



**ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS MARINHAS E COSTEIRAS**

Monografia para obtenção de grau de licenciatura em Biologia Marinha

**Análise da contaminação Microbiológica das Amêijoas (*Meretrix meretrix*) colectados no  
Estuário dos Bons Sinas.**

**Autora:**

Manuela Silvestre Uachane

Quelimane, Setembro de 2025



**ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS MARINHAS E COSTEIRAS**

Monografia para obtenção de grau de licenciatura em Biologia Marinha

**Análise da contaminação Microbiológica das Amêijoas (*Meretrix meretrix*) colectados no  
Estuário dos Bons Sinas.**

**Autora**

Manuela Silvestre Uachane

(Manuela Silvestre Uachane)

**Supervisor (a)**

Halaze Manhice

(MSc. Halaze Manhice)

**Co-Supervisor**

Domingos Manuel Ataíde

(Lic. Domingos Manuel Ataíde)

**Avaliador (a)**

Vanadia Massingue

(MSc. Vanádia Massingue)

**Presidente do Júri**

Tomás

(MSc. Tomás Samo)

Quelimane, Setembro de 2025

## **Dedicatória**

Dedico o meu trabalho aos meus pais, vocês são os melhores pais do mundo, e dedico a mim mesma pela dedicação, persistência e resiliência. Pois apesar de todas as dificuldades que enfrentei, nunca pensei em desistir, para mim este trabalho não é apenas para a conclusão do curso, mas sim o nascimento de uma mulher mais engajada no mundo das pesquisas científicas.

## **Agradecimentos**

Os meus sinceros agradecimentos, endereço:

Ao meu bom Deus pela misericórdia, e por sempre ter sido fiel em minha vida e na minha trajetória académica.

Aos meus pais Atália Francisco Timana e Silvestre Elias Uachane por tudo que eles têm feito por mim e por serem pais maravilhosos, por sempre me guiarem, por darem até o que não tinham para que esse dia fosse possível.

Aos meus irmãos Mércio, Sílvia, Tânia, Catarina, Francisco e Rose, aos meus tios paternos e maternos, aos meus pastores pelo apoio e orações.

Ao meu parceiro Rogério Ocomana, pelo companheirismo, pelo apoio desde o meu primeiro ano, por tornar os dias mais coloridos.

Aos meus amigos: Carmen, Emmylen, Jéssica e Edvânia pela companhia, conversas, fofocas e apoio durante a formação.

Aos meus colegas Menalda, Juliana, Nelda, Videnia, Edvânia e Olívia e todos Biólogos de 2021 e 2022, por tudo.

Aos Meus colegas/vizinhos do condomínio verde Aldon, Marven, Euclides, Carlota e Helena pela convivência, Jogos e risadas, Aos segundos pais que o condomínio verde nos proporcionou, obrigada tia Rosa e tio Vasco.

Aos pescadores que me levaram para todos pontos de colecta, tio Maquina, tio Manuel, mano Amisse.

A INIP, por me ter aceite como estagiária, e de certa forma fizeram parte deste trabalho, pelas habilidades que adquiri nesta instituição e por me dar chance de conhecer profissionais incríveis que foram cruciais para o meu desenvolvimento profissional, o meu muito obrigada em especial ao Dr. Edson Carlos, dr Jorge Kachimira e ao dr Domingos Ataíde

A UEM pela oportunidade em especial a Escola superior de ciências marinhas e costeiras, a todos os docentes e funcionários que fizeram parte desta trajetória, em Especial a Msc Halaze Manhice pela supervisão e todo apoio, ao Dr. Anildo Naftal por tudo.

### **Declaração de honra**

Eu, Manuela Silvestre Uachane Declaro por minha honra que este trabalho de fim de curso é da minha autoria, constitui o resultado da minha investigação e nunca foi apresentado parcial e totalmente para obtenção de qualquer grau Académico e todas as obras utilizadas foram devidamente citadas e referenciadas na lista de Referências bibliográficas.

Assinatura

Manuela Silvestre Uachane

(Manuela Silvestre Uachane)

15/Setembro/2025

## Resumo

O presente trabalho intitulado Análise da contaminação microbiológica das amêijoas colectadas no estuário dos Bons sinais teve como objectivo identificar a ocorrência de microrganismos patogénicos no tecido intravalvar das amêijoas colectadas no estuário dos bons sinais, visto que são organismos filtradores e podem acumular substâncias suspensas na coluna de água, incluindo os microrganismos. As colectas das amostras foram feitas no mês de Agosto em 3 principais bancos de coleta de Bivalves, nomeadamente Banco de Inhangome, com duas colectas designadas Inhangome1 e Inhangome2, Banco de porto, com uma coleta e Banco de Mitavu com duas colectas designadas Mitavu1 e Mitavu2. Foram quantificados os coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* pela técnica de Numero mais provável (NMP) Foi determinada a presença ou ausência de salmonela em 25g de cada amostra usando a técnica de plaqueamento no XLD e confirmação com testes bioquímicos usando Triple sugar iron (TSI) e Lysine iron ágar (LIA). Os coliformes totais tiveram maior incidência tendo o NMP mínimo de 17/g e NMP máximo de 350/g, os coliformes termotolerantes e E.coli, tiveram os mesmos resultados, sendo NMP mínimo de 4/g e máximo de 350/g. Os resultados mostram variação espacial na carga microbiológica das amêijoas no estuário dos Bons Sinais. As contagens (NMP/g) foram: Inhangome1: 31 (coliformes totais, termotolerantes e *E.coli*), Salmonella presente; Inhangome 2: 350 (coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli*); Salmonella ausente; Porto: 350 (coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli*); Salmonella ausente; Mitavú1: 49 (coliformes totais), 33 (termotolerantes) e 33 (*E. coli*); Salmonella ausente; M2: 17 (coliformes totais), 4 (termotolerantes) e 4 (*E. coli*); Salmonella ausente, foi comparada a conformidade dos resultados obtidos com os padrões microbiológicos estabelecidos pelas normas nacionais, onde todas as amostras se enquadraram na categoria B, e amostra de Inhangome 1 apesar de possuir valores correspondentes a categoria B, foi considerado inapto para o consumo, as amostras de Inhangome 2, porto, Mitavu 1 e Mitavu 2, foram consideradas Aptas para o consumo/comercialização após a depuração. sendo obrigatório passar por tratamento prévio antes do consumo .

**Palavras-chaves:** Contaminação microbiológicas; Amêijoas; estuário de bons sinais

## Abstract

The present study, entitled *Analysis of the Microbiological Contamination of Clams Collected in the Bons Sinais Estuary*, aimed to identify the occurrence of pathogenic microorganisms in the intravalvar tissue of clams collected in the Bons Sinais estuary, given that these are filter-feeding organisms capable of accumulating suspended substances in the water column, including microorganisms. Sample collections were carried out in August at three main clam harvesting banks, namely Inhangome Bank, with two samples designated Inhangome1 and Inhangome2; Porto Bank, with one sample; and Mitavú Bank, with two samples designated Mitavú1 and Mitavú2. Total coliforms, thermotolerant coliforms and *Escherichia coli* were quantified using the Most Probable Number (MPN) technique. The presence or absence of *Salmonella* was determined in 25 g of each sample by plating on XLD agar, followed by biochemical confirmation using Triple Sugar Iron (TSI) and Lysine Iron Agar (LIA).

Total coliforms showed the highest incidence, with a minimum MPN of 17/g and a maximum of 350/g, while thermotolerant coliforms and *E. coli* presented the same results, with minimum values of 4/g and maximum values of 350/g. The results revealed spatial variation in the microbiological load of clams in the Bons Sinais estuary. The counts (MPN/g) were as follows: Inhangome1: 31 (total coliforms, thermotolerant coliforms and *E. coli*), *Salmonella* present; Inhangome2: 350 (total coliforms, thermotolerant coliforms and *E. coli*), *Salmonella* absent; Porto: 350 (total coliforms, thermotolerant coliforms and *E. coli*), *Salmonella* absent; Mitavú1: 49 (total coliforms), 33 (thermotolerant coliforms) and 33 (*E. coli*), *Salmonella* absent; Mitavú2: 17 (total coliforms), 4 (thermotolerant coliforms) and 4 (*E. coli*), *Salmonella* absent.

The conformity of the results with the microbiological standards established by national regulations was assessed. All samples fell into category B; however, the Inhangome1 sample, despite presenting values corresponding to this category, was considered unfit for consumption. In contrast, the Inhangome2, Porto, Mitavú1 and Mitavú2 samples were considered fit for consumption and/or commercialisation after depuration, as pre-treatment is mandatory before consumption.

**Keywords:** Microbiological contamination; Clams; Bons Sinais estuary

## Índice de figuras

|                                                                                                                                                                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1: Amêijoia <i>Meretrix meretrix</i> .....                                                                                                                                                                      | 17 |
| Figura 2: Morfologia de moluscos bivalves .....                                                                                                                                                                        | 18 |
| Figura 3: Mapas de distribuição gerados por computador para <i>Meretrix meretrix</i> (marisco duro asiático), com mapa de alcance nativo modelado para o ano 2050 com base no cenário de emissões RCP8.5 do IPCC. .... | 19 |
| Figura 4: localização do estuário de bons sinais e principais bancos de coleta de moluscos Bivalves .....                                                                                                              | 24 |
| Figura 5: Obtenção das amostras .....                                                                                                                                                                                  | 25 |
| Figura 6: Processamento das amostras Para detecção de <i>Salmonella</i> .....                                                                                                                                          | 26 |
| Figura 7: Rappaport Vassiliads .....                                                                                                                                                                                   | 26 |
| Figura 8: Leitura das colônias presuntivas no XLD a) Ausente b) presuntivo presente .....                                                                                                                              | 27 |
| Figura 9: Brilliant Green bile. ....                                                                                                                                                                                   | 29 |
| Figura 10: Ec broth .....                                                                                                                                                                                              | 29 |
| Figura 11: Tryptone .....                                                                                                                                                                                              | 30 |
| Figura 12: Gráfico de quantificação de coliformes totais .....                                                                                                                                                         | 34 |
| Figura 13: Gráfico de quantificação de coliformes termotolerantes e <i>E. coli</i> .....                                                                                                                               | 35 |

## Índice de Tabelas

|                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1: Coordenadas dos pontos de coleta das amostras. ....                                                                         | 25 |
| Tabela 2: Comparação de conformidade: .....                                                                                           | 30 |
| Tabela 3: Presença ou ausência de <i>Salmonella</i> em cada ponto de coleta .....                                                     | 32 |
| Tabela 4: Resultados de testes positivos presuntivos a confirmativos .....                                                            | 33 |
| Tabela 5: Comparação da conformidade dos resultados obtidos com os padrões microbiológicos estabelecidos pelas normas nacionais. .... | 35 |
| Tabela 6: Variáveis ambientais .....                                                                                                  | 36 |

## **Lista de abreviaturas**

**BPW**- Buffered peptone water

**BGB**- Brilliant Green bile

**ECB**- Escherichia coli broth

***E.coli***- *Escherichia coli*

**FAO**-Food and agriculture organization of the United Nations

**g**- Grama

**I1**- Banco de Inhangome Primeiro coleta

**I2**- Banco de Inhangome segunda coleta

**INIP**- Instituto nacional de inspecção de pescado

**LSB**- Lauril sulfate broth

**ml**- Mililitro

**M1**- Primeira coleta no banco de Mitavu

**M2**- Segunda coleta no banco de Mitavu

**NMP**- Numero mais provável

**NMKL**- Comité Nordico-Baltico de Analise de alimentos

**P**- Coleta de Banco de porto

**RVS**- Rappaporte Vassiliads soy

**XLD**- Xilose lysine desocscholate

## Índice

|                                                                                                                                                                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Dedicatória .....                                                                                                                                                                                                                     | iii |
| Agradecimentos.....                                                                                                                                                                                                                   | iv  |
| Declaração de honra .....                                                                                                                                                                                                             | v   |
| Resumo.....                                                                                                                                                                                                                           | vi  |
| Abstract .....                                                                                                                                                                                                                        | vii |
| Lista de abreviaturas.....                                                                                                                                                                                                            | ix  |
| 1.1. Problematização .....                                                                                                                                                                                                            | 14  |
| 1.2. Justificativa.....                                                                                                                                                                                                               | 15  |
| 1.3. Hipóteses .....                                                                                                                                                                                                                  | 15  |
| 1.4. Objectivos.....                                                                                                                                                                                                                  | 16  |
| 1.4.1. Geral .....                                                                                                                                                                                                                    | 16  |
| 1.4.2. Específicos.....                                                                                                                                                                                                               | 16  |
| 2.1. Caracterização da amêijoia <i>Meretix meretrix</i> .....                                                                                                                                                                         | 17  |
| 2.2. Taxonomia .....                                                                                                                                                                                                                  | 17  |
| 2.3. Morfologia interna e externa .....                                                                                                                                                                                               | 17  |
| 2.4. Distribuição geográfica e habitat.....                                                                                                                                                                                           | 19  |
| 2.5. Importância económica e Nutricional .....                                                                                                                                                                                        | 19  |
| 2.6. Doenças transmitidas por alimentos.....                                                                                                                                                                                          | 20  |
| 2.7. Bactérias patogénicas em alimentos .....                                                                                                                                                                                         | 20  |
| 2.7.1. <i>Salmonella</i> spp .....                                                                                                                                                                                                    | 20  |
| 2.7.2. Coliformes totais .....                                                                                                                                                                                                        | 20  |
| 2.7.3. Coliforme termotolerantes.....                                                                                                                                                                                                 | 21  |
| 2.7.4 <i>Escherichia coli</i> .....                                                                                                                                                                                                   | 21  |
| 2.8. Legislação Moçambicana sobre Controlos e Requisitos Higiénico-sanitários para Moluscos Bivalves Vivos e Processados.....                                                                                                         | 21  |
| 2.9. Técnica para redução de microrganismos nos moluscos bivalves .....                                                                                                                                                               | 22  |
| 3. Metodologia .....                                                                                                                                                                                                                  | 24  |
| 3.1. Área de estudo .....                                                                                                                                                                                                             | 24  |
| 3.2. Amostragem.....                                                                                                                                                                                                                  | 25  |
| 3.3. Identificação da ocorrência dos microrganismos patogénicos ( <i>Salmonella</i> spp coliformes totais, coliformes termotolerantes e <i>Escherichia coli</i> ) no tecido das Amêijoas colectados no estuário dos bons sinais ..... | 25  |
| 3.3.1. Detecção de <i>Salmonella</i> .....                                                                                                                                                                                            | 26  |
| 3.3.2. Identificação de coliformes .....                                                                                                                                                                                              | 28  |

|      |                                                                                                                            |    |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.4. | Quantificação dos coliformes totais, Coliformes termotolerantes e <i>Escherichia coli</i> no tecido das Amêijoas.....      | 30 |
| 3.5. | Comparação da conformidade dos resultados obtidos com os padrões microbiológicos estabelecidos pelas normas nacionais..... | 30 |
| 3.6. | Variáveis ambientais.....                                                                                                  | 31 |
| 3.7. | Análise de dados.....                                                                                                      | 31 |
| 4.   | Resultados.....                                                                                                            | 32 |
| 4.1. | Resultado de presença ou ausência de <i>Salmonella</i> spp por ponto de coleta.....                                        | 32 |
| 4.2. | Identificação da ocorrência de Coliformes.....                                                                             | 32 |
| 4.3. | Quantificação de coliformes totais.....                                                                                    | 34 |
| 4.4. | Quantificação de coliformes termotolerantes e <i>Escherichia coli</i> .....                                                | 34 |
| 4.5. | Comparação da conformidade dos resultados obtidos com os padrões microbiológicos estabelecidos pelas normas nacionais..... | 35 |
| 4.6. | Variáveis ambientais.....                                                                                                  | 36 |
| 5.   | Discussão.....                                                                                                             | 37 |
| 6.   | Conclusão.....                                                                                                             | 40 |
| 7.   | Recomendações.....                                                                                                         | 41 |
| 8.   | Referências Bibliográficas.....                                                                                            | 42 |
| 9.   | Anexos.....                                                                                                                | 47 |

## Capítulo I

### 1. Introdução

Os ecossistemas costeiros são caracterizados por ser ambientes bastante delicados e vulneráveis, pois estão sujeitos a mudanças significativas devido à pressão antrópica (Pereira., 2003). Uma das consequências é a poluição nos estuários que pode causar impactos capazes de degradar o ambiente, afectando a fauna, a flora, o cotidiano da população e a economia da região (Elias, 2018). Essa contaminação gera graves problemas para a saúde pública e riscos relacionados ao consumo de organismos aquáticos, como bivalves (Evangelista *et al.*, 2008).

Moluscos bivalves são seres vivos cujos corpos estão protegidos por uma concha composta por duas partes, conhecidas como valvas. Essa característica é a razão pela qual esses moluscos recebem o nome de bivalves, já que sua concha é formada por duas valvas (Souza *et al.*, 2020).

Os moluscos bivalves, como ostras e amêijoas, são os organismos marinhos que apresentam os maiores riscos à saúde pública em ambientes contaminados por microrganismos, isso se deve ao seu papel como filtradores e bioacumuladores, características que os tornam particularmente perigosos para a saúde (Barros *et al.*, 2005). Por essa razão, os bivalves são amplamente utilizados em todo o mundo como indicadores de poluição marinha e, especificamente, de poluição fecal (Evangelista *et al.*, 2008).

Os microrganismos frequentemente utilizados como indicadores de contaminação pertencem ao grupo dos coliformes, que são organismos que pertencem ao grupo das enterobactérias e se desenvolvem no trato gastrointestinal de animais de sangue quente, assim, a sua presença no ambiente e em organismos cultivados é um sinal de contaminação fecal. Por outro lado, os coliformes termotolerantes são patógenos frequentemente empregues para monitorar a qualidade microbiológica da água, visando detectar a contaminação fecal (Nuernberg *et al.*, 2001, Pigozzo, 2010).

Nos anos recentes, uma variedade de bactérias, vírus, protozoários e helmintos foram relacionadas a vários surtos de doenças transmitidas por água e alimentos, resultando em negativos efeitos na saúde pública, incluindo aumento da morbidade, mortalidade e despesas económicas (Barbosa *et al.*, 2009).

A avaliação microbiológica das amêijoas indica a qualidade do ambiente aquático, uma vez que esses organismos podem acumular vários patógenos (Pereira *et al.*, 2007).

Os moluscos bivalves, predominantes no estuário dos Bons sinais, são as Amêijoas, sendo as seguintes espécies: *Meretrix meretrix*, *Tapes literatus*, *Macoma littoralis* e *Macta lilácea*, sendo

frequentemente comercializados nos mercados informais tais como: Mercado Icidua, Fai, Chuabo dembe, Irrecamba e outra parte exportada para Asia (Mugadui, 2018).

Apesar da relevância do estuário para a subsistência das comunidades locais, observa-se uma escassez de estudos microbiológicos focados nos moluscos bivalves da região. A ausência de dados específicos dificulta a avaliação precisa dos riscos à saúde pública associados ao consumo desses organismos. Diante desse cenário, o presente estudo visa avaliar a contaminação microbiológica do tecido intravalvar das amêijoas colectadas no Estuário dos Bons Sinais, com ênfase na presença de *Salmonella spp*, coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*. Contribuindo para a protecção da saúde pública e a segurança alimentar das comunidades locais.

### 1.1.Problematização

O crescimento da população intensifica a pressão humana sobre o meio ambiente, resultando em maior vulnerabilidade e degradação ambiental. Isso ocorre especialmente devido a falta de planeamento e a ocupação inadequada de áreas sensíveis e de conservação, como as regiões estuarinas (Cestari, 2014).

A poluição nos estuários urbanos resulta da confluência de múltiplas fontes antropogénicas, destacando-se a descarga de efluentes domésticos sem tratamento, a acumulação de resíduos sólidos, o fecalismo a céu aberto e os derrames de hidrocarbonetos associados à actividade portuária (Marine Pollution Bulletin, 2024). A contaminação de organismos marinhos que se alimentam de forma filtradora, como os moluscos bivalves, pode não afectar directamente esses animais, mas pode provocar intoxicações agudas em seres humanos (Burri e Vale, 2006).

A actividade de colecta de Amêijoas no estuário dos Bons sinais é complementar a fonte da renda familiar para as comunidades locais, contribuindo para a economia local e de fonte de proteína (Mugadui, 2018).

Apesar desse ecossistema, ser de grande importância ecológica e económica, tem sido alvo de poluição contínua. Segundo Chacate, (2019), na zona costeira do bairro dos Pescadores, observa-se a deposição de resíduos sólidos pela população local, assim como a prática de fecalismo a céu aberto nas imediações do estuário dos Bons Sinais. Devido ao carácter dinâmico deste ambiente, marcado pelas marés e pelas enxurradas, estes dejectos acabam por ser arrastados para o interior do estuário, contribuindo para a sua contaminação (Ibidem).

A ausência de estudos sobre a ocorrência e os níveis de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e *Salmonella spp* nas amêijoas colectadas no estuário dos Bons Sinais impede uma avaliação adequada dos riscos sanitários e dificulta a aplicação de medidas de gestão e regulação.

Dai que surge a Pergunta de pesquisa: **Até que ponto as amêijoas colectadas no estuário de bons sinais estão contaminadas em relação a coliformes totais, termotolerantes, *Escherichia coli* e *Salmonella spp*?**

## 1.2. Justificativa

O estuário dos bons sinais, é um dos ecossistemas de maior valor ecológico e económico do país. A maioria das famílias que vivem ao longo deste estuário, (49,1%) tem a pesca como sua principal actividade económica. Em seguida, destaca-se a agricultura (18,3%) e o comércio (10,1%). A exploração do mangal e a pecuária representam, respetivamente, 5,9% e 1,2%, enquanto outras actividades incluem opções como transporte por bicicleta, artesanato e emprego formal (Mabote, 2021).

Este estuário tem sido alvo de vários estudos científicos, desde estudos de cadeia produtiva dos bivalves, análise química dos efluentes, entre outros. Mas estudos relacionados com a análise microbiológica de moluscos Bivalves, são escassos ou inexistentes.

A análise das fontes e dos diferentes tipos de contaminação fecal, juntamente com um monitoramento microbiológico que utiliza microrganismos indicadores, possibilita uma avaliação do risco de presença de potenciais patógenos alimentares (Anon, 2017).

O presente estudo, além de contribuir com o conhecimento científico, de até que ponto os efluentes não tratados, e as diversas formas de poluição fecal, podem impactar na microbiota dos moluscos bivalves, contribui também para a segurança da saúde pública, fornecendo dados referentes ao estado de contaminação das amêijoas e possíveis soluções para a redução da carga microbiana.

## 1.3. Hipóteses

**1ª Hipótese0:** As amêijoas colectadas no estuário dos Bons Sinais estão contaminadas por *Salmonella spp*, indicando potencial risco microbiológico para consumo humano. **Hipótese1:** As amêijoas colectadas no estuário dos Bons Sinais não estão contaminadas por *Salmonella spp*, não indicando potencial risco microbiológico para consumo humano.

**2ª Hipótese 0:** Os níveis de *Escherichia coli* nas amêijoas estão elevados e ultrapassam os limites máximos permissíveis para moluscos bivalves em Moçambique, reflectindo risco sanitário associado ao consumo destes moluscos. **Hipótese 1:** Os níveis de *Escherichia coli* nas amêijoas não estão elevados e não ultrapassam os limites máximos permissíveis para moluscos bivalves em Moçambique, não reflectindo risco sanitário associado ao consumo destes moluscos.

## **1.4.Objectivos**

### **1.4.1. Geral**

- Analisar os parâmetros Microbiológicos nas amêijoas colectados no Estuário dos Bons Sinas.

### **1.4.2. Específicos**

- Identificar a ocorrência dos microrganismos patogénicos (*Salmonella spp* coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*) em Amêijoas colectados no estuário dos bons sinais;
- Quantificar os coliformes totais, Coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* no tecido das Amêijoas;
- Comparar a conformidade dos resultados obtidos com os padrões microbiológicos estabelecidos pelas normas nacionais.

## Capítulo II

### 2. Revisão de literatura

#### 2.1. Caracterização da amêijoia *Meretix meretrix*

Os moluscos bivalves habitam ecossistemas aquáticos, desde a água doce até água salgada, refletindo diretamente as condições do ambiente que habitam. Esses organismos funcionam como bioindicadores de contaminação fecal de origem humana (Leal e Franco, 2008). Pois são seres filtradores capazes de acumular, principalmente em suas brânquias e intestino, substâncias e microrganismos encontrados na água (Vieira *et al.*, 2007).

#### 2.2. Taxonomia

**Reino:** Animália

**Filo:** Mollusca

**Classe:** Bivalvia

**Ordem:** Veneiroda

**Família:** Veneridae

**Gênero:** *Meretix*

**Subgênero:** *Autobrachia*

**Espécie:** *Meretix meretrix* (Linnaeus, 1758)



**Figura 1:** Amêijoia *Meretix meretrix*

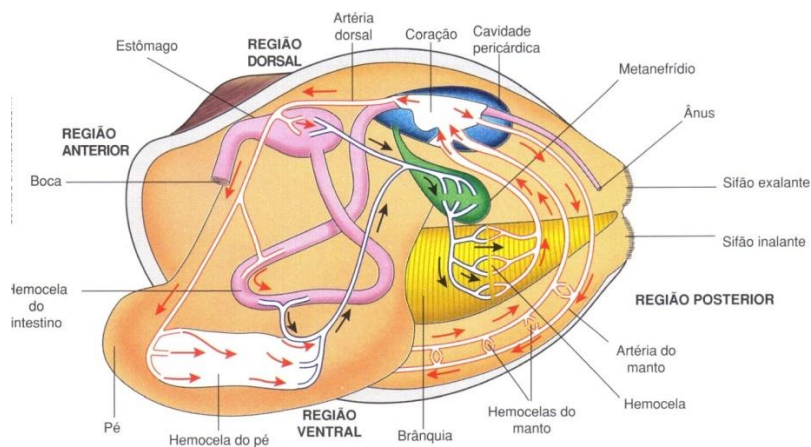
Fonte: <https://conchology.be/?t=34&u=1319799&q=99aa3d8d50bc75967b7acf4603b95676&q=9f02e4611832f62acd3cc4bbde7cb05c>

#### 2.3. Morfologia interna e externa

A morfologia interna dos bivalves é adaptada ao seu modo de vida sésil e filtrador. O corpo é protegido pelas duas valvas da concha e está envolvido pelo manto, que reveste a cavidade paleal (Blankensteyn, 2010). No interior encontram-se as brânquias, responsáveis pela respiração e filtração de partículas alimentares suspensas, que são conduzidas até à boca por meio de cílios (Gosling, 2015). O sistema digestivo inclui boca, esófago, estômago, glândula digestiva e intestino, terminando próximo do sifão exalante. O sistema circulatório é aberto, sendo a hemolinfa bombeada pelo coração, localizado na região dorsal, para as lacunas do corpo. O sistema excretor é composto pelos metanefrídios que eliminam os resíduos metabólicos. O sistema nervoso é relativamente simples, constituído por gânglios cerebróides, que coordenam as funções básicas.

Esta organização interna assegura a sobrevivência em ambientes aquáticos dinâmicos e permite a eficiente captação e utilização de recursos alimentares por filtração (Ibidem).

Quanto a morfologia externa, a amêijoia *Meretrix meretrix* apresenta uma concha robusta e espessa, composta por duas valvas equivalentes, unidas por um ligamento curto localizado na região dorsal. O umbo encontra-se na posição anterior, constituindo a parte mais saliente e antiga da concha. Próximo a esta região, observa-se um lúnulo pouco definido. A charneira é sólida e apresenta dentes cardinais bem desenvolvidos, que garantem a estabilidade entre as valvas. A superfície externa da concha é lisa, recoberta por um periostraco fino, de tonalidade castanho-acinzentada, podendo exibir faixas radiais ou manchas coloridas, que variam do azul ao castanho-azulado na zona pósterio-dorsal. O formato da concha varia de oval a triangular, com a extremidade posterior ligeiramente afilada. A face interna da concha é predominantemente branca, mas pode apresentar tonalidades arroxeadas ou rosadas ao longo das linhas radiais. No conjunto, a espécie distingue-se pela sua concha espessa, resistente e de padrões cromáticos variáveis (Sur *et al.*, 2006; Jasmin, 2019).



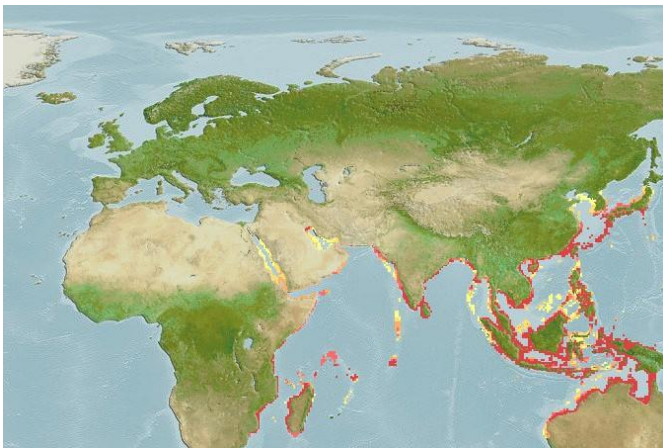
**Figura 2:** Morfologia de moluscos bivalves

Fonte: [https://blogger.googleusercontent.com/img/b/R29vZ2xl/AVvXsEjohBvS3gqxAmI4PMDBikW9lsquJIHaBWTM2QOg1hVFMrmfJkDYX25dGQbfqJBgmr9zurw-XAkgUstne-GRYrmNGFthgeR3Ag9G26ZafGjvIc7GEcFhZAOGGsr6jE4z\\_5vxDIAIXEvaOUa4/s1600/circula%25C3%25A7%25C3%25A3o+gastro.jpg](https://blogger.googleusercontent.com/img/b/R29vZ2xl/AVvXsEjohBvS3gqxAmI4PMDBikW9lsquJIHaBWTM2QOg1hVFMrmfJkDYX25dGQbfqJBgmr9zurw-XAkgUstne-GRYrmNGFthgeR3Ag9G26ZafGjvIc7GEcFhZAOGGsr6jE4z_5vxDIAIXEvaOUa4/s1600/circula%25C3%25A7%25C3%25A3o+gastro.jpg)

## 2.4. Distribuição geográfica e habitat

Geralmente a amêijoia *Meretrix meretrix* tende a preferir diferentes ambientes, incluindo praias de areia, estuários e planícies de maré (Srinun *et al.*, 2024). É encontrada principalmente em regiões costeiras do indo-pacífico. Ela possui ampla distribuição geográfica que inclui áreas do sudeste da Ásia, sul da Ásia, e partes do oceano Índico (Rimelahas *et al.*, 2022).

Em Moçambique, *Meretrix meretrix* é encontrada em zonas costeiras rasas, pradarias marinhas e estuários, sendo apontada como recurso explorado artesanalmente em várias comunidades locais. Trabalhos no estuário dos bons sinais confirmam a sua abundância, estudos complementares documentam a sua utilização como bioindicador da qualidade ambiental (Pereira, 2014; Mugadui, 2018; Macaringue, 2024).



**Figura 3:** Mapas de distribuição gerados por computador para *Meretrix meretrix* (marisco duro asiático), com mapa de alcance nativo modelado para o ano 2050 com base no cenário de emissões RCP8.5doIPCC.

**Fonte:** (AquaMaps, 2019)

## 2.5.Importância económica e Nutricional

Os moluscos bivalves, tem grande importância económica, principalmente para as comunidades costeiras, pois a colecta desses animais, muita das vezes constitui ou complementa a principal fonte de renda familiar (Araújo *et al.*, 2009), desempenham grande importância na dieta humana, por possuírem alto valor nutricional, por ser fonte de nutrientes essenciais, O molusco *Meretrix meretrix* é uma fonte de alimento acessível e rica em proteínas, especialmente para as comunidades que vivem ao longo da costa. Ele possui propriedades importantes, como alto teor proteico, baixo valor calórico, pouca gordura e colesterol, além de apresentar níveis menores de gordura saturada, contem uma quantidade relevante de ácidos graxos ômega-3, vitamina B12 e diversos minerais essenciais, tornando-se uma excelente opção alimentar (Joydeb Chowdhury, 2019).

## **2.6.Doenças transmitidas por alimentos**

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) correspondem a quadros clínicos que podem incluir diminuição de apetite, náuseas, vômitos e/ou diarreia, com ou sem febre, não se limitando a sinais exclusivamente gastrointestinais, pois também podem manifestar-se fora do aparelho digestivo. Essas doenças resultam da ingestão de alimentos ou água contaminadas e podem ser desencadeadas por agentes físicos, químicos e biológicos. Este ultimo grupo compreendendo parasitas, vírus e em particular, bactérias que atuam directamente ou através de produção de toxinas (Melo et al., 2018). Autores como (Silva *et al.*, 2023) afirmam que a salmonella e *Escherichia coli* fazem parte dos principais agentes etiológicos causadores de DTAs.

## **2.7.Bactérias patogénicas em alimentos**

As bactérias patogénicas em alimentos são microrganismos capazes de provocar doenças em hospedeiros humanos, animais ou vegetais, através de diferentes mecanismos, como a produção de toxinas, a invasão de tecidos ou a evasão das defesas imunitárias. Segundo (Tortora *et al.*, 2017), estas bactérias distinguem-se das espécies comensais ou benéficas por possuírem factores de virulência que lhes permitem colonizar, multiplicar-se e causar danos no organismo. Franco e Landgraf (2023) acrescentam que muitas bactérias patogénicas de interesse alimentar, como *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* patogénica e *Vibrio cholerae*, são transmitidas principalmente por alimentos e água contaminados, representando um risco relevante para a saúde pública.

### **2.7.1. Salmonella spp**

Salmonela é um género de bacilos gram-negativos, anaeróbios facultativos, pertencente a família enterobacteriaceae. São mobilizados por flagelos peritriquios na maioria dos serotipos e não formam esporos. O género inclui duas espécies reconhecidas classicamente, *Salmonella entérica* e *Salmonella bongori*; A *Salmonella entérica* é subdividida em seis subespécies e mais de 2500 serotipos serovares baseados na estrutura do antígeno O (somático) e H (flagelar), muitos serovares de importância clínica humana pertencem a *Salmonella entérica* subespécie entérica como por exemplo a *Salmonella typhimurium* e *Salmonella entereditis* (World Health Organization, n.d). A *Salmonella spp* é uma bactéria intestinal que provoca intoxicações alimentares severas, sendo um dos principais causadores de surtos em diversos países. A contaminação por essa bactéria nos alimentos representa um importante problema a saúde pública (Shinohara *et al.*, 2008).

### **2.7.2. Coliformes totais**

As bactérias do grupo coliforme total, pertencem a família enterobacteriaceae, que inclui bacilos gram-negativos, não esporulados, aeróbios facultativos capazes de fermentar lactose e produzir gás

a 35-37°C por 48 horas, esse grupo engloba aproximadamente 20 espécies, originados tanto no trato gastrointestinal de humanos quanto de outros animais de sangue quente (Franco e Landgraf, 2023).

### **2.7.3. Coliforme termotolerantes**

Os coliformes termotolerantes constituem um subgrupo dos coliformes totais, com a particularidade de apresentarem capacidade de fermentar lactose com produção de gás a temperatura entre 44°C e 45,5°C num período de 24 horas. Esta característica permite distingui-los dos coliformes totais, uma vez que apenas bactérias adaptadas a condições mais elevadas de temperatura conseguem expressar esta actividade metabólica. Os principais géneros que integram este grupo são *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Citrobacter*, dos quais a *Escherichia coli* assume especial relevância, pois é considerada um indicador mais específico de contaminação fecal recente (Franco & Landgraf, 2023).

### **2.7.4 Escherichia coli**

A bactéria *Escherichia coli* é um bacilo Gram-negativo, geralmente de forma de bastonete curto, facultativo anaeróbio e integrante do grupo das bactérias coliformes. Do ponto de vista fenotípico, apresenta-se como catalase-positiva e oxidase negativa, fermenta lactose, não produz esporos e tende a ser móvel por acção dos flagelos. Cresce preferencialmente cerca de 44°C e é abundante nas fezes humanas e de animais, representando aproximadamente 95% dos coliformes fecais, por isso, encontra-se principalmente em águas residuais, efluentes, águas naturais e solos recentemente contaminados por material fecal (Bettencourt, 2011). Embora nem todas as cepas sejam patogénicas algumas produzem enterotoxinas que podem levar a diarreia, ocasionando doenças alimentares sérias (Oliveira *et al.*, 2015). Além disso, essa bactéria desempenha um papel importante como indicador de contaminação, sendo usada, por exemplo, para verificar impurezas na água (Mendonça, 2014).

## **2.8.Legislação Moçambicana sobre Controlos e Requisitos Higiénico-sanitários para Moluscos Bivalves Vivos e Processados**

Para a salmonella os critérios de análises e testes e diagnósticos laboratoriais no âmbito dos controlos oficiais nos termos do artigo 59 do regulamento para o controle higio-sanitarios dos produtos de pesca são definidos através do aviso no 001/Inspeção Pescado, IP/2025 para o qual, diferentes categorias de alimentos, incluindo moluscos bivalves:

- i) *Satisfatória* - se todos os valores observados indicarem a ausência da bactéria, e
- ii) *Não satisfatória* - se for detectada a presença da bactéria em qualquer unidade da amostra. Ela deve ser ausente em 25g da amostra (Imprensa nacional de Moçambique, E.P, 2025).

Para a *Escherichia coli*. de acordo com o Anexo Único do Ministério das Pescas de 2011, que estabelece os controlos e requisitos higiénico-sanitários para moluscos bivalves vivos e processados, as zonas de colheita são classificadas em três categorias com base no seu nível de contaminação fecal. O Artigo 5 do mesmo regulamento classifica as zonas de produção em:

- i) *Zonas de classe A*: Os moluscos bivalves vivos provenientes dessas zonas, podem ser colhidos para o consumo humano directo, pois cumprem as regras sanitárias aplicáveis aos moluscos bivalves vivos fixados na secção IV, capítulo III do regulamento vigente. O limite máximo permissível para esta zona é 230 NMP/100g (Imprensa nacional de Moçambique, E.P, 2025).
- ii) *Zonas de classe B*: Os moluscos bivalves colectados nessa zona, só podem ser colocados no mercado para o consumo humano, após tratamento num centro de depuração ou após afinação, de modo a cumprir com as regras sanitárias, pois os moluscos bivalves vivos provenientes dessa zona, não devem exceder os limites, baseados num teste do numero mais provável (NMP) de 5 tubos e 3 diluições de 46000 *E.coli* por 100 gramas de carne e liquido intravalvar
- iii) *Zona de classe C*: Os Moluscos bivalves provenientes dessa zona, só podem ser colocados no mercado para o consumo humano após afinação durante um longo período. De modo a cumprir com as regras sanitárias. Os moluscos bivalves vivos colectados nessas zonas não podem exceder o limite, baseado num teste de número mais provável (NMP) de 5 tubos e 3 diluições, de 46000 *E. coli* por 100 gramas de carne e liquido intravalvar (Ministério das Pescas, 2011).

## 2.9.Técnica para redução de microrganismos nos moluscos bivalves

Em situações em que os moluscos bivalves apresentam elevadas concentrações de microrganismos, podem ser aplicadas técnicas específicas para reduzir a carga microbiana no seu interior, destacando-se a depuração e a afinação.

- i) *Depuração*- consiste em manter moluscos em tanques com água limpa, permitindo que filtrem e realizem o seu comportamento natural durante tempo suficiente para expulsarem, juntamente com o conteúdo intestinal, os microrganismos patogénicos que possam ter sido ingeridos nas explorações marinhas ou nos bancos naturais (Souza *et al.*, 2021). É uma técnica aplicada em várias regiões do mundo com o objectivo de remover contaminantes microbianos de bivalves com níveis leves a moderados de contaminação. Este processo consiste em manter os moluscos bivalves vivos em tanques contendo água do mar limpa, permitindo que realizem a sua actividade normal de filtração durante um período que pode variar de algumas horas a vários dias. A depuração é, na maioria dos casos, realizada por imposição de legislação regional, nacional ou local. No entanto, pode igualmente ser implementada por iniciativa da própria indústria, quer como forma de proteger os consumidores, quer para demonstrar responsabilidade

e cumprimento das boas práticas, ou ainda para atender aos requisitos legais de outros países e, assim, possibilitar a exportação. (FAO,2008)

- ii) *Afinação*- consiste na transferência de moluscos bivalves de zonas com influência poluída para águas mais limpas, onde permanecem durante um período determinado, permitindo a redução da carga microbiana antes da sua comercialização. Esta prática, complementar à depuração, tem sido amplamente descrita em diferentes contextos como medida eficaz para garantir a qualidade sanitária dos bivalves (Pereira, 2021). Em Moçambique, o Diploma Ministerial n.º 200/2011, do Ministério das Pescas, estabelece os requisitos higiénico-sanitários aplicáveis a moluscos bivalves vivos e processados, prevendo que exemplares capturados em zonas classificadas como Categoria B ou C devem ser submetidos a tratamentos de purificação, nos quais se pode incluir a afinação, antes de serem considerados aptos para consumo humano (Ministério das Pescas, 2011).

## Capítulo III

### 3. Metodologia

#### 3.1. Área de estudo

O Estuário dos Bons Sinais está situado na região central de Moçambique, na costa leste da África, entre as latitudes 17°54' e 18°01' Sul e as longitudes 36°49' e 36°58' Este. Com cerca de 30 km de extensão, ele se estende desde a confluência dos rios Cuacua e Licuari até sua foz, que desagua no Oceano Índico, no Banco de Sofala (Cafermane, 2021).

Este estuário tem uma profundidade média de aproximadamente 14 metros, com um comprimento de 30 km e uma largura média de 2 km, totalizando uma área de 60 km<sup>2</sup>. É considerado que a área da seção transversal diminui exponencialmente a partir da foz, onde é cerca de 10.000 m<sup>2</sup>, até a confluência, onde atinge cerca de 3.000 m<sup>2</sup> (Magestade, 2021).

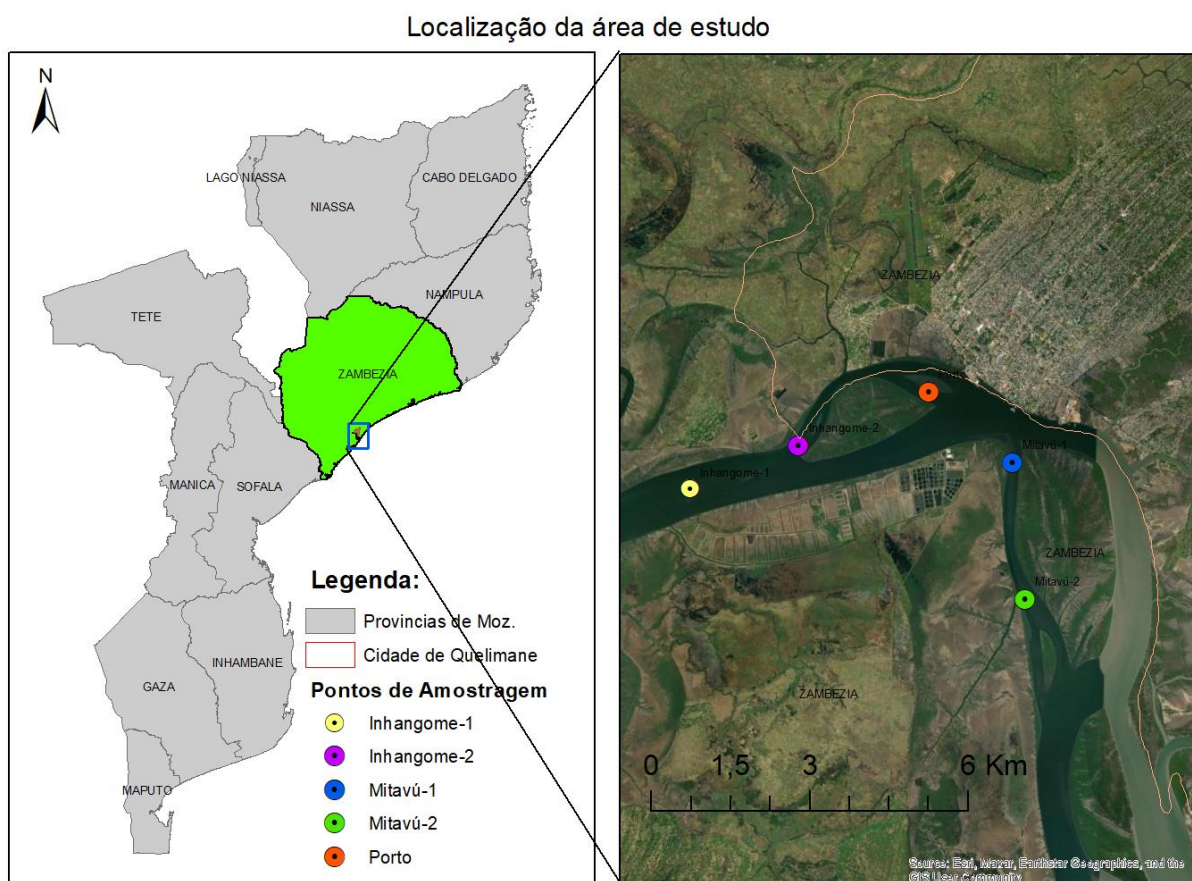


Figura 4: localização do estuário de bons sinais e principais bancos de coleta de moluscos Bivalves

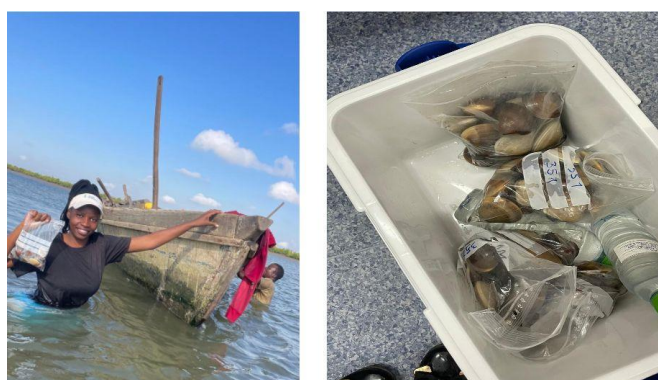
Fonte: Autora

Tabela 1: Coordenadas dos pontos de coleta das amostras.

| Pontos de coleta | Coordenadas             |
|------------------|-------------------------|
| Inhangome 1      | 17°53'57"S 36°49'47"E   |
| Inhangome 2      | 17°53'29 "S 36°50 '56"E |
| Porto            | 17°52'55"S 36°52'19"E   |
| Mitavú 1         | 17°53 '37"S 36°53'14 "E |
| Mitavú 2         | 17°55 '01 "S 36°53'24"E |

### 3.2.Amostragem

A coleta das amostras foi realizada em Agosto de 2025, na fase lunar gibosa crescente e durante a baixa-mar de maré de quadratura. Foram colectadas cinco amostras de amêijoas correspondendo a um total de 150 indivíduos (30 por amostra). Para o estudo foram definidos cinco pontos de amostragem situados a montante do estuário, representando os três principais bancos de colecta de amêijoas: Inhangome, Mitavú e Porto (Figura 4). No Banco de Inhangome foram obtidas duas amostras, no Banco de Mitavú duas amostras e no Banco de Porto uma amostra. Os indivíduos foram colectados manualmente, lavados com a própria água do estuário para remoção de sedimentos superficiais, acondicionados em sacos esterilizados devidamente etiquetados e transportados em caixa térmica até ao Laboratório de Microbiologia do Instituto Nacional de Inspeção de Pescado, em Quelimane.



**Figura 5:** Obtenção das amostras

### 3.3.Identificação da ocorrência dos microrganismos patogénicos (*Salmonella spp* coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*) no tecido das Amêijoas colectados no estuário dos bons sinais

As análises microbiológicas foram realizadas no tecido intravalvar das amêijoas, para cada amostra colectada, de acordo com os métodos estabelecidos pela norma NMKL 71,96 (1999; 2009),

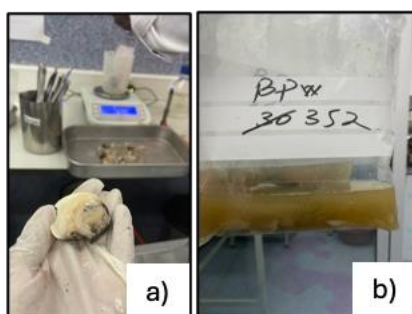
considerada equivalente aos procedimentos definidos pela Organização Internacional de Normalização (ISO).

### 3.3.1. Detecção de Salmonela

A detecção de *Salmonella spp.* Foi realizada de acordo com o **método NMKL 71 (1999)**, com as seguintes etapas: 1 preparo das amostras e pré-enriquecimento, 2 enriquecimento, 4 isolamento em meios sólidos, e 5 confirmação bioquímica.

#### *Etapa 1: Preparo da amostra e pré-enriquecimento*

Para cada local e evento de colecta contendo 30 indivíduos, na bandeja estéril de inox, foram triturados cerca de 20 indivíduos, na bolsa stomacher estéril, pesaram-se 25g do conteúdo intravalvar das amêijoas, adicionaram-se 225ml de meio de cultura de pré-enriquecimento Buffered peptone water (BPW) e levou-se ao stomacher a 230 RMP por 30 segundos para homogeneizar e obteve-se a diluição  $10^{-1}$ , e incubou-se na estufa a  $37 \pm 1$  por 48h. Este pré enriquecimento, foi feito com o objectivo de recuperar células lesionadas e permitir a multiplicação inicial do microrganismo.



**Figura 6:** Processamento das amostras Para detecção de Salmonella

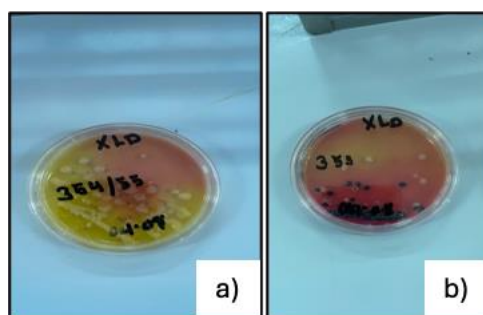
*Etapa 2: enriquecimento selectivo* - Após o pré-enriquecimento, procedeu-se ao enriquecimento selectivo em caldo Rappaport Vassiliads, de modo a favorecer o crescimento de *Salmonella spp.* em detrimento de outros microrganismos competidores. Onde 1 ml das diluições anteriores, foram transferidas para tubos contendo 10 ml de caldo de enriquecimento selectivo RVS e foram incubados a  $42 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 24h em banho-maria.



**Figura 7:** Rappaport Vassiliads

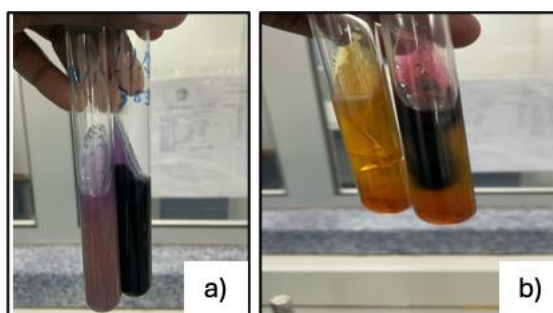
**Etapa 3: Isolamento em meio sólido e selectivo:** Usando uma ansa, foi transferida uma gota da alíquota do caldo selectivo de enriquecimento RVS, e foi inoculado na superfície das placas ágar selectivo *Xylose lysine desoxycholate (XLD)* fazendo sementeira em forma de estrias, queimou-se a ansa sempre que mudou-se de sentido para obter-se colónias isoladas, de seguida foram incubadas as placas invertidas a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 24h na estufa, Permitindo a observação das colónias presumivelmente pertencentes ao género *Salmonella*.

As colónias típicas de *Salmonella* no XLD tem uma zona ligeiramente transparente de cor avermelhada devido a mudança do indicador no meio e com um centro negro, especialmente em caso de crescimento intenso de *Salmonella*, uma cor rosa vermelha de menor ou maior dimensão é vista no meio circundante das colónias



**Figura 8:** Leitura das colónias presuntivas no XLD a) Ausente b) presuntivo presente

1. **Etapa 4: confirmação bioquímica:** As colónias presuntivas típicas de *Salmonella* foram confirmadas por testes bioquímicos *Triple sugar iron (TSI)* e *Lysine Iron Ágar (LIA)* Colheram-se da placa as colónias típicas ou presuntivas, fez-se sementeira da mesma num meio não selectivo e incubaram-se as placas a  $37.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$  durante 24 horas, depois fez-se a inoculação nos testes bioquímicos para a confirmação da presença de *Salmonella spp.* De acordo com os resultados, foi declarada presença ou ausência de salmonela em 25 g de amostra.



**Figura 9:** Confirmação bioquímica a) LIA b) TSI

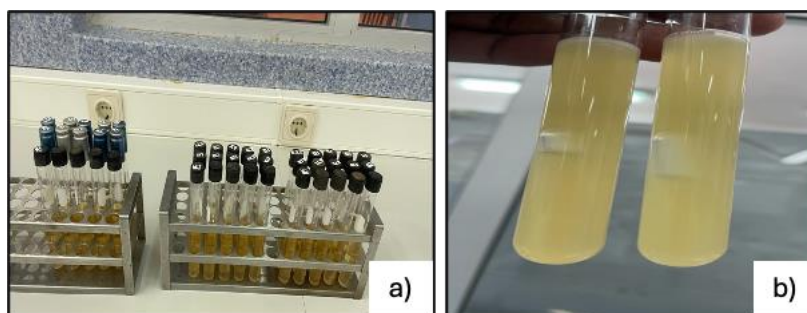
### 3.3.2. Identificação de coliformes

Para a identificação de coliformes nas amostras de amêijoas, usou-se a norma NMKL 96 (2009) seguiu-se um procedimento analítico em duas etapas. A primeira etapa consistiu na preparação da amostra e diluições, juntamente com a realização do teste presuntivo para a identificação da presença de coliformes. A segunda etapa envolveu a preparação de meios de cultura adicionais para a identificação dos restantes grupos de coliformes, a partir dos tubos que se mostraram positivos na primeira etapa:

#### **Etapas 1- Confirmação da presença de coliformes**

Para a identificação dos coliformes nas amostras das amêijoas, seguiu-se um procedimento analítico que envolveu quatro etapas nomeadamente i) preparação da água peptonada ii) preparação da amostra (diluição mãe), iii) e a realização de diluições seriadas, e o teste presuntivo:

- i) *Preparação da água peptonada (AP):* com auxílio de proveta graduada, mediu-se 1000 ml de água destilada, na balança pesou-se 1,0g de peptone + 8,5 g de NaCl e adicionou-se todos os componentes no Erlenmeyer, colocou-se o agitador Magnético e levou-se ao fogão. A água peptonada serve como um diluente para as amostras e um meio de pré-enriquecimento.
- ii) *Preparação da amostra e diluição mãe:* para cada amostra fez-se a limpeza e abertura asséptica das amêijoas, a retirada de 10 gramas do tecido intravalvar e a sua colocação numa bolsa estéril. Em seguida, adicionaram-se 90 ml de Água Peptonada (AP) para criar a diluição mãe  $10^{-1}$ . A mistura foi em seguida homogeneizada num Stomacher a 230 RPM por 30 segundos, assegurando que os microrganismos estivessem distribuídos uniformemente.
- iii) *Realização de diluições seriadas:* A partir da diluição mãe, foram feitas duas diluições seriadas de  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , transferindo 1 ml da diluição anterior a 9ml de Ap em tubos de ensaio e agitou-se no Vortex formando assim a diluição  $10^{-2}$ , o mesmo processo foi feito para realizar a diluição  $10^{-3}$ .
- iv) **O teste presuntivo** - foi aplicado para a identificação de coliformes. Para o efeito utilizou-se o meio de cultura Lauryl Sulfate Broth (LSB) para indicar a provável presença desses microrganismos. Para o teste, a amostra foi inoculada em três séries de cinco tubos de ensaio, cada série correspondente a uma diluição ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ), totalizando 15 tubos por amostra (figura 10). Após a introdução de 1 ml da diluição em cada tubo, a mistura foi incubada a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  por  $48 \pm 4$  horas. O resultado foi considerado presuntivo positivo quando a produção de gás preenche completamente a parte côncava do tubo de Durham e presença de turvação, o que sugere a fermentação da lactose pelos coliformes (figura 11).

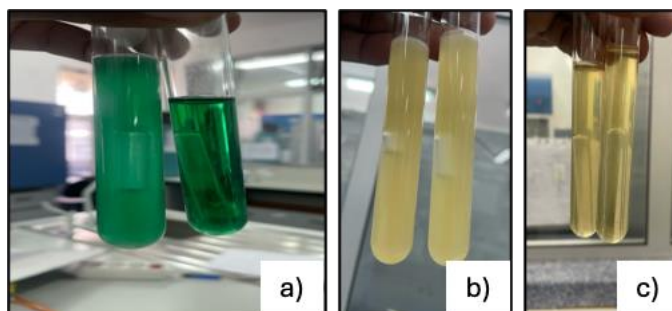


**Figura10:** Lauril sulfate broth antes de incubar,

**Figura 11:** Lauril sulphat broth presuntivo positiva.

## **Etapas 2 – Confirmação da categoria dos coliformes (totais, termotolerantes, *E. coli*)**

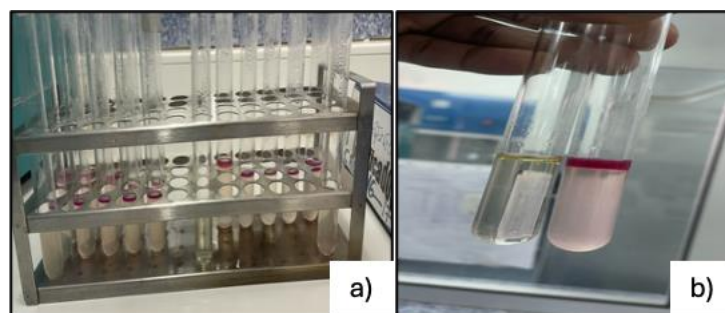
- i) *Coliformes totais* - Para o teste de confirmação de coliformes totais, transferiu-se dos tubos positivos de LSB 1 a 5 gotas do inoculo, para tubos contendo 10 ml de Brilliant Green bile broth (BGB), depois incubou-se a  $37.0^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , durante  $48 \pm 4$  horas. Todos os tubos que a parte côncava do tubo de Durham estiveram preenchidos com gás indicaram teste positivo indicando a presença de coliformes totais (figura 12).
- ii) *Coliformes termotolerantes* - Para o teste de confirmação dos coliformes termotolerantes realizou-se o procedimento anterior descrito, porem, usou-se (ECB), os tubos foram incubados a  $44^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  durante  $24 \pm 3$  horas, a presença de termotolerantes positivos foi indicada pela presença de turvação e gás em toda parte côncava do tubo de Durham. (figura 13).



**Figura 9:** Brilliant Green bile.

**Figura 10:** Ec broth

*Confirmação de Escherichia coli* - Para a confirmação de *E.coli* nos tubos positivos no EC Broth, agitou-se os tubos e transferiu-se 1 a 5 gotas para os tubos contendo Caldo triptone, através de uma pipeta, depois incubou-se a  $44^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  durante  $24 \pm 3$  horas e, posteriormente, adicionou-se 0.3-0.5ml de reagente Kovac's (Indol), a presença de um anel vermelho na superfície do caldo dentro de 10 minutos, confirma-se a presença de *E.coli*.



**Figura 11:** Triptone

### 3.4.Quantificação dos coliformes totais, Coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* no tecido das Amêijoas

Para coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli* usou-se a tabela de número mais provável (NMP) com 95% de nível de confiança, tendo em conta o número de tubos positivos em cada diluição para a expressão de resultados.

### 3.5.Comparação da conformidade dos resultados obtidos com os padrões microbiológicos estabelecidos pelas normas nacionais

Foi elaborado um quadro de decisão para classificar as categorias de cada ponto de colecta e o nível de aptidão para o consumo das amêijoas colectadas, de acordo com a combinação dos dois parâmetros microbiológicos: *E.coli* e *Salmonella* tendo como base as legislações nacionais.

Com base na aplicação da tabela de decisão, cada ponto de amostragem foi classificado quanto à sua aptidão para consumo humano. A análise permitiu verificar se as amêijoas poderiam ser consumidas directamente, se necessitariam de depuração ou afinação, ou se eram impróprias devido à presença de *Salmonella spp.*.

Os resultados obtidos pela técnica do NMP foram inicialmente expressos em NMP/g. Para efeito de comparação com os limites estabelecidos pela legislação moçambicana, os valores foram convertidos para NMP/100 g, multiplicando-se o resultado por um factor de 100

**Tabela 2:** Comparação de conformidade:

| <i>E.coli</i><br>(Categoria) | Salmonella spp |         |
|------------------------------|----------------|---------|
|                              | Presente       | Ausente |
| A                            | Red            | Green   |
| B                            | Red            | Yellow  |
| C                            | Red            | Orange  |

| Legenda: |                                                                                   | Categoria               |                                                                                   |                                                 |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Apto:    |  | Aptos após a depuração: |  | A-- $\leq$ 230 B- $\leq$ 46000 C-- $\geq$ 46000 |
| Inapto:  |  | Apto após a Afinação:   |  |                                                 |

### 3.6.Variáveis ambientais

Em cada ponto em que foram colectadas as amêijoas, foi medida a temperatura com auxílio do termómetro, foi medida a salinidade com auxílio de espectrofotómetro ótico e foi medido o PH com auxílio de phmetro.

### 3.7.Análise de dados

Os resultados foram registados e organizados no Microsoft Excel, utilizado para tabulação e elaboração de tabelas e gráficos. Posteriormente, os dados foram exportados em formato CSV e analisados no programa R-Studio. Para a hipótese referente a ocorrência de *Salmonella spp.* Aplicou-se o teste binominal (95% de confiança), enquanto para os valores de *Escherichia coli* utilizou-se o teste t de Student (95% de confiança). Os dados das variáveis ambientais (pH, salinidade e temperatura) foram avaliados através de estatística descritiva de medidas de tendência central.

## CAPÍTULO IV

### 4. Resultados

#### 4.1. Resultado de presença ou ausência de *Salmonella* spp por ponto de coleta

A tabela ilustra que, dos cinco pontos de amostragem analisados no estuário dos Bons Sinais, apenas o ponto Inhangome 1 (I1) apresentou resultado positivo para a presença de *Salmonella* spp em 25 g de amostra, correspondendo 20% de todas as amostras enquanto os restantes (Inhangome 2, Porto, Mitavú 1 e Mitavú 2) não revelaram contaminação. Este resultado indica que a ocorrência de *Salmonella* não é generalizada no estuário, mas sim localizada, possivelmente associada a fontes pontuais de poluição fecal próximas a esse ponto. Apesar de ter sido detectada apenas numa amostra, a presença deste patógeno representa um risco sanitário significativo, pois a legislação exige a sua ausência total. Assim, o consumo de amêijoas provenientes deste local constitui um perigo para a saúde pública.

**Tabela 3:** Presença ou ausência de *Salmonella* em cada ponto de colecta

| Ponto de colecta | <i>Salmonella</i> /25g |
|------------------|------------------------|
| Inhangome 1      | Presente               |
| Inhangome 2      | Ausente                |
| Porto            | Ausente                |
| Mitavu1          | Ausente                |
| Mitavu2          | Ausente                |

#### 4.2. Identificação da ocorrência de Coliformes

As análises microbiológicas nas amêijoas colectadas nos cinco pontos de amostragem do estuário dos Bons Sinais evidenciaram a presença generalizada de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em todas as amostras analisadas. Onde, no ponto de colecta Inhangome 1, na primeira diluição os cinco tubos testaram positivos para a presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* na segunda diluição nenhum tubo testou positivo para todas as categorias e na terceira diluição apenas um tubo testou positivo para coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*;

No ponto Inhangome 2, na primeira diluição os 5 tubos testaram positivos para a presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* na segunda diluição 5 tubos testaram positivo para todas as categorias e na terceira diluição apenas um tubo testou positivo para coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*;

No ponto Porto, na primeira diluição os 5 tubos testaram positivos para a presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* na segunda diluição 5 tubos testaram positivo

para todas as categorias e na terceira diluição apenas um tubo testou positivo para coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*;

No ponto Mitavu 1, na primeira diluição os cinco tubos testaram positivos para a presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* na segunda diluição 2 tubos testaram positivo para a presença de coliformes totais, 1 tubo testou positivo para coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* e na terceira diluição apenas um tubo testou positivo para coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*;

No ponto Mitavu 2, na primeira diluição 4 tubos testaram positivos para a presença de coliformes totais, 1 tubo testou positivo para coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* na segunda diluição 1 tubo testou positivo para a presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, na terceira diluição nenhum tubo testou positivo para coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli*.

**Tabela 4:** Resultados de testes positivos presuntivos a confirmativos

| Amostra | Parâmetro | Número de tubos e diluições |       |       | Resultados |
|---------|-----------|-----------------------------|-------|-------|------------|
|         |           | -1                          | -2    | -3    |            |
| I1      | LSB       | +++++                       | ----- | +---- | 5-0-1      |
|         | BGB       | +++++                       | ----- | +---- | 5-0-1      |
|         | ECB       | +++++                       | ----- | +     | 5-0-1      |
|         | Indol     | +++++                       | ----- | +     | 5-0-1      |
| I2      | LSB       | +++++                       | +++++ | +---- | 5-5-1      |
|         | BGB       | +++++                       | +++++ | +---- | 5-5-1      |
|         | ECB       | +++++                       | +++++ | +---- | 5-5-1      |
|         | Indol     | +++++                       | +++++ | +---- | 5-5-1      |
| P       | LSB       | +++++                       | +++++ | +---- | 5-5-1      |
|         | BGB       | +++++                       | +++++ | +---- | 5-5-1      |
|         | ECB       | +++++                       | +++++ | +---- | 5-5-1      |
|         | Indol     | +++++                       | +++++ | +---- | 5-5-1      |
| M1      | LSB       | +++++                       | ++--- | ----- | 5-2-0      |
|         | BGB       | +++++                       | ++--- | ----- | 5-2-0      |
|         | ECB       | +++++                       | +---- | ----  | 5-1-0      |
|         | Indol     | +++++                       | +---- | ----  | 5-1-0      |
| M2      | LSB       | ++++-                       | +---- | ----- | 4-1-0      |
|         | BGB       | ++++-                       | +---- | ----- | 4-1-0      |
|         | ECB       | +----                       | +---- | ----- | 1-1-0      |
|         | Indol     | +----                       | +---- | ----- | 1-1-0      |

#### 4.3.Quantificação de coliformes totais

O gráfico apresenta as contagens de coliformes totais nos cinco pontos de amostragem analisados. O valor mais baixo foi registado em Mitavú 2 (17 NMP/g), seguido de Inhangome 1 (31 NMP/g) e Mitavú 1 (49 NMP/g). Já os valores mais elevados ocorreram em Inhangome 2 e no Porto, ambos com 350 NMP/g. Assim, observa-se uma variação clara entre os diferentes pontos de colecta, com destaque para a maior concentração em Inhangome 2 e Porto.

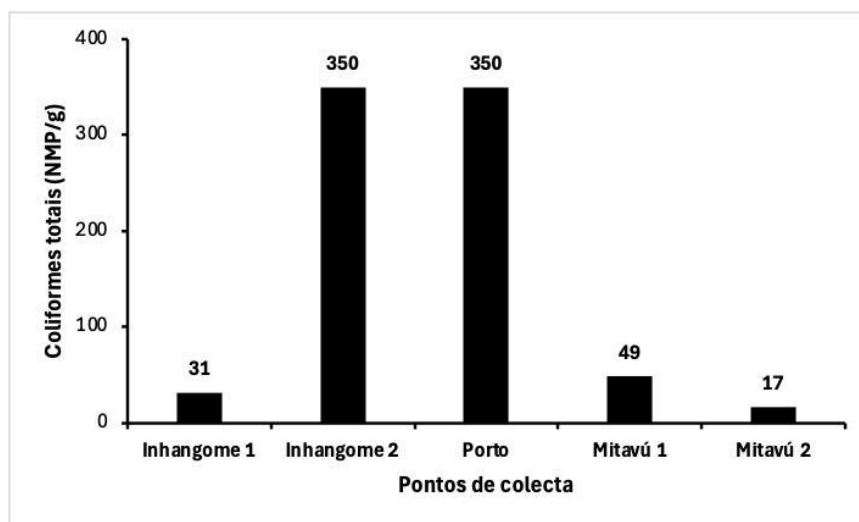
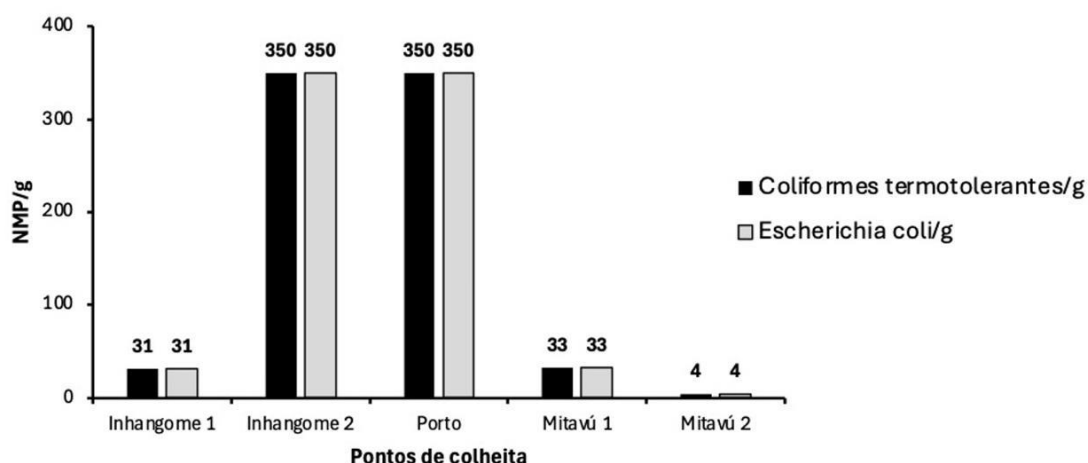


Figura 12:Gráfico de quantificação de coliformes totais

#### 4.4.Quantificação de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*

O gráfico a seguir, ilustra as contagens de coliformes termotolerantes e de *Escherichia coli* nos cinco pontos de amostragem avaliados. Observa-se que em Inhangome 1 ambos os parâmetros apresentaram o mesmo valor de 31 NMP/g. No ponto Porto e em Inhangome 2 registaram-se as maiores contagens, com 350 NMP/g para coliformes termotolerantes e igualmente 350 NMP/g para *E. coli*. Já em Mitavú 1, os valores foram mais baixos, fixando-se em 33 NMP/g tanto para coliformes termotolerantes como para *E. coli*. O ponto Mitavú 2 apresentou as menores concentrações, apenas 4 NMP/g para ambos os parâmetros. De forma geral, nota-se que os valores de coliformes termotolerantes e de *E. coli* coincidem em todos os pontos de coleta. Esta correspondência revela consistência entre os resultados obtidos. Além disso, evidencia-se uma variação significativa entre os locais analisados, indo de valores muito baixos em M2 até máximos em I2 e P.



**Figura 13:** Gráfico de quantificação de coliformes termotolerantes e E.coli

#### 4.5.Comparação da conformidade dos resultados obtidos com os padrões microbiológicos estabelecidos pelas normas nacionais

A avaliação da aptidão para o consumo das amêijoas colectadas no estuário dos Bons Sinais foi realizada com base nos critérios da legislação moçambicana. Os resultados demonstraram que os valores de *E. coli* variaram entre 4 e 350 NMP/g (equivalentes a 400 – 35 000 NMP/100 g), sendo todas as amostras enquadradas na categoria B, excepto no ponto Inhangome 1, que, apesar de apresentar valores compatíveis com a categoria B, revelou a presença de *Salmonella spp.*, classificando-se como Inapto para consumo humano. Assim sendo, 80% do total das amostras, enquadram-se na categoria B, considerando-se Aptas para o consumo após a depuração e 20% Inaptas para o consumo.

**Tabela 5:** Comparação da conformidade dos resultados obtidos com os padrões microbiológicos estabelecidos pelas normas nacionais.

| Ponto            | E. coli<br>(NMP/100 g) | Categoria | Salmonella | Determinação de conformidade |
|------------------|------------------------|-----------|------------|------------------------------|
| Inhangome 1 (I1) | 3100                   | B         | Presente   |                              |
| Inhangome 2 (I2) | 35000                  | B         | Ausente    |                              |
| Porto (P)        | 35000                  | B         | Ausente    |                              |
| Mitavú 1 (M1)    | 3300                   | B         | Ausente    |                              |
| Mitavú 2 (M2)    | 400                    | B         | Ausente    |                              |

**Legenda**

Apto após depuração  Inapto  Categoria: A- ≤ 230 B- ≤ 46000

#### 4.6. Variáveis ambientais

Variáveis ambientais: temperatura e pH são homogêneos entre pontos e provavelmente não explicam a variação espacial das contagens microbianas. A salinidade relativamente baixa (15‰) indica uma zona estuarina com influxo de água doce; a salinidade reduzida favorece a sobrevivência de alguns microrganismos de origem terrestre e pode associar-se a maiores concentrações de indicadores em moluscos.

Tabela 6: Variáveis ambientais

| Ponto de coleta | Temperatura | PH   | Salinidade |
|-----------------|-------------|------|------------|
| I1              | 23.4        | 7.9  | 15‰        |
| I2              | 23.6        | 7.9  | 15‰        |
| P               | 23.7        | 7.64 | 15‰        |
| M1              | 23.1        | 7.58 | 15‰        |
| M2              | 23.3        | 7.8  | 15‰        |

## CAPÍTULO V

### 5. Discussão

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam uma contaminação microbiológica relevante nas amêijoas colectadas no estuário dos Bons Sinais, com implicações directas para a saúde pública e para a gestão dos recursos pesqueiros locais.

A presença de *Salmonella spp* em 20% do total das amostras, que corresponde ao ponto (Inhangome 1) demonstra risco microbiológico efectivo. Dado que este género bacteriano é reconhecido como um dos principais agentes etiológicos de doenças transmitidas por alimentos (Shinohara *et al.*, 2008). Resultados semelhantes foram relatados por Passos *et al* (2011), que identificaram *Salmonella* em 20,7% dos mexilhões analisados na Baía de Santos, em contexto urbano e de intensa actividade portuária. A ocorrência pontual, apenas num dos pontos de amostragem, sugere que a presença deste patógeno possa estar associada a fontes de contaminação localizadas, como descargas de esgoto doméstico ou efluentes não tratados próximos ao banco de Inhangome. Quando comparado com os resultados descritos por Collin *et al* (2008), observa-se uma divergência significativa, nesse estudo realizado na Baía de Maputo, verificou-se a presença de *Salmonella spp* em 100% das amostras de amêijoas durante a época chuvosa e em cerca de 30% das amostras no período seco, sugerindo uma contaminação generalizada e fortemente influenciada pela sazonalidade. Os autores destacam que a elevada precipitação e as temperaturas mais quentes da água durante a época chuvosa favorecem a sobrevivência e a multiplicação de microrganismos entéricos, resultando em níveis mais elevados de contaminação. Neste contexto, os resultados do presente estudo diferem, sobretudo por reflectirem condições da estação seca (Agosto), em que a menor pluviosidade pode ter limitado o transporte de contaminantes para o estuário. Esta diferença sugere que a presença de *Salmonella* no estuário dos Bons Sinais poderá estar associada a fontes de poluição mais localizadas, em contraste com os resultados de Maputo, onde a contaminação apresentou carácter mais difuso e sazonal. Por outro lado, Segundo Ciccarelli *et al.* (2024), a presença de *Salmonella spp.* em zonas de colheita de bivalves tende a ocorrer de forma pontual e distribuída de maneira aleatória, não apresentando, por isso, uma correspondência directa com os níveis de contaminação por coliformes.

Relativamente aos coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, os resultados apontam para uma forte heterogeneidade espacial. Os valores mais elevados foram registados no banco de Inhangome ponto 2 e no banco do Porto (350 NMP/g em todos os parâmetros), enquanto o ponto Mitavú 2 apresentou os valores mais baixos (17 NMP/g para coliformes totais e 4 NMP/g para coliformes termotolerantes e *E.coli*). Esta variação reflecte a influência directa da pressão

antrópica sobre os diferentes locais de amostragem, uma vez que áreas mais próximas de descargas urbanas e actividades portuárias (caso do Porto e de Inhangome 2) tendem a acumular maiores cargas de contaminantes fecais.

Este cenário poderá estar associado à intensa actividade portuária e à maior proximidade de descargas de efluentes urbanos, factores que contribuem para a introdução de microrganismos de origem fecal no estuário. Resultados semelhantes foram descritos por Justino *et al* (2009), que observaram concentrações elevadas de coliformes em mangais sujeitos a forte pressão antrópica.

Em contraste, os pontos Inhangome 1, Mitavu 1 e Mitavu 2 apresentaram valores consideravelmente mais baixos (entre 17 e 49 NMP/g), sugerindo menor exposição a fontes directas de contaminação. De forma análoga, Silva *et al* (2021) demonstraram que a variabilidade espacial da contaminação microbiológica em bivalves está intimamente ligada ao grau de impacto humano sobre cada zona estuarina.

Importa salientar que, segundo Franco e Landgraf (2023), os coliformes totais são amplamente reconhecidos como indicadores de poluição fecal e da qualidade higio-sanitária dos alimentos. A sua presença, em níveis elevados, não apenas denuncia a influência de descargas contaminantes, como também alerta para o risco potencial de ocorrência de microrganismos patogénicos capazes de comprometer a saúde pública. O elevado número de *E. coli* nos pontos I2 e P sugere aporte contínuo de poluição fecal, possivelmente associada a descargas recentes de águas residuais, dado que este microrganismo é um indicador de contaminação fecal recente (Bettencourt, 2011).

Com base nos resultados obtidos e segundo os limites estabelecidos pela legislação moçambicana (Boletim da República, 2011,2025), que definem como critério a ausência de *Salmonella spp.* Em 25 g de amostra e valores de *E. coli*  $\leq 230$  NMP/100 g para Categoria A, entre 230 a 46 000 NMP/100 g para Categoria B e  $\geq 46\ 000$  NMP/100 g para Categoria C, foi possível classificar os pontos de de colcta na categoria B, sendo aptos para a comercialização/Consumo apenas após depuração, excepto no ponto Inhangome 1, que apesar de apresentar valores de *E. coli* compatíveis com esta categoria, foi considerado Inapto para o consumo devido à presença de *Salmonella spp.* Assim, nenhuma das amostras atingiu a Categoria A (consumo directo) e não se registaram valores que se enquadrassem na Categoria C (afinação), evidenciando que as amêijoas do estuário dos Bons Sinais necessitam obrigatoriamente de tratamento prévio para garantir a segurança alimentar.

As variáveis ambientais analisadas (temperatura, pH e salinidade) apresentaram valores homogéneos entre os pontos, não explicando directamente as diferenças encontradas nas contagens

bacterianas. Entretanto, a salinidade relativamente baixa (~15‰) é um factor que pode favorecer a sobrevivência de microrganismos de origem terrestre, contribuindo para a persistência de indicadores fecais em ambientes estuarinos, conforme apontado por (Justino *et al.*, 2009).

De um ponto de vista crítico, os resultados sugerem que a contaminação no estuário dos Bons Sinais é localizada e fortemente influenciada por fontes pontuais de poluição, como descargas urbanas e actividades portuárias. Contudo, a análise restrita ao mês de Agosto representa uma limitação, uma vez que não permite avaliar a influência da sazonalidade sobre a dinâmica da contaminação. Estudos em outros estuários indicam que a variação sazonal pode ter impacto significativo sobre a carga microbiana em bivalves (Silva *et al.*, 2021), pelo que investigações futuras deveriam incluir diferentes períodos do ano para ampliar a compreensão dos padrões de contaminação.

Para o teste de hipótese referente a *Salmonella spp* foi observado que dos 5 pontos de amostragem, apenas uma amostra correspondente ao ponto Inhangome 1 apresentou contaminação por *Salmonella spp.*, o que corresponde a uma proporção observada de 20% e o valor-p ( $< 2,2e-16$ ) indica que o resultado é estatisticamente significativo ou seja, não há evidências para rejeitar a hipótese nula ( $H_0$ ) de que as amêijoas estão contaminadas por *Salmonella spp*.

Do ponto de vista de segurança alimentar, a detecção de *Salmonella spp* em qualquer amostra é suficiente para classificar como inapto para consumo directo, uma vez que a legislação exige ausência total deste patógeno em 25 g de amostra.

Para o teste de hipótese referente a *Escherichia coli* o teste t apresentou valor-p = 0,0664, isso significa que não há evidências estatísticas suficientes para rejeitar a hipótese nula, ou seja os níveis de *Escherichia coli* nas amêijoas estão elevados e ultrapassam os limites máximos permissíveis para moluscos bivalves em Moçambique, reflectindo risco sanitário associado ao consumo destes moluscos.

## 6. Conclusão

Após a realização do presente trabalho, conclui-se que as amêijoas colectadas no estuário dos Bons Sinais apresentam níveis elevados de contaminação microbiológica, reflectindo a influência de fontes antrópicas de poluição. Foi possível detectar a ocorrência de *Salmonella spp*, em um dos pontos de amostragem, o que representa um risco directo para a saúde pública e torna essa amostras inapta para consumo humano. Verificou-se igualmente a presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em todos os pontos analisados, com variações espaciais que evidenciam maior carga microbiana em zonas próximas de maior pressão urbana e portuária.

De acordo com a legislação moçambicana, todas as amostras foram enquadradas na Categoria B, necessitando de processos de depuração antes do consumo, à excepção do ponto com detecção de *Salmonella*, considerado inapto. Assim, conclui-se que o consumo seguro das amêijoas do estuário dos Bons Sinais depende da aplicação de tratamentos adequados e da implementação de medidas de gestão ambiental e de saneamento, a fim de reduzir a poluição e garantir a protecção da saúde dos consumidores.

## 7. Recomendações

- ❖ Recomendo que se faça estudo semelhante nos mesmos pontos de amostragem em diferentes estações, para comparar os resultados de acordo com a sazonalidade.
- ❖ Recomendo que futuras pesquisas incluam a detecção de outros agentes de relevância para a saúde pública, tais como *Vibrio spp.* e *Listeria monocytogenes*, de forma a aprofundar o conhecimento sobre os riscos microbiológicos associados ao consumo de bivalves no estuário dos Bons Sinais

## 8. Referências Bibliográficas

Anon. (2017). *Microbiological Monitoring of Bivalve Mollusc Harvesting Areas*. Guide to Good Practice: Technical Application. Issue 6

AquaMaps. (2019). *Mapas de distribuição gerados por computador para Meretrix meretrix (marisco duro asiático), com mapa de alcance nativo modelado para o ano 2050 com base no cenário de emissões RCP8.5 do IPCC*.

Araujo, A. R., Silva, F. D., Santana, R. F., & Lopes, D. F. (2009). *G GESTÃO DA PESCA DE Mytella charruana ( D' orbigny, 1846) No Litoral do estado de Sergipe: indicadores de sustentabilidade*. Núcleo de Engenharia de Pesca, Universidade Federal de Sergipe - UFS.

Barros, L. M., Theophilo, G. N., Costa, R. G., Rodrigues, D. d., & Vieira, R. H. (2005). *Contaminante fecal da ostra Crassostrea rhizophorae comercializada*. Ceará, Fortaleza, CE: Revista Ciência Agronômica.

Bettencourt, F. M., (2011). *Avaliação da contaminação fecal da amêijoia-bou (Ruditapes decussatus) e respectiva zona de produção - Ria Formosa - Faro: influência na saúde pública*. Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Segurança Alimentar e Saúde Pública. Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Núcleo de Investigação e Formação em Segurança e Qualidade Alimentar, 188 p.

Blankensteyn, A. (2010). *Zoologia dos invertebrados II*. Florianópolis: Biologia/EaD/UFSC. 178 p.

Burri, S., & Vale, P. (2006). *Contaminação de bivalves por DSP: Risco de episódios de gastroenterites numa região de toxicidade endêmica*. 24(1), 10 p.

Cafermane, A. C. (2021). *Massas de água e circulação residual no estuário de bons sinais*. Dissertação de mestrado. Universidade Eduardo Mondlane. Quelimane.

Cestari, E. (2014). *Efeitos da acção Antrópica sobre o estuário do rio Itanhaem*. Sao paulo: Universidade federal do ABC.

Chacate, C. G. (2019). *Avaliação os indicadores de balneabilidade no Estuário dos Bons Sinais no Bairro de Chuabo Dembe, Distrito de Quelimane, em Abril de 2019*. Tese de licenciatura. Universidade Eduardo Mondlane. Quelimane.

Ciccarelli, S., Angelini, S., Tiscar, P. G., Ricchiuti, L., & Petruzzelli, A. (2024). Occurrence of *Salmonella* spp. in bivalve molluscs harvested in the Marche region (Italy), 2015–2022. *Italian Journal of Food Safety*, 13(1), 47–55. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2024.12142>

Collin, B., Rehnstam-Holm, A.-S., & Hernroth, B. (2008). *Faecal contaminants in edible bivalves from Maputo Bay, Mozambique: Seasonal distribution, pathogenesis and antibiotic resistance*. The Open Nutrition Journal, 2(1), 86–93.

Elias, M. M. (2018). *Impactos do descarte de esgoto nas praias da ilha de Itacuruçá e percepção ambiental da população sobre os impactos da poluição*.

Evangelista-Barreto, N. S., Sousa, O. V., & Vieira, R. H. (2008). *Moluscos bivalves: Organismos Bioindicadores da Qualidade Microbiológica das Águas: Uma Revisão*1 (2 ed., Vol. 2). Rev. Bras. Higie. Sanid.

FAO. (2008). *Bivalve depuration: Fundamental and practical aspects*. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.161p : <https://www.fao.org/4/i0201e/i0201e00.htm>

Franco, B. D., & Landgraf, M. (2023). *Microbiologia dos alimentos* (2 ed.). Rio de Janeiro: Atheneu.

Gosling, E. (2015). *Marine bivalve molluscs* (2nd ed.). Chichester: Wiley-Blackwell.

Imprensa nacional de Moçambique, E.P. (2025). *Limites e critérios de análises, testes e diagnósticos laboratoriais no âmbito dos controlos oficiais e outras actividades oficiais aplicáveis aos produtos de pesca*. II série-Numero 63.

Joydeb Chowdhury, M. S. (2019). *Biochemical composition of Meretrix meretrix in the Bakkhali river Estuary, Cox's Bazar, Bangladesh*. Faculty of Marine Sciences and Fisheries, University of Chittagong, Chittagong, Bangladesh.

Jasmin, F. (2017). *Meretrix meretrix* (Linnaeus, 1758). 5.P <https://eprints.cmfri.org.in/14969/1/Meretrix%20meretrix.pdf>

Justino, J. d., Keller, R. d., Cassini, S. T., & Barbosa, C. L. (2009). VI-099 - *Ocorrência de indicadores de poluição fecal bacterianos (Coliformes totais e E.coli) e viral (Adenovirus) na água e em mariscos de área de Manguezal contaminada com esgoto sanitário*. ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental.

Leal, D. A., & Franco, R. M. (2008). *Moluscos bivalves destinados ao consumo humano como vetores de protozoários patogênicos: Metodologias de detecção e normas de controle*. Rev Panam Infectol 2008;10(4):48-57.

Linnaeus. (1758). *Meretrix meretrix*. World register of Marine species.

Mabote, H. S. (2021). *Valoração Contingente dos Ecossistemas do Estuário dos Bons Sinais pelas Comunidades locais*. Dissertação de mestrado. Universidade Eduardo Mondlane. Quelimane.

Macaringue, I. (2024). *Diversidade, Abundância de Moluscos Bivalves e sua exploração na Praia do Bairro dos Pescadores, Baía de Maputo*. Tese de licenciatura. Universidade Eduardo Mondlane. Departamento de ciências biológicas.

Magestade, B. B. (2021). *Modelagem numérica da dinâmica da mare no estuário dos Bons sinais*. Dissertação de Mestrado. Universidade Eduardo Mondlane, Quelimane.

Melo, E. S. de, Amorim, W. R. de, Pinheiro, R. E. E., Corrêa, P. G. do N., Carvalho, S. M. R. de, Santos, A. R. S. S., Barros, D. de S., Cavalcante Oliveira, E. T. A., Mendes, C. A., & Sousa, F. V. de S. (2018). *Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil: Revisão*. PUBVET, 12(10), a191, 1–9. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v12n10a191.1-9>

Mendonça, A. (2014). *A segurança dos alimentos em casa*. Instituto Politécnico de Bragança.

Ministério das Pescas. (2011). *Diploma Ministerial n.º 200/2011: Controles e requisitos higiênico-sanitários para moluscos bivalves vivos e processados*. Boletim da República, I Série. Moçambique. <https://lexlink.eu/legislacao/mocambique/20656/legislacao/por-tema>

Mugadui, L. P. (2018). *Estudo da cadeia produtiva dos bivalves capturados ao longo do Estuario de Bons sinais, Cidade de Quelimane, Provincia de Zambezia*. Tese de Licenciatura. Universidade Eduardo Mondlane, Quelimane.

Nordic Committee on Food Analysis. (1999). *NMKL 71: Salmonella. Detection in foods* (5th ed.). Oslo, Norway: NMKL.

Nordic Committee on Food Analysis. (2009). *NMKL 96: Coliform bacteria, thermotolerant coliforms and Escherichia coli. Enumeration by MPN method* (4th ed.). Oslo, Norway: NMKL.

Nuernberg, S. S., Quadros, R. M., Boff, L. d., Marques, S. M., & Miguel, R. d. (2001). *Análise microbiológica em Ostras (Bivalvia, Ostreidae) de ambiente natural em laguna, Santa Catarina, Brazil*. Science and animal health.

- Oliveira, A. J., Santos, M. C., Itaya, N. M., & Calil, R. M. (2015). *Coliformes termotolerantes: Bioindicadores da qualidade da água destinada ao consumo humano*. São Paulo.
- Passos, E. de C., Mello, A. R. P. de, Sousa, C. V. de, Oliveira, M. A. de, Casarini, L. M., Motta, N. de S., Henrique, M. B., Machado, I. C., & De Rosso, V. V. (2011). *Deteção de Salmonella spp. em mexilhões Perna perna dos bancos naturais de baía densamente urbanizada*. ?????
- Pereira, C. S., Possas, C. d., Viana, C. M., & Rodrigues, D. d. (2007). *Vibrio spp. isolados de mexilhões (Perna perna) in natura e pré-cozidos de uma Estação Experimental de Cultura, Rio de Janeiro, RJ, Brasil*. Rio de Janeiro: Universidade Federal Fluminense – UFF, Niterói - RJ, Brasil.
- Pereira, M. A. M., C. Litulo, R. Santos, M. Leal, R. S. Fernandes, Y. Tibiriçá, J. Williams, B. Atanassov, F. Carreira, A. Massingue & I. Marques da Silva (2014). Mozambique marine ecosystems review. Final report submitted to Fondation Ensemble. 139 pp. Maputo, Biodinâmica/CTV
- Pereira, M. A. (2014). *Mozambique Marine Ecosystems Review*. Maputo: Biodinamica.
- Pereira, N. C. (2003). *Diagnóstico ambiental da Lagoa da Conceição utilizando o berbigão Anomalocardia brasiliensis (Gmelin, 1791) como bioindicador de poluição aquática*. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental.
- Pereira, R. (2021). *Depuração de moluscos bivalves*. ResearchGate. [https://www.researchgate.net/publication/349410552\\_Depuracao\\_de\\_moluscos\\_bivalves](https://www.researchgate.net/publication/349410552_Depuracao_de_moluscos_bivalves)
- Pires, D. S. (2018). *Produção de Moluscos Bivalves e Fatores de Risco*. Lisboa: Instituto superior de agronomia -Universidade de Lisboa.
- Rimelahas, W. L., MULYA, M. B., & BARUS, T. A. (2022). *Density, morphometric characteristics and distribution pattern of Asiatic hard clam (Meretrix meretrix) in Karang Gading estuary, Deli Serdang District, Indonesia*. (U. S. Utara., Ed.) Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences.
- Santana, J. V., & Pigozzo, C. M. (2010). *Análise da contaminação microbiológica em uma área de mariscagem da baía de todos os santos*. Salvador: Candombá – Revista Virtual, v. 6, n. 2, p. 100-109.

Shinohara, N. K., Barros, V. B., Jimenez, S. M., Machado, E. d., Dutra, R. A., & Filho, J. L. (2008). *Salmonella spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos*. Brazil: Ciênc. saúde coletiva 13 (5) .

Silva, B. R., Menegardo, S. B., Aride, P. H., Lavander, H. D., Spago, F. R., & Souza, T. B. (2021). *Qualidade microbiológica da água e dos mexilhões Perna perna (Linnaeus, 1758) cultivados em Piúma, Espírito Santo, Brasil* (Vol. 26). Manaus-BR: Eng Sanit Ambient.

Silva, J. V. F. da, Luz, L. E. da, Ferreira, M. G., Blasio, P. G., & Oliveira, E. H. S. de. (2023). *Doenças transmitidas por alimentos (DTA's): Os principais patógenos envolvidos nos surtos atuais e suas individualidades. Ciências da Saúde, Multidisciplinar, Nutrição, Saúde Coletiva*, 27(121). <https://doi.org/10.5281/zenodo.7831949>

Souza, R. V. de, Suplicy, F. M., & Novaes, A. L. T. (2021). *Depuração de moluscos bivalves* (Boletim didático n.º 160). Epagri – Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. Editado pelo Departamento Estadual de Marketing e Comunicação (DEMC). <https://www.epagri.sc.gov.br/>

Srinun, N., Vithayanon, C., & Klangnurak, W. (2024). *Variações morfológicas e genéticas de Meretrix spp. (Bivalvia: Veneridae) recentemente distribuídas nas águas costeiras do Golfo da Tailândia*. Ciência Estuarina, Costeira e de Plataforma.

Sur, S., Konar, R., Das, P., Roy, P., Psul, S., & Bardhan, S. (2006). *Ecologia de uma espécie ameaçada de extinção Meretrix meretrix( Linnaeus ) : um estudo de caso de Chandipur-on-sea, Orissa, India*. Departamento de Ciências Geológicas, Universidade de Jadavpur, Calcutá – 700032.

Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2017). *Microbiologia* (12.<sup>a</sup> ed.). Porto Alegre: Artmed

Vieira, R. H., Fernandes, V. R., & Carvalho, E. M. (2007). *Quantificação de vibrios, de coliformes totais e termotolerantes em ostra nativa Crassostrea, e na água do estuário do Rio Jaguaribe, Fortim-CE . Brasil*.

World Health Organization.(n.d.). *Salmonella (non-typhoidal)*. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)).

## 9. Anexos

### Material usado

| Material do campo     | Material/Equipamento para análise | Meios de cultura, reagentes e diluentes                |
|-----------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------|
| Sacolas esterilizadas | Tubos de ensaio                   | Água destilada                                         |
|                       | Tubos de Durhan                   |                                                        |
| Marcador              | Suportes                          | Água peptonada                                         |
| Caixa térmica         | Bolsas stomacher estéreis         | Meios de cultura1: BPW,RAPP,XLD,NA,LIA e TSI           |
| Luvax                 | Stomacher                         | Meios de cultura2: LSB, ECB, BGB e reagente de kovac's |
| Smartphone            | Talheres, bandejas de inox        | -----                                                  |
| Termómetro            | Bico de Bunsen                    | -----                                                  |
| Espectrofotómetro     | Balança                           | -----                                                  |

### Testes Estatístico para Hipóteses 1

| Estatística                     | Valor            |
|---------------------------------|------------------|
| Número de amostras contaminadas | 1                |
| Total de amostras               | 5                |
| Proporção observada             | 0.2 (20%)        |
| Valor-p                         | < 2.2e-16        |
| Intervalo de confiança (95%)    | [0.0102, 1.0000] |

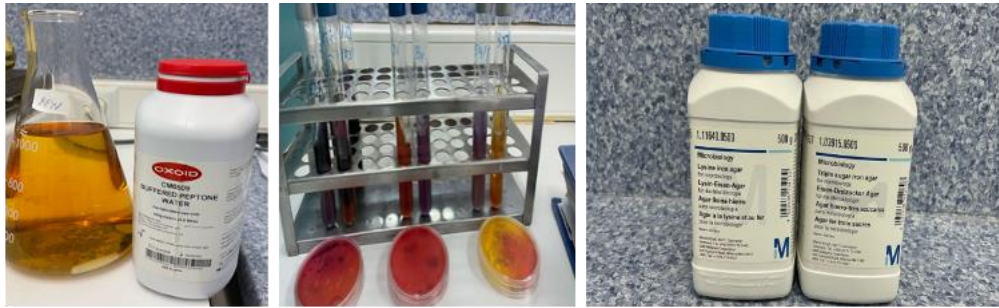
### Teste estatístico para Hipóteses 2

| Métrica                    | Valor           |
|----------------------------|-----------------|
| Média das amostras         | 15.360 UFC/100g |
| Valor t                    | 1.883           |
| Graus de liberdade (df)    | 4               |
| Valor-p                    | 0.0664          |
| Intervalo de confiança 95% | (-1767.98, ∞)   |

### Estatística descritiva das Variáveis ambientais

| Vars        | N | mean  | Sd   | median | trimmed | Mad  | Min   | max  | Skew        |
|-------------|---|-------|------|--------|---------|------|-------|------|-------------|
| Temperatura | 5 | 23.42 | 0.24 | 23.4   | 23.42   | 0.30 | 23.1  | 23.7 | 0.60 - 0.10 |
| PH          | 5 | 7.76  | 0.15 | 7.8    | 7.76    | 0.15 | 7.58  | 7.9  | 0.32 - 0.19 |
| Salinidade  | 5 | 15.00 | 0.00 | 15.0   | 15.00   | 0.00 | 15.00 | 15.0 | NaN         |

### Meios de cultura para detecção de salmonela



## Meios de cultura usados para a quantificação de coliformes



## Material usado no campo

