

Validação de unidades depuradoras de média escala em termos de redução das contagens de *E. coli* e de sobrevivência pós-depuração das ostras *Crassostrea gigas*

Felipe Matarazzo Suplicy¹, Robson Ventura de Souza², Érica Carobrêz³, Giustino Tribuzi⁴ e Marília Miotto⁵

Resumo – As unidades depuradoras de média escala avaliadas foram capazes de atender ao requisito legal avaliado. A depuração por 36 horas resultou numa redução das contagens da bactéria indicadora de contaminação de origem fecal, *Escherichia coli*, na carne de todas as amostras de ostras de todos os sete ciclos acompanhados até níveis dentro dos limites legais. Os resultados ainda indicam que tanto ostras magras quanto gordas apresentam uma sobrevivência pós-depuração similar, no geral acima de 80% dez dias após a depuração.

Termos para indexação: Moluscos bivalves; Poluição marinha; Saúde pública; Aquicultura.

Validation of medium-scale depuration units in terms of *E. coli* counts reduction and post-depuration survival of *Crassostrea gigas* oyster

Abstract – The medium-scale depuration units evaluated in this study successfully met the legal requirements. After 36 hours of depuration, the levels of fecal contamination bacteria, *Escherichia coli*, in the meat of all oyster samples from all seven cycles monitored were reduced to levels within legal limits. The results also show that both lean and fat oysters had similar survival rates after purification, generally above 80% ten days after purification.

Indexing terms: Bivalve mollusk; Marine pollution; Public health; Aquaculture.

Introdução

A depuração é uma técnica de processamento realizada antes da comercialização que envolve a manutenção de moluscos, como as ostras e os mexilhões, em tanques com água salgada limpa, onde os animais realizam a sua atividade normal de filtração por um período suficiente para que expulsem, junto com o conteúdo dos seus intestinos, os microrganismos causadores de doenças que eventualmente tenham sido ingeridos nas fazendas marinhas ou nos bancos naturais (Souza *et al.*, 2021).

A Epagri publicou uma revisão bibliográfica que evidencia os benefícios e limitações desta técnica em termos de redução dos níveis de bactérias e vírus relacionados à contaminação de origem

fecal (Souza *et al.*, 2022) e um boletim didático, baseado na experiência internacional, que explica como a depuração deve ser realizada para obter os melhores resultados (Souza *et al.*, 2021). No entanto, a eficiência de uma unidade de depuração dependerá da sua construção e operação e mesmo unidades construídas e operadas seguindo as melhores recomendações devem ser validadas por meio de ensaios controlados, de forma a comprovar a sua eficiência para as autoridades responsáveis pela inspeção sanitária dos estabelecimentos processadores de moluscos. Para isso, é comumente avaliado um dos parâmetros atualmente previstos em legislação (Brasil, 2022) para controle desses perigos, que são os níveis da bactéria *Escherichia coli* (uma bactéria do grupo

dos coliformes que serve como indicador da presença de fezes de animais de sangue quente) na carne dos moluscos antes e após a depuração.

Este informativo técnico descreve os resultados da avaliação do processo de depuração em unidades depuradoras de média escala em um estabelecimento processador em Santa Catarina. Para isso foram acompanhados ciclos de ostras *Crassostrea gigas* em diferentes épocas do ano, envolvendo o monitoramento de diferentes parâmetros de qualidade de água e dos níveis de *E. coli* na carne das ostras antes, durante e ao fim de cada ciclo de depuração. Um parâmetro monitorado adicionalmente foi a sobrevivência das ostras no período pós-depuração, uma vez que alguns produtores questionam se a sobrevi-

Recebido em 24/11/2023. Aceito para publicação em 23/05/2024.

<https://doi.org/10.52945/rac.v37i2.1784>

Editor de seção: Douglas da Cruz Matos

¹ Biólogo, Ph.D., Epagri/Centro de Desenvolvimento em Aquicultura e Pesca (Cedap), C.P. 502, 88034-901 Florianópolis, SC, fone: (48) 3665-5060, e-mail: felipesuplicy@epagri.sc.gov.br.

² Médico Veterinário, Dr., Epagri/Centro de Desenvolvimento em Aquicultura e Pesca (Cedap), C.P. 502, 88034-901 Florianópolis, SC, fone: (48) 3665-5060, e-mail: robsonsouza@epagri.sc.gov.br.

³ Farmacêutica, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 88034-001, Florianópolis, SC, fone (48) 3721-5377, e-mail: ericaimhof@gmail.com

⁴ Cientista de Alimentos, Dr., Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 88034-001, Florianópolis, SC, fone (48) 3721-5395, e-mail: giustino.tribuzi@ufsc.br

⁵ Farmacêutica e Bioquímica, Dra., Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 88034-001, Florianópolis, SC, fone (48) 3721-5377, e-mail: marilia.miotto@ufsc.br



Este periódico está licenciado conforme Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional.

vência dos animais comercializados *in natura* seria afetada pelo processo.

Unidades depuradoras de moluscos avaliadas

O estabelecimento processador localiza-se na Caieira da Barra do Sul, em Florianópolis, e possui seis unidades depuradoras compostas de tanques construídos em alvenaria com revestimento cerâmico, dimensões internas de 2,10m x 1,50m x 1,35m (A x L x P) e capacidade para 4.250 litros. Cada unidade possui um sistema de recirculação de água independente, envolvendo os seguintes equipamentos instalados sequencialmente da saída de água até o seu retorno para o tanque: uma bomba de 1CV, um resfriador de água e um equipamento de desinfecção de água por luz ultravioleta com lâmpada de 55W. A velocidade de recirculação é de 12.750 litros (três vezes o volume do tanque) por hora. Cada unidade é carregada com até 700 dúzias de ostras, posicionadas em grupos de dez dúzias em caixas de plástico gradeadas (na base e nas laterais) com dimensões 14cm x 60cm x 38cm (A x L x P), que são organizadas em dez pilhas contendo sete caixas cada. Essas especificações estão de acordo com recomendações nacionais e internacionais (Lee *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2021) e dos fornecedores dos equipamentos que compõem o sistema.

Avaliação dos ciclos de depuração

Foram avaliados sete ciclos de depuração realizados entre novembro de 2022 e agosto de 2023. As contagens de *E. coli* nas ostras foram realizadas antes da depuração e após 12, 24, 36 e 48 horas do início do processo. No quarto ciclo de depuração avaliado, foram analisados os níveis de *E. coli* também após 60 e 72 horas. Para as análises, três amostras contendo seis ostras cada foram coletadas na camada de caixas plásticas vazadas mais próxima à superfície da água, após cada um dos intervalos de tempo mencionados. Ao fim do processo de depuração, além das três amostras coletadas na camada supe-

rior de caixas, foram coletadas também três amostras na camada mais próxima ao fundo do tanque. Os níveis de *E. coli* foram estimados por meio da técnica de Número Mais Provável (NMP) seguindo o método ISO 16649-3:2015 (ISO, 2015). Foram monitorados os parâmetros de qualidade de água: temperatura, a cada hora (registrator de temperatura HOBO Pendant MX, Onset); pH, concentração de oxigênio (sonda multiparâmetro HI 9829, Hanna) e salinidade (refratômetro), a cada 12 horas. Foi avaliado ainda o Índice de Condição (proporção de carne/concha) de vinte ostras antes de cada ciclo de depuração, segundo o método proposto por Lucas e Beninger (1985), bem como a sobrevivência dos animais após as depurações. A sobrevivência após a depuração foi avaliada em cinco grupos, contendo cinco ostras cada, mantidos em uma incubadora BOD mantida a 4°C. Cada grupo foi acondicionado em uma embalagem plástica de 1 litro com tampa e contendo um pequeno pedaço de pano umeado para evitar a desidratação dos animais. A avaliação da sobrevivência foi feita ao fim de 10 dias, sendo consideradas mortas as ostras não reagentes a estímulo físico (com conchas abertas mesmo após serem manipuladas).

Parâmetros de qualidade de água

Os parâmetros de qualidade de água apresentaram pouca variação entre os ciclos de depuração avaliados. A temperatura variou entre 17 e 19°C, o pH entre 7,13 e 7,36 e o oxigênio dissolvido se manteve em torno de 80%. A salinidade foi o parâmetro que apresentou maior variação entre ciclos de depuração devido à ocorrência de chuvas que afetaram a salinidade da água captada do mar. Na sétima depuração ocorreram problemas que impediram o acompanhamento desses parâmetros (Tabela 1). Esses valores mostram que as condições da água durante o processo de depuração seguiram as recomendações internacionais (Lee *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2021).

Contagens de *E. coli* nas ostras durante a depuração

De acordo com os padrões microbiológicos estabelecidos pela Anvisa (Brasil, 2022), entre cinco unidades amostrais de um lote de moluscos vivos, quatro devem ter contagens de *E. coli* de até 230NMP 100g⁻¹ e apenas um resultado pode ter valor de até 700NMP

Tabela 1. Data dos ciclos de depuração de ostras *Crassostrea gigas* e médias e desvios padrões dos parâmetros físico-químicos da água durante a depuração

Table 1. Date of the depuration cycles of oysters *Crassostrea gigas* and means and standard deviations of the physical-chemical parameters of the water during depuration

Depuração	Data	Temperatura (°C)	pH	Salinidade (ppt)	Oxigênio dissolvido (%)
1	21/11/2022	18,99 ± 0,98	7,36 ± 0,28	29,52 ± 0,16	81,74 ± 8,06
2	05/12/2022	18,61 ± 1,00	7,13 ± 0,18	27,27 ± 0,09	85,30 ± 5,23
3	12/12/2022	19,21 ± 1,19	7,19 ± 0,02	24,17 ± 0,17	79,90 ± 5,79
4	26/06/2023	17,86 ± 1,66	7,27 ± 0,07	33,25 ± 0,21	83,72 ± 3,60
5	17/07/2023	17,06 ± 0,60	7,21 ± 0,05	25,21 ± 0,54	80,82 ± 5,22
6	14/08/2023	18,84 ± 0,42	7,35 ± 0,01	35,25 ± 0,10	83,32 ± 3,22
7	03/10/2023	-	-	-	-

100g⁻¹ para que o produto final tenha qualidade aceitável. Como na validação acompanhada, eram coletadas apenas três amostras, todas deveriam ter resultados máximos de até 230NMP 100g⁻¹ para atender a este requisito legal. No primeiro ciclo de depuração, com contaminação inicial de 790NMP 100g⁻¹ nas três amostras iniciais, a carga microbiana atingiu níveis aceitáveis após 24 horas de depuração. Nos segundo e terceiro ciclos, com contaminações iniciais de 4.666 ± 3.988 NMP 100g⁻¹ e de 1.523 ± 1.545 NMP 100g⁻¹, os níveis aceitáveis foram atingidos após 36 horas de depuração. No quinto ciclo, a contaminação inicial já estava abaixo do limite de 230NMP 100g⁻¹ ($112,67 \pm 30,02$ NMP 100g⁻¹). No sexto ciclo de depuração, com contaminação inicial de 7.066 ± 7.788 NMP 100g⁻¹, os níveis aceitáveis foram atingidos dentro de 24 horas e no sétimo ciclo, com contaminação inicial de 894 ± 858 NMP 100g⁻¹, os níveis aceitáveis foram atingidos dentro de 12 horas (Fig. 1).

A comparação dos resultados de contaminação residual obtidos para as amostras de ostras colhidas nas caixas superiores e nas inferiores identificou uma diferença significativa, sendo as contagens de *E. coli* nas ostras das camadas superiores significativamente menores que no fundo do tanque (comparação feita com o teste U de Mann-Whitney, p-valor = 0,045) (Fig. 2).

Foi observado que nos três primeiros ciclos de depuração as ostras tinham uma menor proporção de carne/concha, isto é, estavam mais “magras” (comparação feita por meio do teste de Kruskal-Wallis, p-valor < 0,001). Por outro lado, não houve diferença significativa entre a sobrevivência das ostras no período pós-depuração, o que sugere que as ostras magras sobreviveram de maneira similar às ostras gordas após o processo de depuração. A sobrevivência ao final de um período de 10 dias após a depuração foi no geral acima de 80% (Fig. 3).

O que os resultados mostram

Os resultados da validação feita indicam que as unidades depuradoras

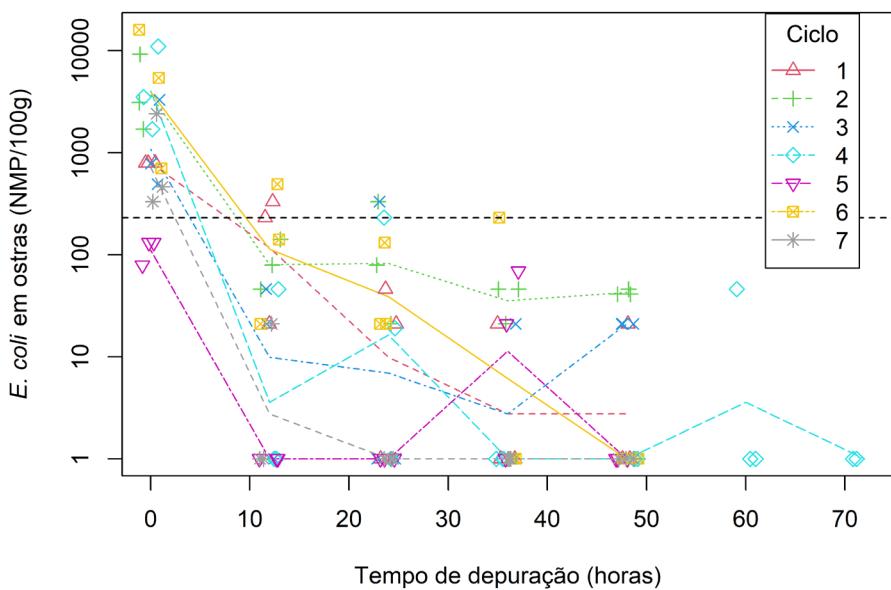


Figura 1. Contagens de *Escherichia coli* na carne de ostras ao longo do tempo nos sete ciclos de depuração acompanhados

Figure 1. Counts of *Escherichia coli* in oyster meat over time in the seven depuration cycles monitored

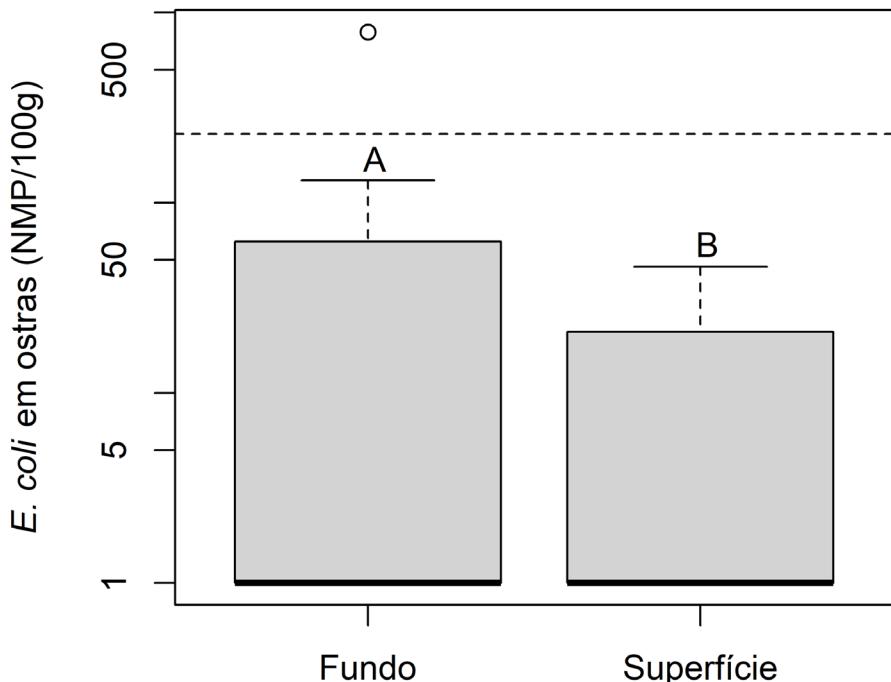


Figura 2. Gráfico de caixa comparando a contaminação residual na carne de ostra em amostras colhidas nas porções superiores e inferiores do tanque, ao final dos processos de depuração

Figure 2. Box plot comparing residual contamination in oyster meat in samples collected from the upper and lower portions of the tank, at the end of the depuration processes

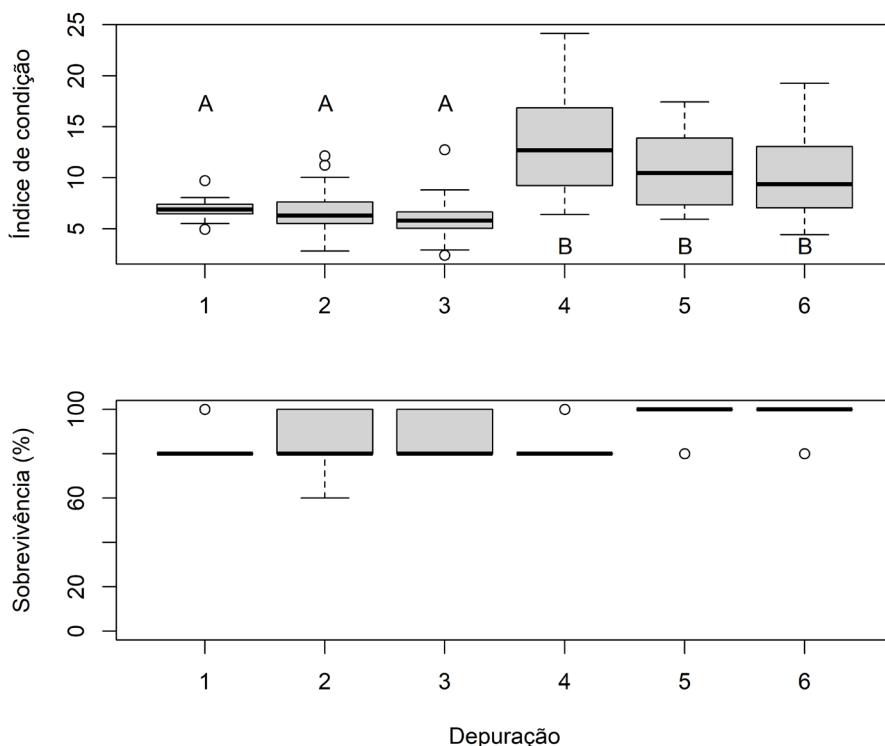


Figura 3. Gráficos de caixa com resultados do Índice de Condição (IC) e da sobrevivência de ostras mantidas refrigeradas a 4°C durante dez dias após o processo de depuração, nas seis depurações acompanhadas

Figure 3. Box plots with results of the Condition Index (CI) and survival of oysters kept refrigerated at 4°C for ten days after the depuration process, in the six depurations monitored

avaliadas são eficientes e que a redução da carga de *E. coli* ocorre com uma velocidade similar àquela descrita pela experiência internacional, que em geral é dentro de 48 horas (Lee *et al.*, 2008). A depuração por 36 horas resultou numa redução das contagens da bactéria indicadora de contaminação fecal, *E. coli*, na carne de todas as amostras de ostras, de todos os ciclos acompanhados, até contagens dentro dos limites legais. Não foram observadas desovas das ostras nas condições testadas neste estudo. Os resultados indicam ainda que tanto ostras magras quanto gordas apresentam uma

sobrevivência pós-depuração similar, no geral acima de 80%.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fazenda Marinha Paraíso das Ostras por disponibilizar suas instalações para a condução do estudo, aos Srs. Evandro Rodrigo Perin e João José Teixeira Filho pelo apoio na condução dos experimentos, e ao Serviço de Inspeção Municipal de Produtos de Origem Animal (SIM) da Prefeitura de Florianópolis por todo

apoio no processo de validação das unidades depuradoras.

Referências

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC n. 724, de 1º de julho de 2022. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos**. 2022.

ISO 16649-3:2015. International Organization for Standardization. **Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of β -glucuronidase positive *Escherichia coli* – Part 3: Most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide**. 2015.

LEE, R.; LOVATELLI, A.; ABABOUCH, L. **Bivalve depuration: fundamental and practical aspects**. FAO Fisheries Technical Paper. Rome: FAO, 2008. 139p.

LUCAS, A.; BENINGER, P.G. The use of physiological condition indexes in marine bivalve aquaculture. **Aquaculture**, Amsterdam, v.44, n.3, p.187–200, 1985. DOI: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(85\)90243-1](https://doi.org/10.1016/0044-8486(85)90243-1)

SOUZA, R.V. de; SUPILY, F.M.; NOVAES, A.L.T. **Depuração de moluscos bivalves**. Florianópolis, SC, 2021. 70 p. (Epagri. Boletim Didático, 160).

SOUZA, R.V. de; MORESCO, V.; MIOTTO, M.; SOUZA, D.S.M.; CAMPOS, C.; SUPILY, F.M. Depuração e tratamento térmico para redução dos níveis de patógenos em moluscos bivalves produzidos em Santa Catarina, Brasil. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.35, n.2, p.78–82, 2022 DOI: <https://doi.org/10.52945/rac.v35i2.1351>