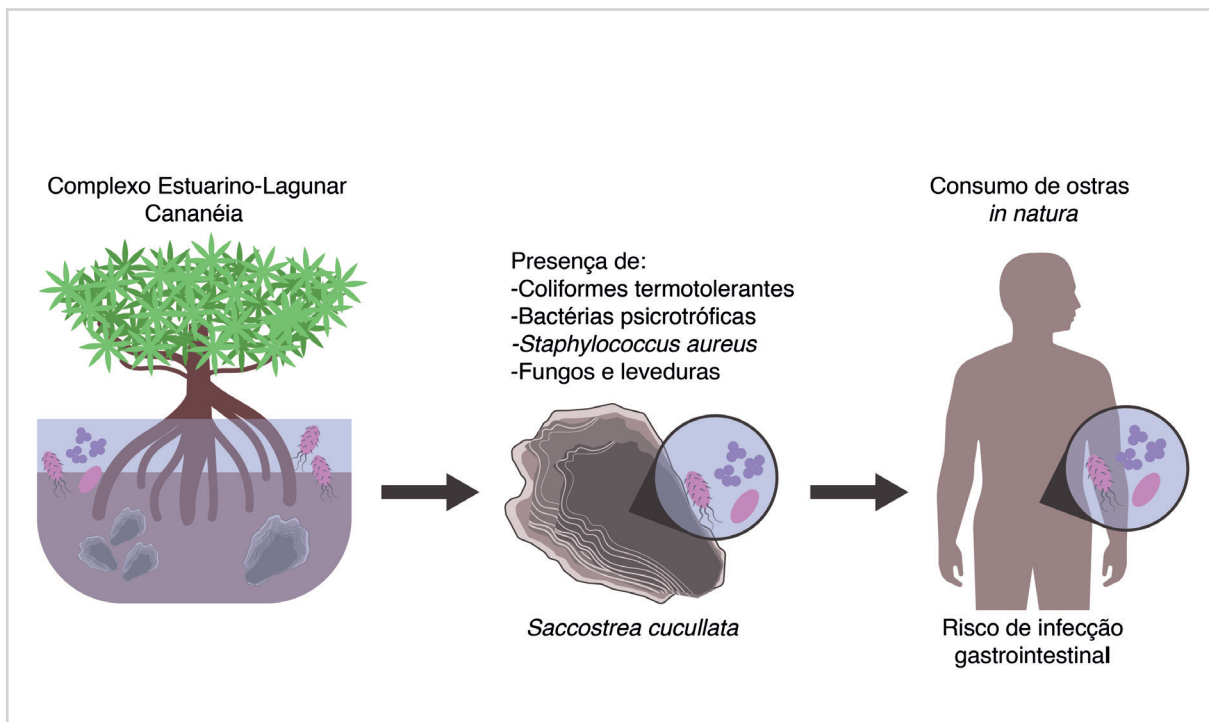
²Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Pesca, Instituto de Pesca, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - APTA. Governo do Estado de São Paulo. São Paulo/SP, Brasil.

³Instituto de Ciências Biomédicas - ICB. Universidade de São Paulo – USP. São Paulo/SP, Brasil.

⁴Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Universidad Andrés Bello – UNAB. Valparaíso, Chile.

E-mail: edisonbarbieri@yahoo.com.br

Resumo Gráfico



Resumo

No complexo estuarino lagunar de Cananéia, estado de São Paulo, região sudeste, há o consumo *in natura* da ostra invasora *Saccostrea cucullata*, principalmente no verão, alta temporada. Trata-se de um molusco filtrador que apresenta riscos de graves patologias do sistema gastrointestinal devido ao risco de armazenamento de agentes microbiológicos que afetam o ser humano. A falta de monitoramento, boas práticas de fabricação, qualidade da água e medidas de controle para garantir a segurança e qualidade do consumo de ostras é necessária para a prevenção de patógenos na saúde pública. Este estudo realizou análises microbiológicas de amostras de ostras, com foco em bactérias mesófilas, bactérias psicrotróficas e fungos/leveduras. Além disso, investigou-se as concentrações sazonais de coliformes totais e termotolerantes em amostras de ostras coletadas ao longo de um ano. As contagens de bactérias mesófilas nas ostras variaram de $1,45 \pm 0,22$ a $3,32 \pm 0,28$ log UFC g⁻¹, com valores médios de $2,24 \pm 0,86$ log UFC g⁻¹. Para bactérias psicrotróficas nas amostras de ostras variou entre $1,34 \pm 0,29$ e $3,12 \pm 0,45$ log UFC g⁻¹. Os dados revelaram que as contagens de fungos e leveduras variaram de $2,65 \pm 0,23$ a $3,57 \pm 0,22$ log UFC g⁻¹. A contagem máxima de *S. aureus* foi de $1,24$ log UFC g⁻¹, e 83,5% das amostras apresentaram resultado negativo para este microrganismo. Não foi detectada presença de *Salmonella* spp. nas amostras analisadas. Esses resultados fornecem *insights* importantes sobre a variação sazonal e as contagens microbiológicas em amostras de ostras, destacando a relevância da monitorização e controle microbiológico em produtos alimentícios marinhos.

Palavras-chave: Cananéia. Ostra. Segurança alimentar. Microbiologia. Enterobactérias.

INTRODUÇÃO

A detecção de coliformes em ostras é um tema de suma relevância no contexto da segurança alimentar e da saúde pública^{1,2,3}. As ostras, moluscos bivalves amplamente apreciados em diversas partes do mundo por seu sabor distintivo e benefícios nutricionais, apresentam o desafio adicional de acumular poluentes e microrganismos presentes na água em que habitam, incluindo coliformes termotolerantes^{4,5,6}.

Os coliformes termotolerantes compõem um grupo bacteriano encontrado nas fezes de animais de endotérmicos, incluindo seres humanos^{7,8,9}. Sua presença em ostras pode indicar a contaminação da água de cultivo, frequentemente associada a dejetos humano ou de animais de criação^{10,11}. A contaminação por enterobactérias é preocupante, pois essas bactérias podem abrigar patógenos causadores de doenças, como *Escherichia coli* e *Salmonella* spp.¹².

O consumo de ostras contaminadas por coliformes termotolerantes pode resultar em doenças transmitidas por alimentos, incluindo infecções gastrointestinais graves⁷, com sintomas como diarreia, náuseas, vômitos, febre e dores abdominais. Indivíduos com sistema imunológico comprometido, crianças, idosos e gestantes são particularmente vulneráveis a essas doenças¹³, exigindo tratamento médico e hospitalização em casos mais severos¹⁴.

Portanto, é imperativo conduzir estudos e monitoramento da contaminação por microrganismos

patogênicos em ostras para identificar áreas e fontes de contaminação, implementar medidas preventivas e de controle, e assegurar a segurança dos consumidores e prevenir doenças transmitidas por alimentos e proteger a saúde dos consumidores. A pesquisa contínua nesse campo contribui para o desenvolvimento de diretrizes e regulamentações mais eficazes no cultivo, processamento e consumo de ostras, visando proteger a saúde pública e preservar a reputação da indústria de frutos do mar¹³, além de promover a sustentabilidade e responsabilidade ambiental na indústria de frutos do mar.

Com a confirmação da presença da ostra invasora *Saccostrea cucullata* no litoral de Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Rio de Janeiro, e sua incorporação na dieta da população local, conforme documentado por Galvão *et al.*¹⁵ e Amaral *et al.*¹⁶, este estudo propôs uma avaliação geral da qualidade microbiológica dessas ostras, abundantemente encontradas no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia, localizado no litoral sul de São Paulo. Estas ostras são consumidas *in natura* e desmariscadas pelos habitantes locais. Este estudo realizou análises microbiológicas de amostras de ostras, com foco em bactérias mesófilas, bactérias psicrotróficas e fungos/leveduras. Além disso, investigou-se as concentrações sazonais de coliformes totais e termotolerantes em amostras de ostras coletadas ao longo de um ano.

METODOLOGIA

Amostras coletadas

Para a análise de coliformes totais e termotolerantes, um total de dez amostras por mês de ostras da espécie *Saccostrea cucullata* foram coletadas em frente ao píer do Instituto de Pesca (S 25°01'10.344", W 47°55'30.6804") localizado no município de Cananéia (SP), no período de janeiro a dezembro de 2019 (Figura 1). Por outro lado, as amostras isoladas nos meses de agosto, outubro e dezembro de 2018 e fevereiro de 2019 foram utilizadas para análises mais específicas como a presença de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. bactérias mesófilas, psicotróficas, fungos e leveduras.

Quantificação de coliformes totais e termotolerantes

Para a análise de coliformes totais e termotolerantes foram coletadas amostras de tecido de ostras *S. cucullata*, realizando-se análise do tecido mole das ostras no laboratório do Instituto de Pesca, Cananéia. As amostras de 10 ostras mensalmente foram submetidas à análise para a determinação do NMP (Número Mais Provável) de coliformes totais e termotolerantes, seguindo a metodologia descrita pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*^{17, 18}.

As amostras foram diluídas a partir de 1/10 da amostra (10 g de amostra em 90 mL de água peptonada 0.1% estéril), preparadas em diluições de 1/100 a 1/1000, totalizando dez diluições. Após esse procedimento foram cultivadas em Caldo Lauril Sulfato de Sódio (Himedia®, Mumbai, Índia). Os tubos com amostras de ostras foram incubados a 35 °C por 48 horas. Já as que apresentaram produção de gás nas tubulações de Durham e/ou acidificada no meio (coloração amarelada) foram considerados positivos. Para confirmação de coliformes, as culturas com resultado positivo do teste anterior foram inoculadas em Brilliant Green Bile Broth (2%) (Himedia®, Mumbai, Índia), incubado a 35±1 °C por 48 horas. Para a confirmação da presença de *E. coli*, as amostras foram transferidas e incubadas em Caldo EC (Himedia®, Mumbai, Índia),

por um intervalo de 18 a 24 horas a 44,5±0,2 °C.

Detecção e quantificação de mesófilos, psicotróficas, fungos e leveduras.

Com o objetivo de obter informação específica quanto a detecção e quantificação de bactérias mesófilas, psicotróficas, fungos e leveduras, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp., o estômago e divertículos digestivos foram isolados por dissecação e agrupados para obter 25 g de tecido. Alíquotas de 25 g de cada amostra foram pesadas assepticamente em sacos plásticos estéreis e homogeneizado com 225 mL de 0,1% (p/v) de água peptonada (Himedia®, Mumbai Índia), utilizando um circulator Colworth Stomacher® para uma ótima homogeneização do material, e incubadas em câmara de DBO modelo 347 CD (Fanem® - São Paulo, Brasil). Diluições decimais de 10:1 foram preparadas em tubos contendo 9,0 mL de água peptonada a 0,1%.

Para determinação de bactérias mesófilas as amostras foram incubadas a 35±2 °C por 48 h e para bactérias psicotróficas a 7±2 °C por 10 dias, para bolores e leveduras a 25±2 °C por 5 dias, seguindo a técnica da placa de propagação usada para analisar bactérias mesófilas e psicotróficas, bolores e leveduras¹⁸.

A determinação da contagem de *Staphylococcus aureus* foi realizada pelo Compact Dry® XSA kit (Nissui Pharmaceutical Company LTD - Ibaraki, Japão), e as amostras foram incubadas a 35±1°C por 24 horas¹⁹. Para detecção de *Salmonella* spp. utilizou-se o kit BAX® (DuPont Qualicon - Wilmington, EUA) e as amostras foram incubadas a 35±2 °C por 24 horas²⁰.

Análises estatísticas

Fez-se o teste estatístico Shapiro-Wilk no qual mostrou que a distribuição dos dados não se ajustou à normalidade. Como a distribuição não foi normal utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (KW-H) p<0,05 para comparação do nível de contaminação entre os meses e as estações do ano.

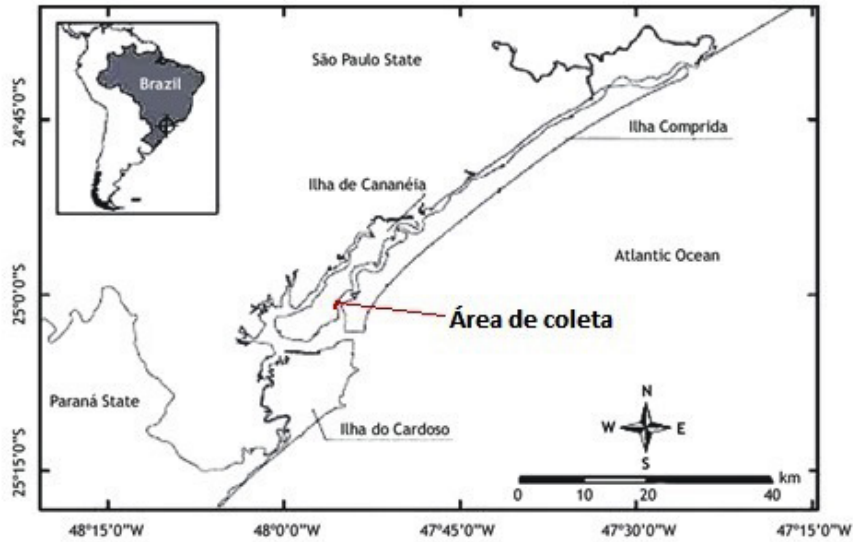


Figura 1 - Mapa da região do Complexo Estuarino-Lagunar Cananéia-Iguape. As coordenadas da área de coleta foram: S 25°01'10.344", W 47°55'30.6804".

RESULTADOS

As concentrações de coliformes totais apresentaram diminuição nos meses de junho a setembro, conforme ilustrado na Figura 2. Por outro lado, as concentrações de coliformes termotolerantes diminuíram no período de abril até setembro (Figura 3). Em relação à sazonalidade, observou-se um

aumento na concentração de coliformes termotolerantes durante os meses de verão e primavera. Por outro lado, as concentrações de coliformes termotolerante totais aumentaram durante o verão e diminuíram significativamente no inverno, como indicado na Figura 4 e 5.

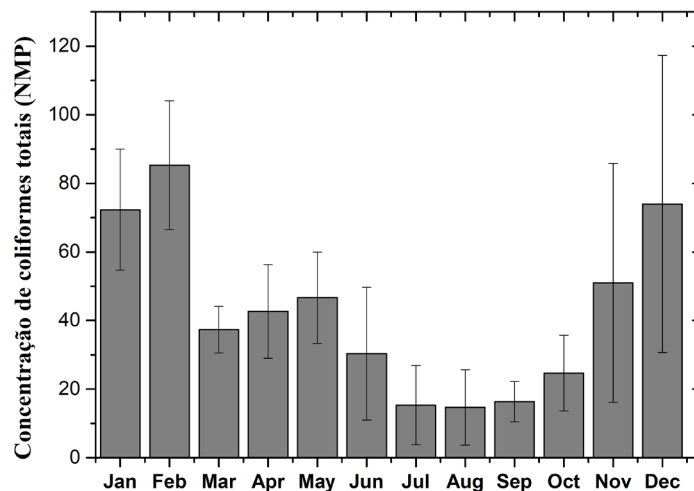


Figura 2 - Médias dos coliformes totais (N=10) nos tecidos das ostras analisados mensalmente. As barras apresentam os seus respectivos desvios padrões. As médias dos meses de julho, agosto e setembro, foram estatisticamente diferentes dos meses de janeiro, fevereiro, março, abril, maio e dezembro ($p < 0.05$).

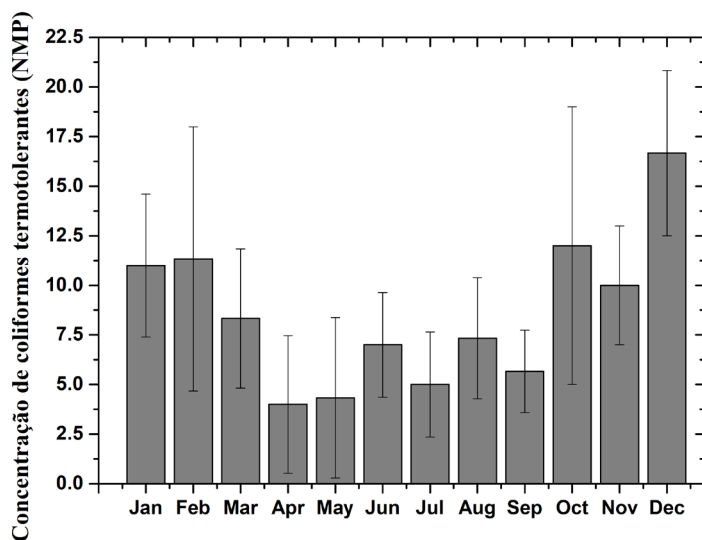


Figura 3 - Médias dos coliformes termotolerantes (N=10) nos tecidos das ostras analisados mensalmente. As barras apresentam os seus respectivos desvios padrões. As médias dos meses de janeiro, novembro e dezembro, foram estatisticamente diferentes dos meses de abril, maio e julho ($p < 0.05$).

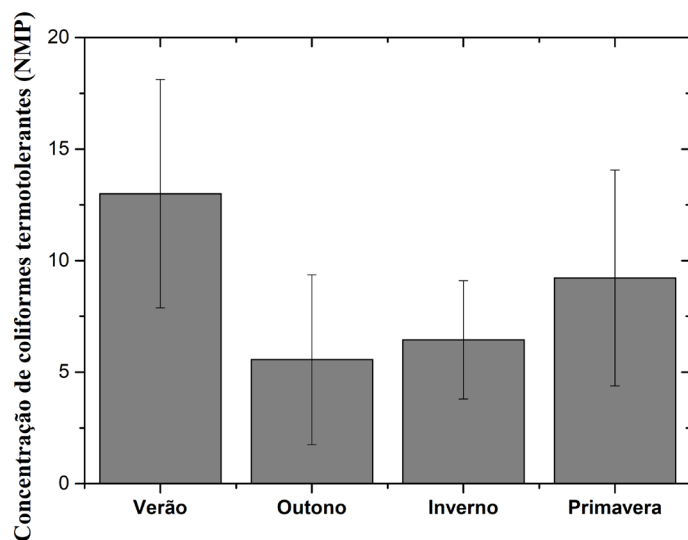


Figura 4 - Análise das médias dos coliformes termotolerantes (barras-desvio padrão, N=30) no tecido da ostra por variação sazonal. As barras apresentam os seus respectivos. Não houve diferença significativa entre as estações dos anos ($p < 0.05$).

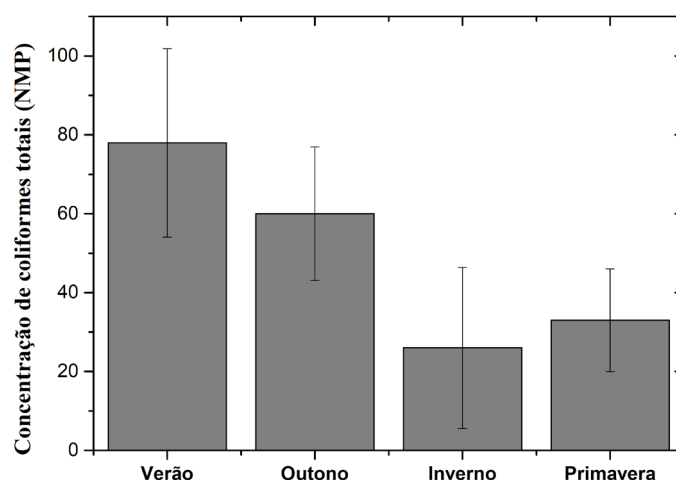


Figura 5 - Análise das médias dos coliformes totais (barras-desvio padrão, N=30) no tecido da ostra por variação sazonal. As barras apresentam os seus respectivos desvios padrões. Houve diferença estatística entre as estações de inverno ao ser comparada ao verão ($p < 0.05$).

A Tabela 1 apresenta as contagens de bactérias mesófilas que variou de $1,45 \pm 0,22$ a $3,32 \pm 0,28$ log UFC g^{-1} ; com valores médios de $2,24 \pm 0,86$ log UFC g^{-1} para as ostras estudadas.

Tabela 1 - Contagens de bactérias mesófilas, psicrotróficas, fungos e leveduras encontradas em ostras *Saccostrea cucullata* no estuário de Cananéia.

Análise microbiológica	Junho	Julho	Janeiro	Fevereiro
Mesófilas	$1,45 \pm 0,22$	$1,65 \pm 0,35$	$3,32 \pm 0,28$	$2,55 \pm 0,43$
Psicrotróficas	$1,34 \pm 0,29$	$1,52 \pm 0,42$	$2,99 \pm 0,55$	$3,12 \pm 0,45$
Fungos e leveduras	$2,65 \pm 0,31$	$1,88 \pm 0,28$	$3,57 \pm 0,22$	$3,07 \pm 0,41$

A contagem de bactérias psicrotróficas das amostras de ostras variou entre $1,34 \pm 0,29$ e $3,12 \pm 0,45$ log UFC g^{-1} (Tabela 1).

Os dados apresentados na Tabela 1 mostram que as contagens de fungos e leveduras das amostras de ostras variou de $2,65 \pm 0,23$ a $3,57 \pm 0,22$ log UFC g^{-1} .

A contagem máxima de *S. aureus* foi de

$1,24$ log UFC g^{-1} , e 83,5% das amostras apresentou resultado negativo para este microrganismo. A contagem média geral encontrada para esta análise foi a mais baixa entre os microrganismos avaliados neste estudo para o ponto de coleta estudado durante todo o período. Em nenhuma amostra foi detectada *Salmonella* spp.

DISCUSSÃO

Os resultados apresentados no estudo fornecem informações importantes sobre a qualidade microbiana e segurança alimentar da ostra exótica *S. cucullata* proveniente do extrativismo

no ambiente natural. A discussão desses resultados destaca a presença e os níveis de microrganismos específicos, como o grupo coliforme, bactérias psicrotróficas, fungos e leveduras, *Sta-*

phyllococcus aureus e *Salmonella* spp.

Em relação às bactérias psicrófilas, o estudo constatou que as contagens variaram em média de 2,24 log UFC g⁻¹ (Tabela 1). Todas as amostras analisadas apresentaram resultados aceitáveis de bactérias mesófilas e psicrófilas, com valores abaixo de 7,0 log UFC g⁻¹ segundo a *Internacional Commission on Microbiological Specifications for Foods*²⁰. As bactérias psicrófilas são conhecidas por serem capazes de crescer em baixas temperaturas, o que é preocupante no contexto da segurança das ostras^{9,21}. A variação observada nas contagens sugere diferenças potenciais nas condições de armazenamento ou nos níveis de contaminação entre as amostras. A contagem média fornece uma indicação geral da carga microbiana, e é importante observar que essas contagens devem estar dentro de limites aceitáveis para garantir a segurança e a qualidade das ostras para os consumidores⁷.

Os dados da Tabela 1 também mostram as contagens de fungos e leveduras nas amostras de ostras com um valor médio de 2,79 log UFC g⁻¹. Fungos e leveduras podem desempenhar um papel na deterioração dos alimentos e podem ser indicadores de más práticas de higiene e manipulação⁶. A variação observada nas contagens pode ser atribuída a diferenças nas condições ambientais, na manipulação pós-colheita ou nas práticas de armazenamento. Monitorar e controlar a contaminação por fungos e leveduras em ostras é crucial para garantir a qualidade do produto e estender sua vida útil.

O estudo também investigou a presença de *Staphylococcus aureus*, um potencial patógeno transmitido por alimentos. A baixa contagem média encontrada neste estudo, a menor entre os microrganismos avaliados, sugere que a contaminação por *Staphylococcus aureus* foi geralmente baixa, por que não é uma bactéria encontrada no ambiente com variação de salinidade^{7,12}. No entanto, é importante observar que mesmo baixos níveis desse patógeno podem representar um risco para os consumidores, pois pode provocar pneumonia, meningite, infecção do trato urinário e sepse²⁶. Enfatizando a importância da implementação de práticas estritas de higiene e procedimentos de monitoramento ao longo da cadeia de

produção e distribuição.

Além disso, é digno de nota que a *Salmonella* spp. não foi detectada em nenhuma das amostras testadas, sua ausência é um resultado positivo e indica que as amostras de ostras estudadas estavam livres desse patógeno específico durante o período do estudo. Isso pode ter ocorrido devido a variação de salinidade que ocorre no estuário⁹.

Os resultados obtidos em relação às concentrações de coliformes totais e coliformes termotolerantes fornecem informações valiosas sobre as variações sazonais e os riscos potenciais associados à qualidade da água. A diminuição observada nas concentrações de coliformes totais de junho a setembro (Figura 2) sugere condições microbianas melhoradas durante esse período. Essa redução pode ser atribuída a fatores como aumento da exposição solar, maiores temperaturas da água e melhores condições ambientais, geralmente associadas aos meses de verão. Resultado semelhante foi encontrado por Mignani *et al.*¹⁴ estudando a concentração de coliformes em ostras da espécie *Crassostea brasiliiana*.

Em contraste, a diminuição nas concentrações de coliformes termotolerantes de abril a setembro (Figura 3) indica uma tendência semelhante, mas com um período mais amplo, devido principalmente por esses meses são de menor número de turistas na cidade de Cananéia. Esse achado sugere um período prolongado de qualidade microbiana melhorada na água. A diminuição dos coliformes termotolerantes é especialmente importante, pois eles são considerados indicadores de contaminação fecal e podem representar um maior risco para a saúde humana^{20,21}.

O padrão sazonal observado nas concentrações de coliformes termotolerantes é notável. O aumento nas concentrações durante os meses de verão e primavera implica um maior risco de contaminação fecal durante essas estações. Isso pode ser atribuído a fatores como aumento das atividades recreativas, densidade populacional e potencial escoamento de áreas agrícolas ou urbanas^{14,22,24,25}. Esses achados destacam a importância da implementação de estratégias adequadas de monitoramento e gestão para mitigar os riscos associados a patóge-

nos transmitidos pela água durante os períodos de pico.

Curiosamente, as concentrações de coliformes totais apresentaram um padrão diferente em comparação aos coliformes termotolerantes, seu aumento durante os meses de verão e sua diminuição significativa durante o inverno (Figura 4) sugerem dinâmicas complexas das populações microbianas na água. O aumento dos coliformes totais durante o verão pode ser atribuído a várias fontes, incluindo fontes não fecais, como solo, vegetação e vida selvagem^{12,13,26}. A diminuição no inverno pode estar associada a fatores como redução da atividade microbiana devido a temperaturas mais baixas e menor interação humana e animal com corpos d'água.

CONCLUSÃO

Os resultados apresentados no estudo fornecem evidências científicas importantes em relação à qualidade microbiana e segurança das amostras de ostras. A presença e os níveis de bactérias psicrotróficas, fungos e leveduras, *Staphylococcus aureus* e a ausência de *Salmonella* spp. foram avaliados,

De maneira geral, esses resultados destacam a importância do monitoramento e da gestão da qualidade da água, sugerindo a utilização de moluscos bivalves como ótimos bioindicadores da qualidade microbiológica da água em ambientes poluídos, especialmente durante as estações com maiores riscos de contaminação. Compreender a dinâmica sazonal das concentrações de coliformes pode orientar o desenvolvimento de estratégias adequadas para garantir a segurança dos recursos hídricos para uso humano, atividades recreativas e saúde dos ecossistemas^{22,23,24,25}. Além disso, mais estudos são necessários para aprofundar nossa compreensão dessas dinâmicas e fortalecer ainda mais as medidas de prevenção e controle da contaminação da água.

oferecendo *insights* valiosos sobre os riscos potenciais associados ao consumo de ostras. Essas descobertas destacam a necessidade de monitoramento contínuo, boas práticas de depuração e medidas de controle eficazes para garantir a segurança e a qualidade das ostras para os consumidores.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos ao CNPq pela bolsa de produtividade (processo 304073/2023-7) e a Carinna Cabezas pela sua contribuição na ilustração do resumo gráfico.

Declaração do autor CRediT

Conceituação: Barbieri, E; Rezende, KFO. Metodologia: Barbieri, E; Rezende, KFO. Validação: Barbieri, E. Análise estatística: Barbieri, E. Análise formal: Barbieri, E; Vásquez-Ponce, F. Investigação: Barbieri, E; Araújo, ALS. Recursos: Barbieri, E. Preparação do rascunho original: Barbieri, E; Vásquez-Ponce, F. Revisão e edição: Barbieri, E; Vásquez-Ponce, F. Visualização: Barbieri, E; Araújo, ALS; Rezende, KFO; Vásquez-Ponce, F. Supervisão: Barbieri, E. Administração do projeto: Barbieri, E.

Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

REFERÊNCIAS

1. Navarrete SA, Castilla JC. Barnacle walls as mediators of intertidal mussel recruitment: effects of patch size on the utilization of space. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1990; 68: 113-119. <https://doi.org/10.3354/MEPS068113>
2. Barbieri E, Collaço FL, Doi SA, De Oliveira AJFC, Rezende KFO. Microbiology as an indicator of environmental health of Ilha Comprida lagoons- SP. *Mundo da Saude.* 2017; 40(A): 507-520. <https://doi.org/10.15343/0104-7809.201740A507520>
3. Campos FADB, Roselli LY, Barbieri E. Detecting bacteria of the coliform group in the soft tissue of *Mytella guyanensis* extracted in Cananéia/SP, Brazil. *Mundo da Saude.* 2020; 44(1): 84-91. <https://doi.org/10.15343/0104-7809.202044084091>
4. Pereira OM, Henriques MB, Machado IC. Crescimento da ostra *Crassostrea brasiliana* semeada sobre tabuleiro em diferentes densidades na região estuarino-lagunar de Cananéia-SP (25° S, 48° W). *Bol. Inst. Pesca.* 2001; (27): 163-174.

5. Evans KS, Athearn K, Chen X, Bell KP, Johnson T. Measuring the impact of pollution closures on commercial shellfish harvest: the case of soft-shell clams in Machias Bay, Maine. *Ocean Coast. Manag.* 2016 (130): 196–204. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2016.06.005>
6. García AV, Gomes De Sá SH, De Sousa Silva G, Fernandes AM, Mitsui Kushida M. Microbiological quality of shellfish and evaluation of compact dry EC for detecting total coliforms and *Escherichia coli*. *Acta Aliment.* 2020; 49(1): 32–39. <https://doi.org/10.1556/066.2020.49.1.5>
7. Doi SA, Barbieri E, Marques HLA. Densidade colimétrica das áreas de extrativismo de ostras em relação aos fatores ambientais em Cananeia (SP). *Eng. Sanit. Amb.* 2014; 19(2): 165–171. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522014000200007>
8. Polo D, Varela MF, Romalde JL. Detection and quantification of hepatitis A virus and norovirus in Spanish authorized shellfish harvesting areas. *Int. J. Food Microbiol.* 2015; 193: 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.10.007>
9. Vásquez-García A, Oliveira APSCD, Mejía-Ballesteros JE, Barberi E, Sousa RLMD, Fernandes, AM. *Escherichia coli* detection and identification in shellfish from southeastern Brazil. *Aquaculture.* 2019; 504: 158–163. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.062>
10. Barros D, Barbieri E. Análise da ocorrência de metais: Ni, Zn, Cu, Pb e Cd em ostras (*Crassostrea brasiliana*) e sedimentos coletados no Estuário de Cananeia-SP (Brasil). *Mundo da Saude.* 2012; 36(4): 635–642. <https://doi.org/10.15343/0104-7809.2012364635642>
11. Ballesteros ER, Andrade VC, Barbieri E, Deoliveira RS, De Oliveira AJFC. Qualidade microbiológica de ostras (*Crassostrea* sp) e de águas coletadas em cultivos e em bancos naturais de Cananéia (SP). *Bol. Inst. Pesca.* 2016; 42(1): 134–144. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n1p134>
12. Doi SA, De Cardoso Oliveira AJF, Barbieri E. Determinação de coliformes na água e no tecido mole das ostras extraídas em Cananéia, São Paulo, Brasil. *Eng. Sanit. Amb.* 2015; 20(1): 111–118. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522015020000000020>
13. Barbieri E, Bondioli AC, Woiciechowski E, Zapotoski SMK. Microbiological quality of cultivation water used for oysters marketed in Cananeia-SP, Brazil. *Mundo da Saude.* 2012; 36(4): 541–547. <https://doi.org/10.15343/0104-7809.2012364541547>
14. Mignani L, Barbieri E, Almeida Marques HL, Cardoso De Oliveira AJF. Coliform density in oyster culture waters and its relationship with environmental factors. *Pesq. Agropecu. Bras.* 2013; 48(8): 833–840. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000800004>
15. Galvão SNM, Alves PMF, Hilsdorf A. First record of the *Saccostrea* oyster in Bertioiga, São Paulo, Brazil. *Bol. Inst. Pesca.* 2017; 43: 638–645. <http://10.20950/1678-2305.2017v43n4p638>.
16. Amaral VS, Simone LRL, Tâmega FTS, Barbieri E, Calazans SH, Coutinho R, Spotorno-Oliveira, P. New records of the non-indigenous oyster *Saccostrea cucullata* (Bivalvia: Ostreidae) from the southeast and south Brazilian coast. *Reg. Stud. Mar. Sci.* 2020; 33: 100924. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2019.100924>
17. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation AWWA-APHA-WPCI - Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (2012). Disponível em: https://www.mwa.co.th/download/file_upload/SMWW_1000-3000.pdf
18. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA, Tanihavi MH, Santos RFS, Gomes RAR. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água (Manual of methods for microbiological analysis of food and water). São Paulo: Editora Varela, 2010, 632 p.
19. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NDA. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007; 643p.
20. Almeida PMP, Franco RM. Avaliação bacteriológica de queijo tipo Minas Frescal com pesquisa de patógenos importantes à saúde pública: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. e Coliformes Fecais. *Ver. Higiene Alimen.* 2003; 17(11) 79-85. <https://doi.org/10.1590/1808-1657v76p5472009>
21. Zampieri BDB, De Oliveira RS, Pinto AB, Chinellato RM, De Oliveira AJFC. Comparison of bacterial densities and resistance in different beach compartments: Should water be our main concern? *Mundo da Saude.* 2017; 40(A): 461–482. <https://doi.org/10.15343/0104-7809.201740A461482>
22. Rezende KFO, Garcia AV, Campos FADB, Barbieri E. Microbiological quality of the water in collection areas and the tissue of *Mytella falcata*—Cananéia (SP, Brazil). *Water Environ. Res.* 2022; 94(7): e10752. <https://doi.org/10.1002/wer.10752>
23. Fontes RFC, Fey JD, De Oliveira AJFC, Barbieri E. Numerical modeling as supporting tool for aquaculture of oysters in a subtropical estuarine ecosystem. *Bol. Inst. Pesca.* 2019; 45(4): e487. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2019.45.4.487>
24. Nörnberg MFBL, Tondo E C, Brandelli A. Bactérias psicrófilas e atividade proteolítica no leite cru refrigerado. *Acta Sci. Vet.* 2009; 37: 57-163. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.16243>
25. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). *Microorganisms in foods.2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications* (2d ed). Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1986.p324.
26. Santos AL, Santos, DO, Freitas, CC, Ferreira, BLA, Afonso, IF, Rodrigues, CR., Castro HC. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 2007; 43 (6): 413-423. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442007000600005>

Recebido: 07 março 2024.
Aceito: 29 maio 2024.
Publicado: 13 junho 2024.