

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA  
SERGIO AROUCA  
ENSP

***“Monitoramento de parasitos e coliformes como parâmetros de avaliação sanitária de areia e água de praias da Baía de Guanabara”***

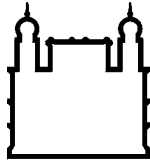
*por*

***Ludimila Santos Amaral***

*Dissertação apresentada com vistas à obtenção do título de Mestre em Ciências na área de Saúde Pública.*

*Orientadora: Prof.ª Dr.ª Adriana Sotero Martins*

*Rio de Janeiro, junho de 2012.*



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA  
SERGIO AROUCA  
ENSP

*Esta dissertação, intitulada*

***“Monitoramento de parasitos e coliformes como parâmetros de avaliação sanitária de areia e água de praias da Baía de Guanabara”***

*apresentada por*

***Ludimila Santos Amaral***

*foi avaliada pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:*

Prof. Dr. Jairo Pinheiro da Silva

Prof. Dr. Antonio Nascimento Duarte

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adriana Sotero Martins – Orientadora

Catálogo na fonte  
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica  
Biblioteca de Saúde Pública

A485m    Amaral, Ludimila Santos  
          Monitoramento de parasitos e coliformes como parâmetros  
          de avaliação sanitária de areia e água de praias da Baía de  
          Guanabara. / Ludimila Santos Amaral. -- 2012.  
          98 f. : il. color. ; tab. ; graf. ; mapas

          Orientadora: Adriana Sotero Martins.  
          Dissertação (Mestrado) – Escola Nacional de Saúde Pública  
          Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2012.

          1. Praias. 2. Monitoramento da Água. 3. Vigilância Sanitária.  
          4. Areia. 5. Microbiologia da Água. 6. Helmintos - parasitologia.  
          7. Coliformes. I. Título.

CDD – 22.ed. – 363.72098153

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por me proporcionar saúde e sabedoria nesta longa caminhada de aprendizado e vitórias. Por se fazer presente nos momentos de derrota e fraqueza, por nos confiar à vida e por ser o único a conhecer todo o nosso ser, ajudando-nos a superar mágoas e desencantos, fazendo de nós pessoas mais fortes e verdadeiras.

Aos meus pais, Aluizio e Adenete, pelos ensinamentos, carinho, compreensão, por se fazer presente nos momentos mais difíceis, incentivando a sempre prosseguir, me fortalecendo, ensinando que os caminhos devem ser percorridos sem medo, e os obstáculos vencidos. A vocês, o meu amor eterno.

Aos meus irmãos, Leonardo e Luciana, pelo incentivo, carinho e pelos momentos de alegria.

Ao Dr. Antônio Nascimento Duarte, pela ajuda, confiança e incentivo, fornecendo todas as condições necessárias para a realização dos experimentos.

Toda a equipe do Laboratório de Parasitologia Ambiental do DCB, Fiocruz, pela ajuda prestada na realização dos experimentos.

Ao Vinícius Tunholi, pela ajuda, incentivo, dedicação e por seu companheirismo. Muitos dos seus conselhos e dicas jamais serão esquecidos e com certeza fortaleceram minha formação. Pelos momentos de alegrias, por se fazer presente nos momentos difíceis. Muito obrigada!

A minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Sotero Martins, pelos ensinamentos concedidos e fundamentais para a conclusão deste estudo. Pela dedicação e orientação.

## RESUMO

Doenças de veiculação ambiental, pela água e solo, constituem um grande problema de saúde pública, principalmente nos países em desenvolvimento, onde as condições de saneamento são precárias. Este trabalho teve por objetivo o monitoramento de microorganismos para avaliação da qualidade sanitária de areia e água de praias da Baía de Guanabara, RJ. Foram realizadas avaliações da qualidade sanitária de areia e de água de quatro praias da Baía de Guanabara, duas na Ilha de Governador e duas na Ilha de Paquetá, sendo feitas duas campanhas de coleta de amostras frescas nas quatro estações do ano, no período de 2010 a 2011. A metodologia utilizada nas análises colimétricas permitiu distinguir *E. coli* dos demais Coliformes Totais, sendo utilizada a técnica de membrana filtrante, e os resultados expressos em UFC/g e UFC/mL. Nas análises parasitológicas, foram utilizadas técnicas parasitológicas tradicionais sendo: Método de Baermann-Moraes e Método de Lutz. Sendo realizadas somente na matriz areia seca, e em ambas foram feitas adaptações para esse tipo de matriz, visando eficiência, praticidade e baixo custo. Foram feitas também análises do tipo imunoensaio sendo utilizados “Kits” comerciais para a realização de Ensaio Imunoenzimático (ELISA). A praia da Bica foi a que apresentou maiores níveis de *E. coli* em água, acima dos limites determinados na Resolução 274/00 CONAMA. Enquanto para a matriz areia seca, foi na praia José Bonifácio que foram encontrados em média níveis colimétricos elevados (1948750 UFC/g), e também onde foram observados com maior frequência ovos e larvas de helmintos. Portanto, quanto mais elevados os níveis colimétricos maior é o risco para a presença de parasitos, devido a presença de contato por esgoto sanitário.

Palavras Chaves: Praias; Monitoramento da qualidade sanitária; Areia; Água de balneabilidade; Helmintos e Protozoários.

## ABSTRACT

Diseases spread by the water and soil are a serious public health problem, especially in developing countries, where sanitation conditions are often precarious. The aim of this work was to monitor the presence of microorganisms to assess the sanitary quality of the sand and water at beaches within Rio de Janeiro's Guanabara Bay. The sanitary quality of the sand and water were evaluated at four beaches within the bay, two on Governador Isle and on Paquetá Isle, through two campaigns to collect fresh samples during the four seasons of the year, in 2010 and 2011. The method employed (membrane filter technique) in the colimetric analyses enabled distinguishing *E. coli* from the other organisms making up the total coliforms, with the results expressed as UFC/g and UFC/mL for the water and sand samples, respectively. Traditional techniques were used in the parasitological analyses: the Baermann-Moraes method and Lutz method, only carried out on the dry sand samples, in both cases with adaptations for this test material to improve efficiency and practicality and lower the cost. Assays were also performed with commercial ELISA kits. Bica Beach had the highest levels of *E. coli* in the water samples, above the limits allowed by Resolution 274/00 from Brazil's National Environmental Council (CONAMA). The highest levels of *E. coli* in the sand samples were found at José Bonifácio Beach (1948750 UFC/g), along with the greatest frequency of helminth eggs and larvae. Therefore, the higher the colimetric levels, the greater will be the risk of the presence of parasites, due to the contact with sewage.

Key words: Beaches; Sanitary quality monitoring; Sand; Beach water; Helminths; Protozoa.

## SUMÁRIO

<b>1-INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2-REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	15
2.1- Baía de Guanabara.....	15
2.1.1- Características de suas águas e entorno.....	15
2.1.2- Poluição e Programa de Despoluição da Baía de Guanabara/ RJ.....	16
2.2- Saúde Ambiental das Áreas de Recreação.....	18
2.2.1- Contaminação de areia e água.....	19
2.2.2- Legislações Brasileiras sobre a qualidade da areia.....	22
2.2.2.1- No município do Rio de Janeiro.....	23
2.2.2.2- No Estado de São Paulo.....	25
2.2.2.3- Padrões Internacionais.....	25
2.2.3- Legislações Brasileiras sobre a qualidade da água.....	25
2.3- Política de saneamento.....	28
2.3.1- Classificação de algumas doenças no contexto ambiental.....	30
2.4- Parasitos como indicadores de contaminação ambiental proposta na literatura.....	31
2.5- Helmintos.....	32
2.5.1- <i>Ascaris sp.</i> .....	34
2.5.1.1- Morfologia e Ciclo de vida.....	35
2.5.2- <i>Trichuris sp.</i> .....	36
2.5.2.1- Morfologia e Ciclo de vida.....	36
2.5.3- Ancilostomídeos.....	37
2.5.3.1- Morfologia e Ciclo de vida.....	38
2.5.4- <i>Toxocara sp.</i> .....	41
2.5.4.1- Morfologia e Ciclo de vida.....	41
2.6- Protozoários.....	43
2.6.1- <i>Giardia sp.</i> .....	43
2.6.1.1- Morfologia.....	43
2.6.2- <i>Cryptosporidium sp.</i> .....	45
2.6.2.1- Morfologia.....	45
2.6.3- <i>Entamoeba sp.</i> .....	46
2.6.3.1- Morfologia.....	46

2.7- Bioindicadores Fecais em Materiais Ambientais (Água e Areia).....	47
2.7.1- Coliformes totais.....	47
2.7.2- <i>Escherichia coli</i> .....	48
<b>3-OBJETIVOS</b> .....	49
3.1- Objetivo Geral.....	49
3.2- Objetivos Específicos.....	49
<b>4-METODOLOGIA</b> .....	50
4.1- Metodologia de Campo.....	50
4.1.1- Plano de Amostragem.....	50
4.1.2- Generalidades sobre a área de estudo.....	50
4.1.2.1- Ilha de Paquetá.....	53
4.1.2.1.1- Praia José Bonifácio.....	54
4.1.2.1.2- Ilha de Tamoios.....	54
4.1.2.2- Ilha de Governador.....	54
4.1.2.2.1- Praia da Bica.....	55
4.1.2.2.2- Ponta do Tubicacanga.....	55
4.1.3- Coleta das amostras nos períodos de monitoramento.....	55
4.1.4- Registro, coleta e preservação das amostras.....	57
4.1.4.1- Registros.....	57
4.1.4.2- Método de coleta das amostras.....	58
4.1.5- Método de coleta em campo.....	59
4.1.5.1- Para amostras de Coliformes.....	59
4.1.5.1.1-Água.....	59
4.1.5.1.2- Areia.....	59
4.1.5.2- Para amostras Parasitológicas.....	60
4.2- Metodologia Analítica.....	61
4.2.1- Laboratórios utilizados para as análises.....	61
4.2.2- Processamentos Laboratoriais das amostras microbiológicas.....	61
4.2.2.1- Diluição seriada das amostras.....	62
4.2.2.2- Análise Bacteriológica.....	64
4.2.3- Processamento para análises parasitológicas.....	65
4.2.3.1- Avaliação de recuperação de parasitos em areia seca: contaminação experimental.....	65
4.2.3.2- Técnica de Lutz Adaptada.....	66



4.2.3.3- Técnica de Baermann-Moraes Adaptada.....	67
4.2.3.4- Ensaio Imunoenzimático (ELISA).....	67
4.2.4- Comparações Estatísticas.....	69
<b>5-RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>70</b>
5.1- Monitoramento da Qualidade da Água das Praias.....	70
5.1.1- Análise dos Parâmetros Colimétricos em Água: 3º. Período - 2010 a 2011.....	70
5.2- Monitoramento da Qualidade da Areia das Praias.....	71
5.2.1- Análise dos níveis de Coliformes Totais e de <i>E. coli</i> nas areias das praias: 3º. Período - 2010 a 2011.....	71
5.2.2- Comparações Estatísticas.....	74
5.3 - Níveis Parasitológicos em Areia.....	75
5.3.1- Análise de Amostras Frescas para Parasitologia: 3º Período de Estudo.....	75
5.4 – Atlas de Imagens Obtidas de Amostras Positivas do 3º. Período.....	80
5.5- Avaliação por Imunofluorescência: ELISA.....	81
5.6- Avaliação da Recuperação de Parasitos em Areia Seca: Contaminação experimental da areia.....	83
<b>6- PERSPECTIVAS FUTURAS DO TRABALHO.....</b>	<b>85</b>
<b>7- CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>86</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>87</b>
<b>8- REFERÊNCIAS.....</b>	<b>88</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Ovos férteis de <i>Ascaris lumbricoides</i> .....	36
<b>Figura 2:</b> Ovos férteis de <i>Tricuris vulpis</i> .....	37
<b>Figura 3:</b> Migração de Ancilostomídeos no estrato epitelial da pele humana.....	38
<b>Figura 4:</b> Ovo de ancilostomídeo em fase de embrionamento.....	39
<b>Figura 5:</b> Larva de terceiro estágio de <i>Ancylostoma braziliense</i> .....	39
<b>Figura 6:</b> Vias de desenvolvimento do <i>Ancylostoma sp.</i> no cão e no homem.....	40
<b>Figura 7:</b> Microscopia de luz, demonstrando aspectos morfológicos utilizados na identificação de ovos de <i>Toxocara canis</i> .....	42
<b>Figura 8:</b> Ciclo biológico de <i>Toxocara canis</i> .....	42
<b>Figura 9:</b> Trofozoítos de <i>Giardia sp.</i> .....	44
<b>Figura 10:</b> Cisto de <i>Giardia sp.</i> .....	44
<b>Figura 11:</b> Oocisto de <i>Cryptosporidium sp.</i> .....	46
<b>Figura 12:</b> Trofozoíto (A) e cisto (B) de <i>Entamoeba histolytica</i> .....	47
<b>Figura 13 :</b> Imagem através de satélite do trecho da Baía de Guanabara, Rio de Janeiro (RJ), Brasil. Enfoque na área do estudo.....	51
<b>Figura 14:</b> Imagem por meio de satélite da Ilha do Governador (RJ/Brasil), com enfoque para a Praia da Bica e da Ponta do Tubiacanga.....	52

<b>Figura 15:</b> Imagem por meio de satélite da Praia dos Tamoios (Nordeste) e José Bonifácio (Noroeste) na Ilha de Paquetá (Rio de Janeiro/RJ-Brasil), com enfoque na localização dos pontos de coleta.....	52
<b>Figura 16:</b> Imagem por meio de satélite da Praia da Bica (Ilha do Governador, Rio de Janeiro/RJ-Brasil), com enfoque na localização dos pontos de coleta.....	53
<b>Figura 17:</b> Imagem por meio de satélite da Praia da Ponta do Tubiacanga (Ilha do Governador, Rio de Janeiro / RJ-Brasil), com enfoque na localização dos pontos de coleta.....	53
<b>Figura 18:</b> Frasco de vidro estéril utilizado no armazenamento da amostra.....	59
<b>Figura 19:</b> Coleta de areia para análise colimétrica.....	60
<b>Figura 20:</b> Areia seca coletada com o auxílio de uma concha.....	60
<b>Figura 21:</b> Coleta de areia seca para análise parasitológica, acondicionado em saco plástico.....	61
<b>Figura 22:</b> Esquema das diluições iniciais e em série das diferentes matrizes ambientais.....	63
<b>Figura 23:</b> Etapa inicial de preparo da amostra de areia seca para Técnica de Lutz Adaptada. ....	66
<b>Figura 24:</b> Etapa de filtração da amostra de areia seca na Técnica de Lutz Adaptada.....	67
<b>Figura 25:</b> Comparação das análises dos níveis de coliformes totais (CT) e de <i>E. coli</i> (EC) presentes em água (UFC/mL) .....	71

<b>Figura 26:</b> Comparação das análises dos níveis de coliformes totais (CT) presentes nas matrizes areia (UFC/g x 10 <sup>2</sup> ).....	73
<b>Figura 27:</b> Comparação das análises dos níveis de coliformes totais (CT) e de <i>E. coli</i> (EC) presentes em areia úmida (UFC/g x 10 <sup>2</sup> ) .....	74
<b>Figura 28:</b> Comparação da frequência absoluta de ovos de <i>Ascaris</i> sp; <i>Ancylostoma</i> sp e Larvas encontradas nas amostras de areia seca no período de 2010 a 2011 pelas as técnicas de Lutz - Adaptada (L) e Baermann-Moraes - Adaptada (BM) .....	75
<b>Figura 29:</b> Frequência absoluta das amostras de areia seca positivas para as estruturas parasitárias (helmintos/protozoários) relacionadas pelas estações do ano coletados nas quatro praias estudadas, no período de 2008 a 2011.....	78
<b>Figura 31:</b> Frequência relativa do número de ovos recuperados pela técnica de Lutz após a contaminação das amostras de areia seca .....	83
<b>Figura 30.</b> Microscopia de luz realizada em matrizes ambientais (areias) contaminadas por ovos e larvas de diferentes geohelmintos. ....	87

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Classificação para Coliformes totais e <i>E. coli</i> segundo modificação a partir da Resolução N° 468/2010, da SMAC, dados expressos em UFC/g (Fonte: CONAMA, 2008).....	25
<b>Tabela 2:</b> Classificação para Coliformes totais e <i>E. coli</i> segundo modificação a partir da Resolução N° 274/2000, do CONAMA (Fonte: CONAMA, 2008).....	27
<b>Tabela 3:</b> “Kits” comerciais utilizados para a realização dos testes de Elisa.....	68
<b>Tabela 4:</b> Correlação linear de Pearson entre os dados médios dos níveis de coliformes totais (CT) e de <i>E. coli</i> (EC).....	75
<b>Tabela 5:</b> Grau de sensibilidade das técnicas de Lutz- Adaptada e Baermann- Moraes Adaptada na recuperação de estruturas parasitárias proveniente da matriz areia seca durante o período de 2010 a 2011.....	77
<b>Tabela 6:</b> Variação média da umidade relativa do ar e temperatura do ambiente durante o período das coletas (2010-2011) nas estações do ano.....	79
<b>Tabela 7:</b> Frequência absoluta e relativa dos protozoários <i>Giardia sp.</i> , <i>Cryptosporidium sp.</i> e <i>Entamoeba sp.</i> .....	81

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1:</b> Classificação ambiental das infecções relacionadas com a água.....	31
<b>Quadro 2:</b> Períodos das Coletas de Amostras nas Praias da Bica (BI), Tubiacanga (TU), José Bonifácio (JB) e Tamoios (TA).....	56
<b>Quadro 3:</b> Número de amostras de areia seca por período, que foram analisadas nos estudos parasitológicos nas Praias da Bica (BI), Tubiacanga (TU), José Bonifácio (JB) e Tamoios (TA).....	58

## **SIGLAS E ABREVEATURAS**

ABAE – Associação Bandeira Azul da Europa

BI- Praia da Bica

BID- Banco Interamericano de Desenvolvimento

CEDAE - Companhia Estadual de Água e Esgoto

CONAMA- Conselho Nacional do Meio Ambiente

CT- Coliformes Totais

DBO - Bioquímica de Oxigênio

EC - *Escherichia coli*

ELISA- ensaio imunoenzimático

EPA - Agência de Proteção Ambiental

JB – Praia de José Bonifácio

JICA -Agência de Cooperação Internacional do Japão

OD - Oxigênio Dissolvido

OMS- Organização Mundial da Saúde

PDBG- Programa de Despoluição da Baía de Guanabara

PLANASA- Plano Nacional de Saneamento

PSAM- Plano de Saneamento Ambiental dos Municípios no Entorno da Baía de Guanabara

SMAC - Secretaria Municipal de Meio Ambiente da Cidade do Rio de Janeiro

TA – Praia de Tamoios

TU- Praia de Tubiacanga

## 1- INTRODUÇÃO

O presente estudo teve como interesse central o monitoramento de parasitos e coliformes para avaliação da qualidade sanitária de areia e água de praias da Baía de Guanabara, RJ.

Este trabalho esteve inserido no Macro-Projeto intitulado “Impacto da Poluição na Qualidade Sanitária de Água e Areia de Praias de dois Ecossistemas Brasileiros, Baía de Guanabara e Bacia do Amazonas”, financiado pelo Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), processo No. 577432/2008-7, e relacionado com à linha de pesquisa de Monitoramento da Saúde Ambiental, desenvolvida no Departamento de Saneamento e Saúde Ambiental (DSSA), sob a coordenação da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Adriana Sotero Martins, desde o ano de 2008, que previa quatro períodos de coleta distribuídas nos meses dos anos (2008-2009; 2009-2010; 2010-2011 e 2011-2012) visando o monitoramento das condições sanitárias de praias da Baía de Guanabara. Tem por objetivo propor o monitoramento de microorganismos para avaliação da qualidade sanitária de areia e água de praias da Baía de Guanabara e da Cidade de Manaus, e teve material coletado de areia para futuras análises parasitológicas. E os resultados obtidos nesse estudo poderão ser utilizados para propiciar informações essenciais à padronização de técnicas e gerar indicadores que forneçam subsídio para o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), e também para as agências ambientais estaduais e municipais brasileiras em relação à saúde ambiental dos ecossistemas praianos e das áreas utilizadas para recreação.

Sendo assim, essa dissertação de mestrado estará contribuindo com estudos do monitoramento colimétrico de água e areia dos ambientes praianos, além de ser um estudo preliminar para as análises parasitológicas dessas matrizes ambientais, podendo comparar os dados aqui encontrados com os dados obtidos dos padrões colimétricos anteriormente propostos, através da verificação ou não de correlação estatística entre os dados.



## **2- REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1– Baía de Guanabara**

#### **2.1.1- Características de suas Águas e do Entorno**

No Brasil, de uma forma geral, a qualidade da água representa possivelmente o principal problema ambiental. Dentro do conceito mais amplo de gestão da qualidade de água, o saneamento representa o setor que mais claramente está vinculado à agenda ambiental, sendo certamente o principal em termos de impactos sociais e ambientais (LIMA, 2006).

A Baía de Guanabara localiza-se no Estado do Rio de Janeiro, entre as longitudes 43°00'00" e 43°20'00" W, e latitudes 22°40'00" e 23°05'00" S. Esta constitui um estuário com uma área total de 346 km<sup>2</sup>, incluindo 59 km<sup>2</sup> de ilhas. A bacia hidrográfica tributária abrange uma área aproximada de 4000 km<sup>2</sup> (FEEMA, 1998).

Nesta região habitam cerca de 10 milhões de habitantes, o equivalente a 80% da população do Estado. Estima-se que mais de dois terços dessa população habitem regiões adjacentes à Baía de Guanabara (IBGE, 2002).

A maior concentração urbano-industrial está localizada na região do entorno da Baía, principalmente no município do Rio de Janeiro, em seguida no município de Niterói. Para atender à grande demanda de uma Região Metropolitana (expansão urbano-industrial) é preciso estar atento, por exemplo, às possíveis fontes de recursos minerais bem como às atividades extrativas que, inevitavelmente, causam impactos negativos ao ambiente. Essa atividade na área de entorno da Baía de Guanabara está presente nos ambientes fluviais, nas planícies, em dunas, praias, em materiais terrosos e rochas propriamente ditas. Contribuem, portanto, para a destruição da vegetação e diminuição da fauna, destruição de nascentes, turbidez das águas, assoreamento dos rios, destruição de dunas e sítios arqueológicos, quebra do perfil de equilíbrio de costa, destruição dos solos, processo erosivo e, por conseguinte, descaracterização paisagística e degradação ambiental (Egler et al., 2003).

A Baía de Guanabara apresenta problemas sérios de poluição e de eutrofização. Elevadas cargas de bactérias, matéria orgânica e nutrientes, vêm contribuindo para agravar o processo de degradação ambiental do ecossistema da baía, especialmente nas áreas oeste e noroeste, que se encontra em estado crítico. Os problemas são devidos

principalmente às altas concentrações de bactérias do tipo Coliformes, Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Fósforo, Nitrogênio e Clorofila (caracterizando a biomassa de algas), como também baixos níveis de Oxigênio Dissolvido (OD).

A região localizada no canal entre as Ilhas do Governador e do Fundão e o continente, apresenta a pior qualidade de água, com OD abaixo de 1 mg/L, DBO de até 50 mg/L e elevados níveis de nutrientes de nitrogênio e fósforo, bem como, de coliformes fecais, devido aos lançamentos significativos de efluentes brutos ou parcialmente tratados, provenientes das áreas industriais e residenciais de baixa renda nas áreas ao norte do Município do Rio de Janeiro. A influência do movimento de maré é limitada nessa área, uma vez que a deposição de sedimento reduziu as seções transversais do canal. A qualidade de água é similar à dos esgotos sanitários parcialmente tratados, dessa forma, problemas de odor são também significativos. Essa região recebe uma carga poluidora considerável, proveniente das indústrias e das áreas residenciais (LIMA, 2006).

### **2.1.2- Poluição e Programa de Despoluição da Baía de Guanabara/RJ**

A Baía de Guanabara atingiu os atuais níveis de poluição a partir de um processo contínuo de degradação, se tornando mais intenso, principalmente, nas décadas de 1950-1960, devido ao elevado crescimento urbano, especialmente na Região Sudeste do País (LIMA, 2006).

Dentre as causas de degradação ambiental da Baía de Guanabara, as principais são: o desmatamento, a destruição de manguezais, aterros, ineficiência na coleta urbana e destino final do lixo, poluição industrial e acidentes ambientais (PEREIRA, 2003).

A deficiência do sistema de saneamento básico, agravada pela falta de tratamento dos esgotos sanitários representa a principal fonte de poluição da Baía. As redes coletoras não são suficientes e a predominância em áreas mais pobres, do esgoto a céu aberto favorece a chegada de esgoto *in natura* à Baía de Guanabara, como receptor natural de todos os rios, canais e galerias da cidade do Rio de Janeiro (PEREIRA, 2003).

Adicionalmente, a deficiência de coleta e a falta de locais adequados, para receber o lixo doméstico e os rejeitos de indústrias, hospitais e laboratórios constituem um problema de ampla repercussão para a saúde pública. Os dejetos humanos aliados aos rejeitos e ao lixo orgânico e inorgânico são focos de diversas doenças infecciosas e

parasitárias, bacterianas e virais, podendo ainda representar risco de contaminação humana por materiais tóxicos e radioativos. O seu acúmulo sem tratamento promove, além disso, a contaminação do solo e, conseqüentemente, a poluição de águas superficiais e subterrâneas, causando também a obstrução dos sistemas de drenagem e provocando inundações com enormes riscos para a saúde humana e também animal (PEREIRA, 2003).

Os despejos industriais se constituem em fonte de poluição considerável das águas da baía, representando cerca de 20% da poluição orgânica biodegradável, sendo, ainda, responsável pela quase totalidade da poluição química por substâncias tóxicas e metais pesados, nocivos à saúde humana, que acabam por se acumular nos sedimentos (LIMA, 2006).

Em resumo, pode-se afirmar que sérios problemas de saúde pública caracterizam a região da bacia hidrográfica da Baía de Guanabara, devido à gestão inadequada dos esgotos sanitários e dos resíduos sólidos urbanos (FEEMA, 1998).

O Programa de Despoluição da Baía de Guanabara (PDBG) tem por objetivo é diminuir a poluição da Baía, mas não somente se limita a limpar diretamente o corpo d'água, adicionalmente buscar solucionar o conjunto de problemas ambientais da bacia, que determinam seu estado atual de degradação. O PDBG foi proposto durante a ECO 92, sendo inicialmente executado em 1995, prorrogado oficialmente por 7 vezes e até hoje continua inacabado. Resultados oficiais indicam que apenas 30% do esgoto que cai na Baía de Guanabara são tratados (seis dos 20 mil litros produzidos por segundo). Segundo a Secretaria Municipal do Meio Ambiente o atual programa consumiu cerca de US\$ 1,17 milhão do Banco Interamericano de Desenvolvimento (BID), da Agência de Cooperação Internacional do Japão (JICA) e do governo do Estado. De acordo com o relatório, as principais falhas relacionadas ao insucesso do programa incluem especialmente a falta de articulação com os municípios situados em torno da Baía e falta de regulação da Companhia Estadual de Água e Esgoto (CEDAE). Atualmente, o governo do Estado assinou um novo contrato com o BID para um novo programa voltado na recuperação da Baía intitulado como Plano de Saneamento Ambiental dos Municípios no Entorno da Baía de Guanabara (PSAM), visando a recuperação de manguezais, construção, ampliação e melhoria da rede de esgoto no Centro e na zona Norte da cidade do Rio de Janeiro e Municípios vizinhos da Baixada Fluminense e São Gonçalo e restabelecimento da mata ciliar a fim de minimizar as conseqüências geradas pela degradação ambiental ao longo dos anos (MALTA, 2005).

## 2.2- Saúde Ambiental das Áreas de Recreação

De acordo com Borja et al. (2000) alguns estudos visam compreender melhor a associação existente entre saúde e a qualidade do meio ambiente, bem como a incentivar estratégias de políticas integradas para esses setores. Isso tem sido uma preocupação de entidades em todo mundo, inclusive da Organização Mundial da Saúde (OMS).

O saneamento básico é um importante indicador da qualidade ambiental e, por conseguinte, da qualidade de vida e da saúde das populações de áreas urbanas, especialmente no Brasil, onde segundo dados do IBGE (2008) cerca de 40 milhões de pessoas não têm acesso à água tratada e 100 milhões não têm acesso à rede de esgoto.

Segundo Ludwing et al. (1999) admitem parecer simples esta confrontação, por ser quase lugar comum afirmar que saneamento ambiental deficiente está diretamente relacionado com altos índices de parasitoses intestinais. No entanto, Ferreira et al., (2000), destacam que são poucos os trabalhos no Brasil relacionados sobre a prevalência de enteroparasitoses veiculados com o solo, sendo a maioria realizados em amostras de bases populacionais como usuários de serviços de saúde, alunos de escolas públicas e comunidades urbanas carentes.

Cabe ressaltar que a presença de enteroparasito no solo, na água ou em alimentos, além de sua importância específica, é um importante indicador biológico de contaminação fecal, servindo de alerta para a transmissão de outros agentes como os enterovírus, o vírus da hepatite A. Além disso, os ovos dos helmintos parasitos, por serem maiores, mais resistentes e mais fáceis de serem evidenciados no ambiente, fornecem indicação segura da contaminação fecal atual ou recente, podendo constituir-se em coadjuvante necessário a um adequado monitoramento sanitário do meio (SILVA et al., 1991).

Os efeitos ambientais na saúde se transformam cada vez mais em uma preocupação da saúde pública, que nos leva a uma reflexão e necessidade de informações melhoradas, que deem suporte a uma nova forma de pensar e abordar os problemas (RIGOTTO, 2003).

Os microorganismos patogênicos encontrados na areia podem ser provenientes de várias fontes, tais como: lixo, animais domésticos, pombos, descarga de esgoto sanitário (línguas negras), dentre outros. Podendo representar assim fatores de risco para a saúde humana, causando doenças como: hepatite, distúrbios gastrintestinais, desidratação, micoses e doenças parasitárias (BOUKAI, 2005).

Outros fatores também podem ser mencionados como contribuintes para a sobrevivência e dispersão de microorganismos patogênicos na areia, são eles: os efeitos das marés, mudança de estação do ano e o número de banhistas (BOUKAI, 2005).

### **2.2.1- Contaminação de Areia e Água**

As parasitoses intestinais estão amplamente distribuídas no mundo constituindo um grande problema de saúde pública, principalmente nos países em desenvolvimento (OMS, 2009).

A maioria das infecções causadas por geo-helminthos ocorre na África subsaariana, nas Américas, China e leste da Ásia. Estimativas recentes da OMS (2009) sugerem que *Ascaris lumbricoides* infecta mais de um bilhão de pessoas, enquanto *Trichuris trichiura* 795 milhões e *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus* 740 milhões. (MELLO, 2010)

Segundo a OMS (2009), dentre as doenças negligenciadas de maior interesse no panorama brasileiro, as seguintes doenças parasitológicas possuem importância epidemiológica: ascaríase, ancilostomíase, amebíase e giardíase.

A gravidade dessas doenças está relacionada à dose infectante e ao número de organismos adquiridos ao longo do tempo, sendo as exposições frequentes responsáveis, em muitos casos, pelo aumento da carga parasitária (CÔRTEZ, 2010).

A contaminação ambiental por formas infectantes de protozoários e helmintos depende de vários fatores, que incluem: concentração e localização de hospedeiros infectados, número de formas infectantes excretadas, hábitos dos hospedeiros, diferenças étnicas e socioeconômicas, distribuição geográfica, condições e níveis de saneamento, qualidade da água, suprimento e fontes alimentares, clima.

Alguns estudos realizados no Brasil e no mundo com o intuito de diagnosticar a contaminação do solo por helmintos com potencial zoonótico. Dentre os vários helmintos encontrados destacam-se o *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma braziliense*; *Toxocara canis* e *Trichuris spp.* por serem os mais frequentes, encontrados tanto diretamente nas fezes dos hospedeiros, como também em areias ou terras examinadas. (MORO et al., 2008; SILVA et al., 2009; KEISER E UTZINGER, 2008).

Animais de companhia contribuem para o desenvolvimento físico, social e emocional de crianças e para o bem-estar de seus donos. Entretanto, cães e gatos possuem muitos parasitos específicos, cujas larvas infectantes só completam seu ciclo

nesses hospedeiros (MATESCO et al., 2006). Como cães e gatos atuam como hospedeiros definitivos de algumas parasitoses intestinais. Parte delas assume grande importância em saúde pública, pois humanos podem acidentalmente se infectar resultando em inúmeros agravos a sua saúde.

A concentração de animais domésticos em áreas urbanas, associada a um número cada vez maior da população abandonada desses animais, tem um papel epidemiológico importante na contaminação em áreas de lazer como praias, praças e parques públicos aumentando consideravelmente o risco de infecção ao homem e na disseminação de infecções por variados gêneros de parasitos (ZUNINO, 2000).

Nematóides, cestóides e microorganismos eucariontes são correntemente associados a risco sanitário a animais, e sob determinadas condições, podem ser transmitidos ao homem e também comprometer a saúde destes (ZUNINO, 2000).

O ciclo de transmissão dos enteroparasitos se desenvolve na água, solo e alimentos contaminados por fezes contendo formas infectantes de protozoários, nematelmintos e platelmintos. As formas de resistência conservam sua capacidade infectante por longos períodos de tempo contribuindo para a ocorrência de um significativo número de transmissões (CARVALHO et al., 2002).

*Cryptosporidium spp*, *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* são protozoários que causam frequentemente doenças gastrointestinais consideradas como grave problema para a saúde pública. Tais organismos podem estar presentes em águas superficiais, também em água potável e tratada, na forma de oocistos (*Cryptosporidium spp.*) e cistos (*Giardia lamblia* e *Entamoeba histolytica*), indicando contaminação fecal (MONS, 2009). São transmitidos por via orofecal, sendo considerados importantes agentes de doenças diarréicas de veiculação hídrica, em humanos e animais em todo o mundo (REYNOLDS et al., 2008).

A contaminação de ambientes utilizados para a recreação da população constitui grave problema de saúde pública, devido à possibilidade de transmissão de parasitoses como ascaríase, teníase, ancilostomíase e, em especial, doenças como a larva *migrans* visceral e a larva *migrans* cutânea que, devido à peculiaridade do ciclo biológico de seus agentes etiológicos e agregadas à proximidade existente entre seres humanos e animais de estimação, se tornam agentes de doenças relativamente importantes, sob a ótica epidemiológica. Essas parasitoses podem ainda afetar o equilíbrio nutricional das crianças e gerar complicações como: obstrução intestinal, prolapso retal, distúrbios neurológicos e depauperamento físico e mental (ARAÚJO, 2008).

A exposição das matrizes ambientais, como água e areia contaminados por bioindicadores fecais, está associada à ocorrência de doenças em humanos, como por exemplo, as doenças intestinais. Sendo a gastroenterite a doença mais comum, que, associada à água poluída por esgoto, pode apresentar um ou mais dos seguintes sintomas: enjôo, vômitos, dores de estômago, diarreia, cefaléia e febre, podendo ocorrer outras manifestações, como infecções dos olhos, ouvidos, nariz e garganta (BONILLA et al., 2007).

A contaminação do solo por matéria fecal humana e animal é fator de transmissão das geohelmintoses. Souza et al. (2007), verificaram a presença de ovos e/ou larvas de geohelminthos em amostras de terra provenientes de praças públicas da zona sul da cidade do Rio de Janeiro, onde evidenciaram ovos de *Ascaris* sp. e *Toxocara* sp. na maioria das praças estudadas demonstrando grande contaminação do solo com matéria fecal e indicando um elevado risco de infecção por geohelminthos para a população humana

O diagnóstico de certeza de um processo infeccioso é dado pela demonstração da presença do parasito ou de seus produtos no organismo do hospedeiro. Entretanto, nem sempre é possível ou fácil de comprovar a existência do parasitismo (REY, 2001).

Segundo Rey (2001), os métodos imunológicos diretos e indiretos têm sido muito empregados, para detectar antígenos, anticorpos ou imunocomplexos relacionados com a existência da infecção parasitária. Esses métodos se caracterizam pela simplicidade e rapidez de execução, possibilidade de automação e baixo custo operacional. Podem ser aplicados em pacientes para o diagnóstico diferencial entre as doenças com quadros clínicos semelhantes que possam estar sendo causa do processo patológico, bem como nos inquéritos epidemiológicos.

A pesquisa de anticorpos em uma população, ou em amostras representativas, tem sido utilizada com frequência para determinar a prevalência de uma parasitose. No entanto, os testes imunológicos devem ser devidamente interpretados para evitar falhas e falsos resultados que podem decorrer da variação antigênica do patógeno ou da resposta imune do hospedeiro (REY, 2001).

Com o intuito de superar vieses metodológicos, como baixa sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade, diversas novas técnicas vem sendo propostas, entre elas, o ensaio imunoenzimático ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Essa abordagem combina a especificidade de um anticorpo com a sensibilidade de um ensaio enzimático. Recentemente, em função da rapidez e precisão elevadas, o ELISA tem sido

amplamente utilizado, com seus resultados balizando tomadas de decisão importantes para políticas de saúde pública e ambiental.

As principais fontes deste tipo de poluente marinho são os canais de maré, que fazem a conexão de lagunas e da drenagem adjacente ao mar e as línguas negras (que são causadas pelas galerias de águas pluviais que desembocam nas areias das praias). A formação das línguas negras ocorre principalmente quando há contribuição de esgoto clandestino ou após fortes chuvas, quando o lixo, fezes de animais e todo tipo de resíduos dos logradouros públicos são carregados pelas águas da chuva inicial de lavagem para as galerias de águas pluviais (BOUKAI, 2000). Outra fonte significativa deste poluente marinho são os emissários submarinos, que deságuam grande parte do esgoto urbano da cidade em áreas mais afastadas da costa e que em determinadas condições ambientais (meteorológicas e oceanográficas) essas águas chegam ao litoral, comprometendo a qualidade ambiental das praias.

Outros fatores que são indicados como sendo os responsáveis pela perda de qualidade da balneabilidade das praias, dentre eles: Concentração urbana na zona costeira; baixos índices de educação sanitária e ambiental; baixa eficiência no controle das fontes poluidoras; ligações clandestinas de esgotos; baixa cobertura de rede de esgoto e pouco envolvimento da sociedade na solução dos problemas ambientais costeiros (AURELIANO, 2000).

A presença do patógeno *Escherichia coli* é fortemente associada à gastroenterite em pessoas que utilizam a água para nadar; os organismos das espécies *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* foram também associados como responsáveis por doenças em banhistas, principalmente os que apresentam baixa imunidade (SATO et al., 2005).

### **2.2.2- Legislações Brasileiras sobre a Qualidade da Areia**

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) recomendou aos órgãos ambientais a avaliação da qualidade parasitológica e microbiológica da areia para futuras padronizações, por meio da Resolução N°. 274/00 no oitavo artigo, que classifica as águas em doces, salobras e salinas destinadas à balneabilidade. Por aquela ocasião a Secretaria Municipal de Meio Ambiente da Cidade do Rio de Janeiro (SMAC) editou a resolução n° 081/00, contudo esta tinha caráter provisório de dois anos e tratava apenas das condições bacteriológicas, não realizando análise para fungos e parasitos, e



não estabelecia indicadores e os respectivos limites para estes microrganismos, os quais também são importantes patógenos de areia. A lei Municipal do Rio de Janeiro Nº 3.210 de 5 de abril de 2001, classifica a areia como imprópria, quando a mesma apresenta larvas e ovos de parasitos em quantidade e qualidade que possam provocar risco à saúde humana. Segundo SARQUIS (2003) poucas são as referências sobre a microbiota específica da orla litorânea brasileira, e da sua areia de praias. Apesar do órgão ambiental municipal do Rio de Janeiro ter sido de vanguarda na edição de normatizações de avaliação e monitoramento da qualidade sanitária das areias das praias do RJ, mesmo com a edição da nova resolução Nº 468/10 da SMAC, após trabalho realizado por uma empresa terceirizada (COHIDRO CONSULTORIA ESTUDOS PROJETOS) que acompanhou por 4 anos apenas a qualidade sanitária bacteriológica das areias de 23 praias do RJ (10 de 35 pontos de coletas são nas praias e ilhas pertencentes a Baía de Guanabara) (Tabela 1) em moldes metodológicos semelhantes aos feitos na antiga resolução. Não sendo realizada a avaliação das condições sanitárias quanto à presença de fungos, parasitos e vírus, como era esperado. Portanto, a resolução ainda está incompleta do ponto de vista microbiológico e há ainda uma série de ressalvas para serem feitas pela comunidade científica, que apesar do espaço temporal entre a antiga resolução e a nova, metodologicamente não foram incorporadas aos avanços científicos nesta área. Ressalta-se a importância de padrões nacionais, que deveriam ser editados pelo órgão superior brasileiro, o CONAMA, como ocorre nos países desenvolvidos, que normatizariam os padrões sanitários de avaliação da qualidade sanitária desses espaços de uso pela população.

#### **2.2.2.1 – No Município do Rio de Janeiro**

A Lei Orgânica Municipal do Rio de Janeiro No 3210/2001 criou a obrigatoriedade da divulgação da qualidade da areia das praias, e em seu artigo 9 garante a participação da coletividade na formula de políticas publicas e nos planos e programas. E no artigo 464 estabelece que a população deve ser informada pelo poder executivo com sinalização de advertência sobre a existência de perigo para a saúde nos locais de despejos de esgoto sanitário, industrial ou patógenos. Contudo devido a inúmeras ligações clandestinas nem sempre isso ocorre, e por este motivo o

monitoramento dos ecossistemas constituem elementos de grande importância para cumprir este direito do cidadão carioca.

Descrição da lei orgânica do Município do Rio de Janeiro - *Capítulo II – Dos Direitos Fundamentais no Art. 9º: “O Município assegurará e estimulará, em órgãos colegiados, nos termos da lei, a participação da coletividade na formulação e execução de políticas públicas e na elaboração de planos, programas e projetos municipais”. E no Capítulo VI - Do Meio Ambiente, na seção II Do Controle e da Preservação do Meio Ambiente, no Art. 464 – “O Poder Executivo é obrigado a manter a sinalização de advertência nos locais de despejo de esgotos sanitários, industriais ou patológicos, com o fim de esclarecer a população sobre a sua existência e os perigos à saúde”.*

De acordo com a Lei 2.358/95 é proibido à presença de cachorros nas areias das praias, mas por falta de fiscalização e de educação ambiental não existe consciência do risco que essa atitude pode trazer à saúde de seus frequentadores. E também verifica-se que na maioria das vezes os animais que mais oferecem risco nesses ambientes não são os que possuem uma casa e um dono que cuida deles e os mantém saudáveis, e sim os animais de rua, que são responsabilidade do estado e que são os mais observados nas praias e praças. E pouca fiscalização de controle de zoonoses é observada em relação aos animais sobre a responsabilidade do estado, sendo geralmente frequentes na observação de campo em areias das praias, ratos, pombos, urubus, cães e gatos.

A avaliação das condições sanitárias de areia para os padrões colimétricos é realizada pela SMAC através da Resolução N° 468/2010.

A Resolução N° 468/2010, estabelece limites máximos para classificação das areias para recreações de contato primário, não recomendando o contato com areias nas quais tenham sido determinadas concentrações superiores a 3800 UFC *E. coli* por 100 g. A escolha desse valor foi baseada nos resultados das análises realizadas na areia de uma praia considerada limpa e sem influência de urbanização.

A tabela 1 apresenta os padrões estabelecidos nesta Resolução, expressos em UFC/g de areia.

**Tabela 1:** Classificação para Coliformes totais e *Escherichia coli* segundo modificação a partir da Resolução N° 468/2010, da Secretaria Municipal de Meio Ambiente da Cidade do Rio de Janeiro, dados expressos em UFC/g.

<b>Classificação</b>	<b>Coliformes totais</b>	<b><i>E. coli</i></b>
Ótima	0 a 46,14	0 a 0,18
Boa	46,15 a 92,29	0,19 a 1,85
Regular	92,30 a 138,44	1,86 a 17,54
Não recomendada	> 138,44	> 17,54

Fonte: Resolução Resolução N° 468/2010 modificada baseada nos dados do trabalho de Gronewold e Wolpert (2008).

### **2.2.2.2 – No Estado de São Paulo**

Existem dificuldades de associação entre a ocorrência dos patógenos em seus limites permitidos, com a obtenção de dados precisos sobre o aparecimento da doença na população, poucos são os estudos a cerca do potencial risco à saúde associado com exposição à areia de praia (REGO, 2010).

A partir da ausência de uma legislação nacional para areia com relação à parte parasitológica e microbiológica. Foi criado em São Paulo, o Projeto de lei N° 14.366, de 15 de março de 2011, onde inclui no monitoramento das praias a análise periódica da qualidade da areia das praias do litoral, dos rios e represas do Estado de São Paulo.

### **2.2.2.3- Padrões Internacionais**

O estudo realizado por Mendes et al. (1993), em Portugal, propôs valor de 100.000 UFC de coliformes fecais em 100 g de areia e 10.000 UFC em 100g de Enterococos. Em 2008 uma organização não governamental europeia, a Associação Bandeira Azul da Europa (ABAE, 2008), propôs Valores Máximos Admissíveis para *E. coli* e Enterococos de 2000 UFC em 100g de areia seca.

### **2.2.3- Legislações Brasileiras sobre Qualidade da Água**

A qualidade ambiental das praias tem adquirido uma relevância crescente. Apesar de nos últimos anos a legislação ter evoluído no sentido do ordenamento da

zona costeira e do tratamento de águas residuais, o único indicador da qualidade relacionado com a saúde pública que pode permitir uma escolha orientada, é a qualidade da água para fins de balneabilidade (PINTO, 2010).

A utilização do termo balneabilidade refere-se ao uso das águas para recreação de contato primário (natação, mergulho, esqui-aquático, etc), sendo este entendido como um contato direto e prolongado com a água, onde a possibilidade de ingerir quantidades apreciáveis de água é elevada. Estas águas devem ser sistematicamente monitoradas por análises físico-químicas e/ou microbiológicas, com a intenção de avaliar sua qualidade, proteger a saúde e assegurar o bem-estar humano (CETESB, 2004).

O parâmetro indicador básico para a classificação das praias quanto à sua balneabilidade em termos sanitários é a densidade de coliformes fecais onde diversos são os fatores que condicionam a presença de esgotos nas praias, tais como: sistemas de coleta e disposição de despejos gerados nas proximidades, afluência turística durante períodos de temporada, fisiografia da praia, ocorrência de chuvas, entre outros (CETESB, 2004).

Estudos desenvolvidos por Boehm et al. (2002) dizem que a qualidade microbiana da água muda rapidamente, seus resultados demonstraram que esta é afetada por uma série de fatores complexos, tanto locais quanto externos, e que recomendações baseadas em organismos que requerem no mínimo 24 horas de desenvolvimento, são suficientemente demoradas para se realizar uma intervenção no local.

Em virtude de algumas características do ambiente marinho, tais como, salinidade, sedimentos, condições de maré dentre outras, dificultam o isolamento de bactérias patogênicas. Isso justifica porque algumas pesquisas sobre a contaminação microbiana litorânea se limitam geralmente à determinação das concentrações de bactérias indicadoras da poluição fecal. Sendo o grupo dos coliformes, o mais utilizado nessas pesquisas (RIBEIRO, 2002).

O monitoramento das medidas qualitativas das águas compreende um dos mais importantes instrumentos de gestão ambiental, sendo recomendado na Política Nacional do Meio Ambiente, na Portaria Nacional de Recursos Hídricos e no Plano Nacional de Gerenciamento Costeiro. Essa ferramenta fornece informações à população, à comunidade científica e aos órgãos competentes, que permitem uma percepção integrada da realidade ambiental (INEA 2011; BRASIL, 2000).

No Brasil, há instrumentos específicos para a avaliação da evolução da qualidade das águas, tanto nos principais rios, como em reservatórios, lagoas costeiras,

baías e praias. Em relação aos níveis estabelecidos para balneabilidade, está em vigor, a Resolução CONAMA N° 274 de 29 de novembro de 2000 (Tabela 2). Por meio dessa resolução, as águas são classificadas como própria ou impróprias, a partir do resultado de análises microbiológicas, ou da detecção da presença de esgotos, óleos, graxas, maré vermelha, floração de algas tóxicas, incidência de doenças de veiculação hídrica ou outras que contra-indiquem o contato primário (BRASIL, 2000).

Esta mesma resolução, cita os parâmetros indicadores de qualidade da água de balneabilidade. Nela foram apresentados como indicadores biológicos, os coliformes totais, *E. coli* e Enterococos, sendo classificados de acordo com sua contagem, as águas como excelentes, muito boas, satisfatórias e impróprias. Nela, também é realizada, a recomendação aos órgãos ambientais para futuras padronizações de avaliação das condições parasitológicas e microbiológicas da areia. (BRASIL, 2000).

É de extrema relevância mencionar que os padrões de balneabilidade, estabelecidos pela Agência de Proteção Ambiental (EPA) nos Estados Unidos da América (EUA), só recomendam a detecção de *E. coli* para água doce, APHA em 2005. Por outro lado, no Brasil, a Resolução CONAMA n° 274/00 recomenda o parâmetro *E. coli* para avaliação da qualidade microbiológica de águas doces e salinas, e o parâmetro Enterococos que, nos EUA, é usado para avaliar a qualidade sanitária de ambas as águas; no Brasil, a adoção desse parâmetro se refere apenas a águas marinhas.

**Tabela 2:** Classificação para Coliformes totais e *Escherichia coli* segundo modificação a partir da Resolução N° 274/2000, do Conselho Nacional do Meio Ambiente.

<b>Classificação</b>	<b>CF (termotolerantes)</b>	<b><i>E.coli</i></b>	<b>Enterococos</b>
Excelente	1,15	0,92	0,11
Muito Boa	2,31	1,84	0,23
Satisfatória	4,61	3,69	0,46
Imprópria	11,54	9,22	1,84

Fonte: Dados expressos em UFC/mL. Tabela modificada segundo dados apresentados no trabalho de Gronewold e Wolpert (2008).

### 2.3- Política de Saneamento

Nos últimos anos, tem-se observado que a finalidade dos projetos de saneamento tem saído de sua concepção sanitária clássica, recaindo em uma abordagem ambiental, que visa não só a promover a saúde do homem, mas, também, a conservação do meio físico e biótico (SOARES et al., 2002).

O saneamento como promoção de saúde abrange a implantação de uma estrutura física composta de sistemas de água, esgoto, resíduos sólidos e drenagem, o que caracteriza uma intervenção no meio físico. Mas, também inclui um conjunto de ações de educação para os usuários desses sistemas; um conjunto de políticas que estabeleçam direitos e deveres dos usuários e dos prestadores, assim como articulações setoriais; uma estrutura institucional capaz de gerenciar o setor de forma integrada aos outros setores ligados à saúde e ao ambiente (SOUZA et al., 2007). No Brasil até 2007 não tínhamos uma lei de saneamento em nível federal que indicasse as responsabilidades no setor, para os serviços de água, esgoto, lixo e drenagem, e sobre a participação de investimentos privados no setor. E após 20 anos sem regulação específica, em 05 de janeiro de 2007 foi editada a Lei 11.445 pelo presidente Luiz Inácio da Silva, sendo regulamentada somente em 2010 pelo decreto 7.217 de 21 de junho de 2010. Portanto na nossa história o saneamento ambiental ainda esta sendo construído, pois chegamos a ter um presidente em 1995, Fernando Henrique Cardoso que vetou integralmente uma lei similar a essa.

Para o Instituto Brasileiro de Defesa do Consumidor (IDEC, 2007), a Lei traz vantagens para o setor, uma vez que: contribui para a melhora do planejamento do setor, ao obrigar que o titular do serviço (seja ele o Estado ou o Município) elabore planos de saneamento com metas para sua universalização; exige que a concessão de serviços seja feita só por contrato. A lei contribui para colocar fim a situações em que o serviço é prestado de forma precária, gerando os conhecidos conflitos entre empresas de saneamento e Municípios; torna mais acessíveis as informações sobre tarifas e reajustes; prevê a adoção de mecanismos de controle social como, por exemplo: audiências e consultas públicas para a aprovação dos contratos de licitação e dos planos de saneamento; criação de órgãos consultivos, dos quais poderiam participar usuários e grupos de defesa dos consumidores. O destaque negativo fica por conta da falta de garantia de acesso contínuo aos serviços de saneamento que existia na primeira redação do Projeto de Lei, o qual estabelecia a obrigatoriedade de manutenção de um

suprimento mínimo de água para pessoas de baixa renda e estabelecimentos de saúde, educacionais e de internação coletiva, mesmo em casos de inadimplência. O texto aprovado, no entanto, permite a interpretação de possibilidade de corte no abastecimento de água, por exemplo, desde que haja aviso prévio estabelece as diretrizes nacionais para o saneamento básico e para a política federal de saneamento básico.

O conceito clássico de saneamento básico refere-se à implantação de barreiras sanitárias para evitar o contato entre o agente causal e o hospedeiro, como definido no Plano Nacional de Saneamento (PLANASA). Esse plano, embora tenha relevância não conseguiu garantir a solução para grandes problemas de saneamento, devido à dissociação entre os diferentes componentes, como por exemplo, da coleta e do tratamento de esgoto. A evolução desse conceito está no saneamento ambiental, entendido como uma estratégia que visa à melhoria da qualidade de vida e do perfil de saúde da população, e das condições ambientais da bacia hidrográfica inserida. Esse novo conceito integra a gestão ambiental (de recursos hídricos e de saneamento), como integrantes de uma mesma política (ANDREOLI, 2009). Sendo o saneamento ambiental considerado como pré-requisito para a urbanização, pois o cotidiano da população é diretamente influenciado pelas condições da oferta dos serviços de saneamento, pelo conforto representado pela disponibilidade de água nas residências, pela coleta e pelo tratamento do esgoto, lixo, do manejo das águas fluviais, pela segurança contra cheias, etc.

Problemas decorrentes da falta de infraestrutura sanitária, principalmente nas grandes cidades, agravam problemas como: processos erosivos, aumento do escoamento superficial e inundações, que se tornam mais evidentes nas margens dos rios, ocasionando diversos problemas às pessoas residentes nessas áreas. As políticas adotadas pelos governos no âmbito nacional e regional, através das leis, não dão conta da complexidade das causas e fatores que geram esses problemas socioambientais e, acabam refletindo diretamente na poluição dos recursos hídricos, onde a degradação é mais visível.

As carências de infraestrutura sanitárias no Brasil resultam em fontes de poluição concentrada, que ocasionam à deterioração da água e do solo. A interface entre saneamento e recursos hídricos é estreita, pois os mananciais de fonte de água potável tornam-se vulneráveis à contaminação, assim como a saúde da população. Como esses ambientes degradados podem ser usados como área de recreação, o risco para a

saúde humana é aumentado. A busca de soluções sustentadas em inovações que envolvam a transversalidade do setor de saneamento básico, voltada para as demandas de melhoria de águas de qualidade, de coleta e de tratamento de esgotos domésticos, de soluções para disposição de esgotos e de manejo de resíduos sólidos; implementação de sistemas de reuso de água, minimização do lançamento de resíduos no meio ambiente, rivalizados de forma adequada à saúde pública e à proteção do ambiente.

Visando ações de controle estruturadas da qualidade sanitária da água e do solo utilizadas pela população em áreas de recreação, como praias, praças e campos, devem-se fornecer informações seguras sobre os riscos do uso desses ambientes, seja para balneabilidade ou recreação. É imprescindível ter investimentos para atender essas ações e ampliar o conhecimento científico em todos os aspectos relacionados direta ou indiretamente com o setor. São exemplos dessas ações: definir critérios e indicadores específicos sobre a qualidade sanitária dos ecossistemas, definir padrões de comparação, metodologias seguras e possíveis de darem respostas rápidas aos sistemas de controle, dar cumprimento às normas de monitoramento de fiscalização dos órgãos oficiais competentes visando a redução de tais problemas (texto encaminhado para publicação no Livro de Saneamento, Sotero-Martins et al, 2012 *in press*).

### **2.3.1- Classificação de algumas doenças no contexto ambiental**

Segundo Heller (1997) os países em desenvolvimento, entre os quais o Brasil, entraram no terceiro milênio ressuscitando patologias do início do século XX. A ausência de serviços de saneamento tem resultado em precárias condições de saúde de uma parte significativa da população brasileira, com a incidência de doenças, destacando-se as de veiculação hídrica, tais como diarreias, hepatite, cólera, parasitoses intestinais, febre tifóide, entre outras (Quadro1).

As doenças de veiculação hídrica são causadas principalmente por microorganismos patogênicos de origem entérica, animal ou humana, transmitidas basicamente pela rota fecal-oral, ou seja, são excretados nas fezes de indivíduos infectados e ingeridos na forma de água ou alimento contaminado por água poluída com fezes (AMARAL et al., 2003).



**Quadro 1:** Classificação ambiental das infecções relacionadas com a água. Fonte: Adaptada de CAIRNCROSS e FEACHEM (1990).

CATEGORIA	INFECÇÃO
<b>Feco-oral (transmissão hídrica ou relacionada com a higiene)</b>	Disenteria amebiana Enterite campylobacteriana Cólera Diarréia por <i>Escherichia coli</i> Giardíase Diarréia por rotavírus Salmonelose Disenteria bacilar Febres entéricas Febre tifóide Febre paratifóide Poliomielite Hepatite A Leptospirose Ascaridíase Tricuríase
<b>Baseada na água - Por ingestão</b>	Difilobotríase e outras infecções por helmintos
<b>Transmissão através de inseto vetor-Propagam na água</b>	Filariose Malária Febre amarela Dengue Leishmaniose

#### 2.4- Parasitos como indicadores de contaminação ambiental propostos na literatura

Nos últimos anos, trabalhos desenvolvidos têm documentado a contaminação de areia por ovos de diferentes helmintos com potencial zoonótico (DUNSMORE; THOMPSON, 1984).

Guimarães et al. (2005) em inquérito epidemiológico, observaram contaminação por ovos de *Toxocara sp.* e ovos e larvas de *Ancylostoma sp.* em amostras de solos coletadas de praças públicas e de áreas de recreação infantil em Lavras, Estado de Minas Gerais, por meio da técnica de centrífugo-flutuação e do método de Baermann (Baermann - Moraes). Como principais resultados, uma ocorrência de 69,9% das amostras foram consideradas positivas para ambos os helmintos.

Silva et al. (2009) realizaram um monitoramento parasitológico nas areias da praia de Porto de Galinhas, PE. Os resultados indicaram elevada contaminação das amostras coletadas, conferindo positividade em 38%, destacando o envolvimento de ovos de

*Ancylostoma sp.*, *Toxocara canis*, *Trichuris sp.* e *Ascaris sp.* como principais agentes contaminantes. Resultados similares foram verificados por Blazius et al. (2006) onde observaram contaminação da areia do Balneário de Laguna, Santa Catarina, por ovos de *Ancylostoma spp.* e *Toxocara spp.*, a partir de amostras fecais de cães e gatos. Neste estudo, os autores destacam a importância de desenvolver e implantar medidas efetivas voltadas principalmente na conscientização de proprietários em limitar o acesso desses animais em lugares considerados de risco e da necessidade de realizar periodicamente exames parasitológicos proporcionando um melhor estado sanitário nos animais e da coleta das fezes nestes lugares.

Matesco et al. (2006) avaliaram a contaminação sazonal por diferentes ovos de helmintos na praia de Ipanema, em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Das 60 amostras de areia coletadas na praia de Ipanema (oito amostras) apresentaram-se positivas para ovos de helmintos com maior prevalência para *Ascaris*.

Santarém et al. (1998), também estudaram a variação sazonal como agentes determinantes na prevalência de ovos de helmintos em parques e praças públicas de Botucatu, São Paulo, verificando maior recuperação de ovos de *Toxocara spp* nos meses da primavera e do verão.

Embora haja nos últimos anos um aumento de estudos voltados para contaminação de areia por parasitos, este tema ainda é pouco explorado na caracterização do monitoramento parasitológico das areias de praias do Rio de Janeiro. E em virtude disso, os resultados deste estudo poderão contribuir na padronização de métodos para diagnósticos parasitológicos das areias.

## **2.5- Helmintos**

Integra a Classe Nematoda, organismos que apresentam corpo cilíndrico, filiforme ou fusiforme, com extremidades frequentemente atenuadas, simetria bilateral e sexos separados com acentuado dimorfismo sexual. Presença de um sistema digestivo completo, com comprimento do corpo variando de poucos milímetros a mais de metro (Travassos, 1937). Apresentam ainda, uma cutícula altamente resistente e impermeável, o qual representa uma excelente adaptação contra a dessecação e as variações ambientais, favorecendo a sua dispersão e a colonização de vários tipos de ambientes. (WILLIS, 1976).

Na extremidade anterior, encontra-se a boca o qual varia em tamanho e formato, podendo ainda ser simples ou guarnecida de lábios, interlábios, coroa radiada e papilas bucais.

Nas fêmeas a abertura vaginal ocorre frequentemente na região mediana do corpo, podendo apresentar pregas circulares (vulva), apresentando sua extremidade posterior cônica e alongada. Nos machos podem existir expansões cuticulares de natureza muscular sendo tecnicamente denominado de bolsa caudal ou copuladora, que passam a ser sustentadas por raios (dorsais e laterais). Presença de espículos, bem como, gubernáculo podem também representar aspectos morfológicos relevantes no diagnóstico das espécies (KLOSS et al., 1959).

Geo-helmintos são aqueles cujo ciclo evolutivo, em parte, ocorre predominantemente no solo (que por sua vez podem ser fonte de infecção, contendo larvas infectantes ou ovos) prescindindo de outro hospedeiro além do homem (MELLO, 2010).

De uma maneira geral, os ovos dos geo-helmintos necessitam de um ambiente propício: boa oxigenação, alta umidade e temperatura entre 20°C e 30°C. Essas condições são indispensáveis para que se processe a embriogênese, a formação da larva, e em alguns casos, a eclosão da larva no meio ambiente (MELLO, 2010).

O solo úmido e sombreado torna-se favorável à prevalência e ao desenvolvimento embrionário de ovos, que, em condições favoráveis, permanecem infectantes no solo por vários meses (OMS, 2006).

Mãos e unhas sujas de terra, alimentos contaminados por mãos que tocaram o solo, água ou alimentos contaminados com poeira ou com as próprias fezes e ainda penetração de larvas infectantes através da pele são as principais formas de transmissão da população por esses parasitos (GOMES et al., 2002). A dispersão de ovos também pode ser feita pelas chuvas, pelos ventos ou por insetos coprófilos (THYSSEN et al., 2004).

Os helmintos transmitidos pelo solo produzem um grande número de sintomas que incluem: manifestações intestinais (diarréia, dor abdominal), fraqueza e mal estar geral, que podem afetar o trabalho, a capacidade de aprendizagem e o crescimento. Os Ancilostomídeos causam perda sanguínea intestinal crônica que resultam em anemia. Assim, as doenças transmitidas através do solo são consideradas como um dos mais sérios problemas de saúde pública em virtude dos efeitos que causam na população, alta prevalência e distribuição praticamente mundial (MELLO, 2010).

Os ovos dos parasitos atingem o solo através de dejetos humanos ou animais infectados. Assim, após a maturação, podem atingir o hospedeiro por meio da ingestão dos ovos ou através da penetração por via cutânea. Dentre as espécies que infectam o homem destacam-se os geohelminthos: *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus* e *Strongyloides stercoralis* (ANARUMA, 2002).

### **2.5.1- *Ascaris sp.* (Linnaeus, 1758)**

*Ascaris lumbricoides* é um parasito intestinal, característico da espécie humana e de alguns outros primatas.

Dentre os parasitos intestinais *A. lumbricoides* é o de maior prevalência na população mundial, infectando bilhões de pessoas em todo mundo (O'LORCAIN e HOLLAND, 2000).

Na maioria das vezes a ascaríase é assintomática, não trazendo maiores complicações. A ação patogênica pode ser desenvolvida durante a migração das larvas, podendo ocorrer hemorragias, pneumonia difusa ou lobar e crises de asma (REY 2008).

Casos mais graves estão relacionados a localizações ectópicas das larvas podendo atingir o sistema nervoso. Já no intestino os sintomas mais comuns são dores abdominais, náuseas, perda de apetite, emagrecimento, irritabilidade; quadros de obstrução intestinal podem ocorrer quando altas cargas parasitárias estão presentes (O'LORCAIN e HOLLAND, 2000). Porém, esses casos mais graves são muito raros e acometem na maioria das vezes crianças que se apresentam mal nutridas e com outros problemas associados (REY, 2008).

Estima-se que *A. lumbricoides* infecte 1/4 da população mundial (CROMPTON, 1999). Em suínos encontra-se a espécie *Ascaris suum*, muito semelhante morfológicamente e molecularmente a *A. lumbricoides*. Ainda hoje se discute se estas espécies são realmente diferentes (ANDERSON, 2001). Regiões endêmicas que usam como fertilizantes fezes de suínos tais como a China, têm apontado interesse em entender principalmente a epidemiologia molecular da infecção, pois infecções cruzadas entre as espécies de *Ascaris sp.* humanos e suínos têm sido registradas, o que pode representar um problema para os programas de controle da ascaríase (O'LORCAIN e HOLLAND, 2000). Uma vez que a resistência a anti-helmínticos nas espécies animais vem aumentando progressivamente, há a preocupação da aquisição de isolados

resistentes à medicação pela população humana e conseqüentemente o potencial do surgimento de uma zoonose nestas regiões (COLES et al., 2006).

E, não obstante, os conhecidos fatores comuns à maioria das outras helmintíases, os quais em sua maioria seriam evitáveis com medidas preventivas de baixo custo, continuam a sobrecarregar os sistemas de saúde, acarretando gastos maiores, pois por muitas vezes os pacientes já se encontram em um estágio agravado da doença. Além de sintomas não tão evidentes fisicamente, mas que afetam, por exemplo, o rendimento escolar de crianças e nos adultos o desempenho no trabalho (O'LORCAIN e HOLLAND, 2000).

### **2.5.1.1- Morfologia e Ciclo de Vida**

Integram estes táxons nematoides de grande porte, com asas cervicais ausentes, interlábios presentes ou não, apresentando um esôfago do tipo claviforme. Machos sem projeções digitiformes e as asas caudais quando presentes são pequenas.

Biologicamente, tais parasitos caracterizam-se por apresentar um ciclo de vida homoxeno, envolvendo a participação de um único hospedeiro. São parasitos intestinais, onde ovos formados após a cópula são eliminados juntamente as fezes do hospedeiro. (Figura 1). No ambiente, dependendo de fatores extrínsecos favoráveis, estágios L<sub>1</sub> presentes no interior dos ovos iniciam processo de desenvolvimento até alcançarem o estágio L<sub>3</sub>. O hospedeiro se infecta ao ingerir acidentalmente ovos contendo o estágio L<sub>3</sub>. Esta é, em geral, a fase mais crítica da sobrevivência da espécie, devido à sua exposição a inúmeros fatores de risco, à alta mortalidade e à expectativa de vida quase sempre muito curta do estágio larvário infectante (REY, 2003).

Nesse contexto, areias de praias e amostras de solo podem conter uma grande variedade de ovos de helmintos provenientes das fezes de humanas e animais, representando risco constante de infecção. Assim, a correta identificação dos ovos de helmintos é fundamental para melhor entender o cenário epidemiológico local, bem como, atuar no desenvolvimento de medidas de prevenção e controle.

O principal critério utilizado na identificação de ovos de helmintos se baseia principalmente nas suas características morfológicas e de tamanho. Para tal, torna-se indispensável proceder à medição exata dos ovos utilizando-se um microscópio calibrado, de forma a se conseguir a correta identificação e diferenciação dos ovos de helmintos presentes na amostra.

No caso do gênero *Ascaris* os ovos férteis frequentemente apresentam um tamanho que varia entre 55 a 75  $\mu\text{m}$  x 35 a 50  $\mu\text{m}$ , apresentando como principais características morfológicas: forma: esférica ou oval; cor: castanho-amarelada; possui membrana mamilonada; casca espessa.



**Figura 1:** Ovos férteis de *Ascaris lumbricoides* (Fonte: Ayres e Maya, 1996).

### 2.5.2 *Trichuris* sp. (Roederer, 1761)

*Trichuris* sp. é um nematóide intestinal da família Trichocephalidae e infecta principalmente a espécie humana e outros grandes primatas (REY, 2008).

A maioria dos pacientes é assintomática. Os casos mais graves estão principalmente ligados à carga parasitária, que irá depender de condições como a imunidade do indivíduo, questões de ordem nutricional, dentre outras. Em infecções consideradas intensas uma fêmea pode eliminar até 20.000 ovos. Geralmente a população parasitária dentro do hospedeiro não passa de dez indivíduos, mas há registros de até 1.000 vermes. Mesmos em casos sintomáticos, geralmente o quadro não passa de dores abdominais e diarreias. Porém há registros de casos de prolapso retal, e por este parasito viver aderido ao intestino condições de anemia podem ser potencializadas (STEPHENSON et al., 2000).

#### 2.5.2.1- Morfologia e Ciclo de Vida

Os parasitos pertencentes a esse grupo caracterizam-se por apresentar um corpo longo com a porção posterior mais espessa do que a anterior. Apresentam esôfago longo com a porção anterior curta de natureza muscular e sua porção posterior longa e

glandular. Parasita a porção distal do intestino, principalmente o ceco envolvendo a participação de um único hospedeiro caracterizando um ciclo homoxeno.

Os vermes adultos medem de 3 a 5 cm de comprimento, os machos são um pouco menores que as fêmeas e a parte posterior do macho é enrolada em espiral. A parte anterior é mais delgada e longa que a caudal, aparentando um chicote. Na parte anterior está a boca, que é provida de um estilete e esôfago, e na posterior intestino e órgãos reprodutores. O tamanho dos ovos varia entre 50 e 55µm de comprimento por 22 a 23µm de largura. O ovo tem um aspecto bem característico com formato de um barril, composto por três cascas visíveis a microscopia óptica: a externa, mais espessa e de cor castanha por estar impregnada de material fecal e duas cascas internas, mais claras e de aspecto hialino (REY, 2008).

*Trichuris vulpis* infecta cães, raposas e coiotes e apresentam uma distribuição mundial. Após a cópula, ovos não embrionados são ovipostos no lúmen intestinal e em seqüência eliminados junto ao conteúdo fecal contaminando o ambiente. Morfologicamente os ovos apresentam um formato típico de barril, biopéculado, com uma coloração acastanhado e uma dupla membrana (Figura 2).



**Figura 2:** Ovos férteis de *Trichuris vulpis* (Fonte: Ayres e Maya, 1996).

### 2.5.3- Ancilostomídeos

A Larva *Migrans* Cutânea (LMC) também conhecida popularmente como “bicho geográfico” ou “bicho das praias” é uma dermatite parasitária causada pela penetração e migração de Ancilostomídeos no estrato epitelial da pele humana (Figura 3). Em função dos humanos serem hospedeiros acidentais, as formas larvais não conseguem finalizar o

seu ciclo, podendo permanecer migrando na epiderme por várias semanas (PERUCA, 2009).



**Figura 3:** Migração de Ancilostomídeos no estrato epitelial da pele humana. Fonte: <http://www.abcdasaude.com.br>

No Brasil, esta síndrome é causada principalmente pelo agente etiológico *Ancylostoma braziliense*, parasito normal do intestino de cães e gatos. Mas outros helmintos já foram encontrados produzindo esse quadro, como é o caso do *Ancylostoma caninum* (REY, 2008).

### 2.5.3.1- Morfologia e Ciclo de Vida

Esses parasitos apresentam uma cápsula bucal com uma boca guarnecida de 1 a 4 pares de dentes em sua porção ventral. O macho apresenta espículos iguais e longos com o gubernáculo presente. A cápsula bucal é profunda e infundibular.

A espécie *A. braziliense* apresenta uma boca com 2 pares de dentes e um par de dentes triangulares localizados no fundo da cápsula infundibular. São parasitos de intestino delgado de cães e gatos, que uma vez infectados eliminam junto às fezes ovos não embrionados. No ambiente, dependendo de condições ambientais favoráveis ocorre a embriogênese originando o estágio L<sub>1</sub>. Após sua formação, o estágio L<sub>1</sub> eclode do ovo e no solo se desenvolve até alcançar o estágio L<sub>3</sub> que configura a forma infectante ao hospedeiro definitivo (REY, 2008).



Os ovos de ancilostomídeos (Figura 4) são muito parecidos, ovoides ou elípticos, de casca fina e transparente. O tamanho médio do ovo mede cerca de 60  $\mu\text{m}$ . Entre a casca e a célula-ovo há sempre um espaço claro que diminui à medida que avança a segmentação (REY, 2008).

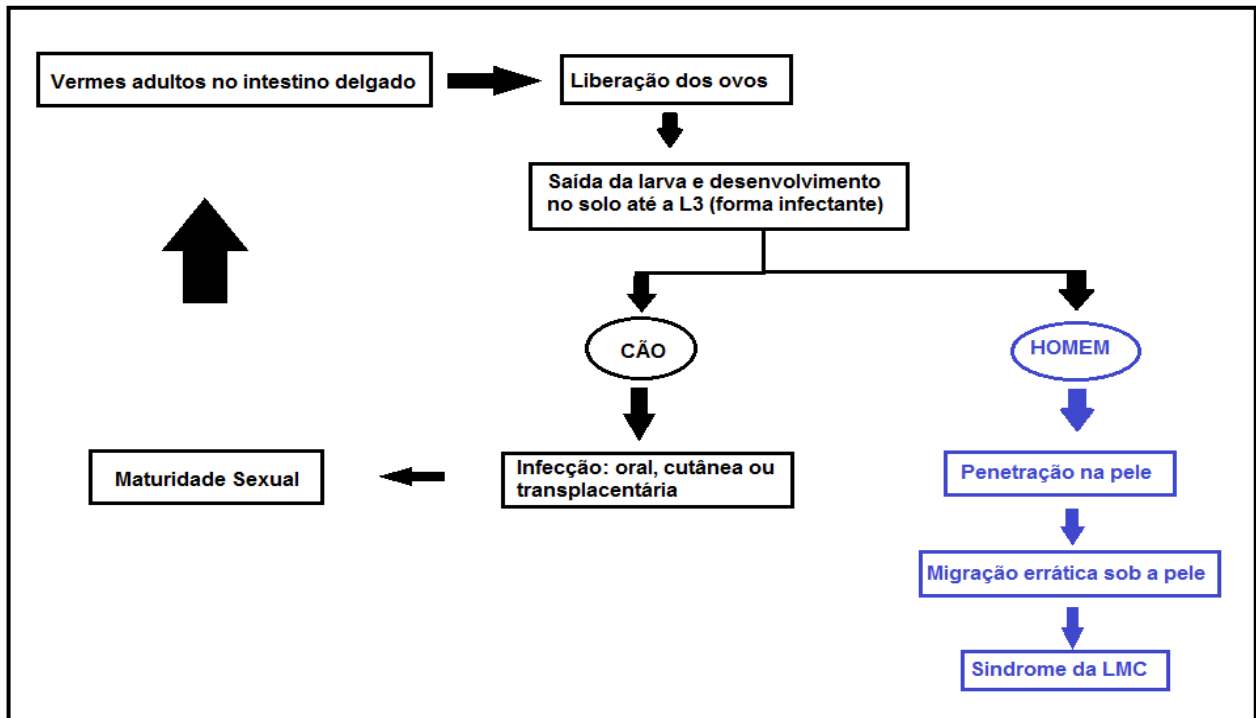
As larvas infectantes mostram-se alongadas e cilíndricas cujo comprimento pode variar entre 500-600  $\mu\text{m}$ . Apresentam uma cauda pontiaguda e uma bainha estriado. (Figura 5). Atua como o principal agente etiológico da larva *migrans* cutânea no qual o homem é considerado hospedeiro acidental e se infecta a partir do contato direto estabelecido entre sua pele com a larva (ACHA e SZYFRES, 1986).



**Figura 4:** Ovo de ancilostomídeo em fase de embrionamento (Fonte: Rey, 2008).



**Figura 5:** Larva de terceiro estágio de *Ancylostoma braziliense* (Fonte: <http://www.dpd.cdc.gov>).



**Figura 6:** Vias de desenvolvimento do *Ancylostoma sp* no cão e no homem. No cão (em preto - ciclo completo) e no homem (em azul - ciclo incompleto). Fonte: Adaptada de Mello, 2010.

Apresentam um ciclo monóxico tendo nas larvas de terceiro estágio (L<sub>3</sub>) as formas infectantes para o hospedeiro (cão e gato), que penetram ativamente pela pele, migrando posteriormente pelo tecido subcutâneo (NEVES, 2000).

Segundo Mello (2010) os animais apresentam o parasito na forma adulta, que por sua vez, eliminam uma grande quantidade de ovos através das fezes. No meio exterior completam o seu ciclo biológico. Se as larvas atingirem os humanos, não completarão o seu ciclo evolutivo, permanecendo erráticamente migrando sob a pele (Figura 6).

A penetração ativa das larvas infectantes através da pele pode passar despercebida ou, nas pessoas sensibilizadas, acompanhar-se de prurido, eritema ou pápulas.

Estas larvas por sua vez, perfuram o estrato epitelial, vagando entre a epiderme e derme, formando túneis que desenham um percurso irregular, podendo avançar 2 a 5 cm por dia. O túnel corresponde à destruição da camada de Malpighi, tendo o derma por assoalho e envolvido por inflamação com eosinófilos e mononucleares (REY, 2008).

Podem ser localizadas em qualquer parte da superfície do corpo, mas principalmente nas regiões onde a pele entra em contato com o solo como pés, pernas, coxas, nádegas e mãos (REY, 2008).

#### 2.5.4- *Toxocara sp.*

*Toxocara canis* (Werner, 1782) e *Toxocara cati* (Zeder, 1800), são nematóides da família Ascaridae que parasitam respectivamente cães e gatos. Esses animais são considerados os hospedeiros definitivos.

A Larva *migrans* visceral é uma zoonose que acomete o homem através da ingestão acidental de ovos presentes em ambiente contaminado. Essas larvas eclodirão no intestino e migrarão pela via linfática ou circulação portal para diversos órgãos, principalmente fígado e pulmões, ocasionalmente, coração e sistema nervoso central, originando a síndrome Larva *migrans* visceral, ou afetando o globo ocular e gerando a síndrome Larva *migrans* ocular (SANTARÉM et al., 1998).

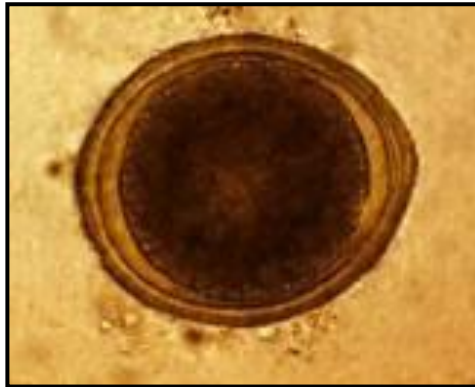
O homem contamina-se com LMV e LMC ingerindo ovos encontrados em alimentos, água, areia, por esse motivo deve-se adotar medidas educacionais sanitárias, desativação e isolamento dos locais para reduzir acesso de animais em locais públicos recreativos (SANTARÉM et al., 2004).

##### 2.5.4.1- Morfologia e Ciclo de Vida

Os parasitos desta família apresentam asas cervicais presentes ou ausentes, interlábios ausentes, ventrículo presente. O macho tem uma cauda com projeção tecnicamente denominada de apêndice digitiforme, sendo um aspecto morfológico característico do gênero.

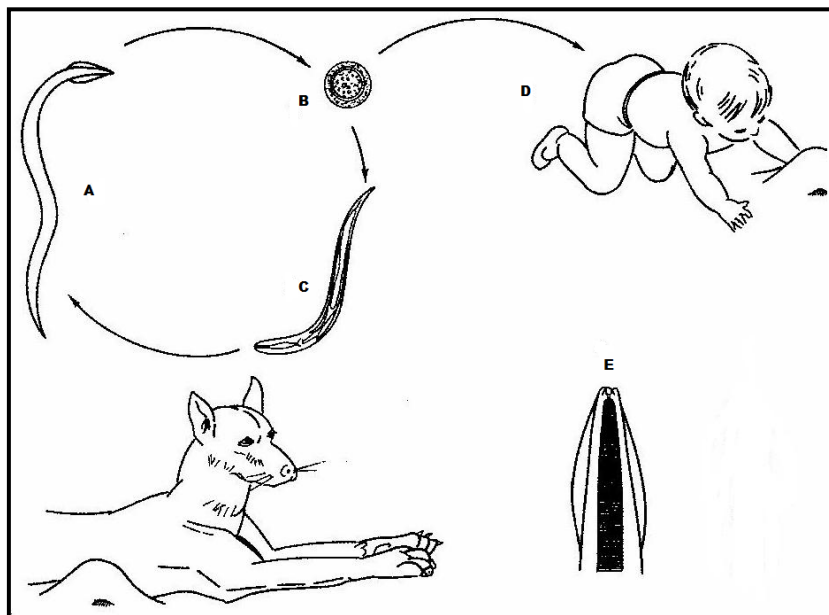
A espécie *T. canis* integram um grupo de nematóide de médio porte, com o macho medindo aproximadamente 10 cm e a fêmea maior e mais robusta medindo em torno de 18 cm. Asas cervicais presentes e pequenas com sua porção posterior delgada. A cauda do macho tem um fino apêndice terminal e papilas sésseis. São parasitos de intestino delgado de cães, que uma vez infectados eliminam junto às fezes ovos embrionados contendo o estágio L<sub>1</sub>, representando a principal forma de infecção para humanos. (FRASSY et al., 2010).

Morfológicamente, tais ovos apresentam um formato esférico, casca espessa e uma coloração que varia entre marrom a castanha podendo permanecer infectantes no ambiente por anos. Medem 80 a 85 µm por 75 µm (Figura 7).



**Figura 7:** Microscopia de luz, demonstrando aspectos morfológicos utilizados na identificação de ovos de *Toxocara canis*. (Fonte: Taira et al., 2003).

O *T. canis* caracteriza-se por apresentar um ciclo biológico direto (Figura 8) envolvendo a participação de um único hospedeiro. Os hospedeiros definitivos uma vez infectados passam a eliminar ovos já embrionados no ambiente, contaminando-o. A forma infectante é representada por ovos contendo larvas de segundo estágio (L<sub>2</sub>) que ao serem eventualmente ingeridos desencadeiam a doença (REY, 2008).



**Figura 8:** Ciclo biológico de *Toxocara canis*. A: Verme adulto que habita o tubo digestivo do cão. B: Ovo. C: Larva infectante que deixa o ovo no tubo digestivo do hospedeiro. D: As pessoas adquirem a larva ficarem em contato com o solo contaminado e ingerir os ovos. E: Extremidade anterior de *T. canis*. Fonte: Adaptado de Rey, 2008.

## 2.6- Protozoários

### 2.6.1- *Giardia sp.*

A *Giardia sp.* apresenta duas formas evolutivas: trofozoíto e cisto. O trofozoíto é a forma vegetativa que habita o intestino delgado do hospedeiro e causa a doença giardíase. O cisto é a forma resistente ao ambiente externo e é transmissível aos hospedeiros susceptíveis (THOMPSON, 2000).

A prevalência de *Giardia sp.* geralmente é mais alta em humanos jovens, em animais jovens, em animais desgarrados e em animais que vivem em abrigos públicos. Os valores de prevalência variam também de acordo com a localidade e tipo de hospedeiro (BURET et al., 2002).

Apesar de *Giardia sp.* ter uma série de hospedeiros, as conseqüências adversas da infecção por ela causada e seu papel patogênico são bem conhecidos em humanos. Seu ciclo de vida simples com uma forma cística resistente ao meio ambiente favorece a transmissão direta de um indivíduo infectado para outro ou indireta por meio da contaminação do ambiente ou do alimento (THOMPSON, 2004).

Cabe ressaltar que a água é um veículo importante de transmissão deste parasito para as pessoas. Como a giardíase é a doença de veiculação hídrica mais freqüentemente diagnosticada, *Giardia sp.* tem importância em saúde pública e é de interesse das empresas de captação e fornecimento de água nos países desenvolvidos e em desenvolvimento (THOMPSON, 2004).

Apesar do conhecimento da transmissão de *Giardia* por via hídrica, a importância em saúde pública dos hospedeiros não humanos infectados como fonte de contaminação de água ainda é uma questão não resolvida, assim como o papel da transmissão zoonótica na epidemiologia das infecções por *Giardia* em humanos (THOMPSON, 2004).

#### 2.6.1.1- Morfologia

As características morfológicas dos cistos e da forma livre, trofozoítos, do gênero *Giardia* são bem definidas e têm sido aceitas por vários autores. O nome genérico *Giardia* foi adotado e o nome giardíase é atribuído à doença causada por este tipo de parasito (MELONI et al., 1993).

Os trofozoítos são piriformes, medindo 10 a 20  $\mu\text{m}$  de comprimento por 5 a 15  $\mu\text{m}$  de largura. Os trofozoítos possuem estruturas celulares duplas na fase vegetativa (dois núcleos, dois axonemas e oito flagelos), com simetria bilateral (Figura 9).

Os cistos (Figura 10) são ovais ou elipsoides, medindo cerca de 8 a 19  $\mu\text{m}$  de comprimento e 7 a 10  $\mu\text{m}$  de largura. Os cistos, quando corados, podem mostrar uma delicada membrana destacada do citoplasma. No seu interior encontram-se dois ou quatro núcleos, um número variável de fibrilas (axonemas de flagelos) e os corpos escuros em forma de meia-lua e situados no polo oposto aos núcleos.



**Figura 9:** Trofozoítos de *Giardia sp.* Fonte: <http://www.cdc.gov>.



**Figura 10:** Cisto de *Giardia sp.* Fonte: <http://www.cdc.gov>.

### **2.6.2- *Cryptosporidium sp.***

Protozoários do gênero *Cryptosporidium* são coccídios reconhecidos como parasitos de mamíferos, aves, répteis, peixes, e anfíbios (FAYER et al., 2008).

O parasito apresenta diferentes formas estruturais. Nas fezes e no meio ambiente encontra-se o oocisto, que é uma estrutura reprodutiva, infecciosa e de resistência. Nos tecidos encontram-se as formas endógenas, os esporozoítos, em número de quatro dentro dos oocistos que são liberados do encistamento logo após a interação com ácidos estomacais e sais biliares do hospedeiro. O ciclo de vida deste protozoário é complexo e possui uma fase assexuada e outra de multiplicação sexuada (NEVES, 2005).

Assim como muitos dos patógenos entéricos, o *Cryptosporidium sp.* é um parasito transmitido pela rota oral-fecal através do contato direto com as fezes de humanos ou animais infectados; ou pela ingestão de alimentos e água contaminados com os oocistos; e ainda via inalação (CACCIO et al., 2005).

A duração e patogenia da criptosporidiose em humanos dependem do estado imune dos indivíduos, variando de diarreia autolimitante grave em indivíduos imunocompetentes, a diarreia crônica e prolongada em pacientes imunocomprometidos, que pode resultar em óbito (ABRAHAMSEN et al., 2004).

Temperaturas extremas afetam a infecciosidade dos oocistos. Como a parede dos oocistos é duplamente constituída de numerosas proteínas e rica em ligações bissulfeto, daí sua elevada resistência ambiental, a desnaturação das mesmas em altas temperaturas pode romper a integridade da parede e expor os esporozoítos a condições prejudiciais à sua sobrevivência (CAREY et al., 2004).

#### **2.6.2.1- Morfologia**

Os oocistos apresentam uma estrutura geralmente esférica de 3 a 6  $\mu\text{m}$  de diâmetro, com membrana externa fina e citoplasma finamente granulado. Amanha negra proeminente, central ou lateral, representa os corpos residuais. Os quatro esporozoítos livres aparecem como pequenas manchas dispostas na periferia em forma de "C". O Núcleo é visto no centro do organismo (Figura 11).



**Figura 11:** Oocisto de *Cryptosporidium sp.* Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

### 2.6.3- *Entamoeba sp.*

*Entamoeba histolytica* é o parasita protozoário responsável pela amebíase. Os sintomas da amebíase aguda incluem diarreia e colite. A doença pode ser patogênica ou não em humanos. O desenvolvimento da doença dependerá da cepa infectante e de peculiaridades relacionadas ao hospedeiro. Sua transmissão se faz por via oral, tendo como principais veículos a água e alimentos contaminados com cistos tetranucleados, que em condições de umidade mantêm-se viáveis por duas a quatro semanas, sendo por isto, considerada a forma de resistência ambiental (SCHUSTER et al., 2004).

Os hospedeiros assintomáticos por não apresentar sintomas da doença, não buscam tratamento, permanecendo na condição de eliminadores de cistos por longo período, contaminando o meio ambiente (SCHUSTER et al., 2004).

#### 2.6.3.1- Morfologia

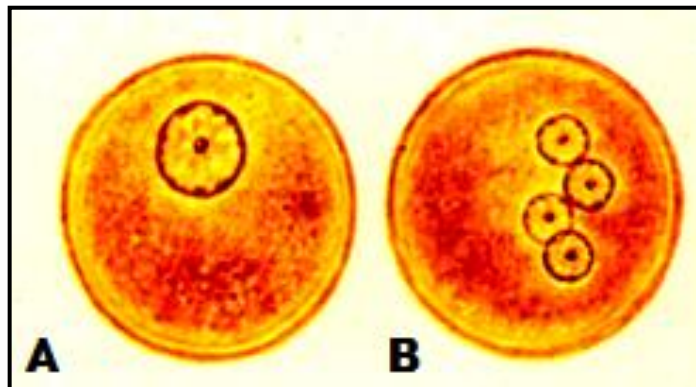
O ciclo biológico desse parasito apresenta dois estágios básicos e bem definidos: trofozoítos e cistos.

Os trofozoítos, ou forma vegetativa, possuem formas e tamanhos variados, medindo entre 10 e 60  $\mu\text{m}$  (Figura 12 A). Apresenta forma amebóide, núcleo com cariossoma central e cromatina periférica distribuída regularmente na membrana nuclear (CORDEIRO et al., 2007).

A forma cística é uma estrutura esférica que apresenta 10 a 20  $\mu\text{m}$  de diâmetro (Figura 12 B). Sua parede é rígida e resistente em virtude da presença de quitina e glicoproteínas. Possui de um a quatro núcleos com as mesmas características dos núcleos dos trofozoítos. No citoplasma dos cistos, observa-se a presença de vacúolos de



glicogênio e de corpos cromatóides em forma de bastonetes com ponta arredondada (CORDEIRO et al., 2007).



**Figura 12:** Trofozoíto (A) e cisto (B) de *Entamoeba histolytica* corados por iodo. Fonte: Rey, 2000.

## 2.7 – Bioindicadores Fecais em Matrizes Ambientais (Água e Areia)

### 2.7.1- Coliformes Totais

Os coliformes totais são bactérias do grupo coliforme, pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, tendo como os principais gêneros: *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus* e *Serratia*, embora vários outros gêneros pertençam ao grupo (VIANA, 2011).

Destes gêneros, apenas a *Escherichia* tem como habitat primário o trato intestinal do homem e dos animais. Os demais gêneros como *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, além de serem encontrados nas fezes, também estão presentes em outros ambientes como vegetais e solo, onde permanecem por bastante tempo ao de bactérias patogênicas de origem intestinal como *Salmonella* e *Shigella* (FRANCO, 2003).

O grupo dos coliformes totais inclui espécies de origem não exclusivamente fecal, podendo ocorrer naturalmente no solo, na água e em plantas (OMS, 1995).

Segundo Rego (2010) outras bactérias patogênicas e não patogênicas como *Campylobacter jejuni*; *Clostridium Perfringens*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Shigella sp.*; *Staphilococcus sp.*; *Vibrio sp.* também foram referenciadas em estudos de qualidade sanitária de areia.

### 2.7.2- *Escherichia coli*

A espécie bacteriana *E. coli* pertence à família Enterobacteriaceae e constitui um importante patógeno para os seres humanos e animais (TRABULSI et al., 2005). Apresentam-se como bastonetes, Gram negativos, facultativamente anaeróbios, móveis ou imóveis, não-esporulados, capazes de fermentar a glicose com produção de ácido e gás (SCHROEDER et al, 2002).

Segundo Pinto (2010), esta espécie microbiológica é um indicador fecal utilizado pela OMS, mencionado no “Guideline for drinking- water quality” (2004) e muitos países incluíram em suas normas como um indicador primário de contaminação fecal. Sendo que no Brasil, a *E. coli* também é utilizada na avaliação das condições sanitárias de água para balneabilidade de águas utilizada para fins recreacionais, através da Resolução 274/2000 do CONAMA. De acordo com essa mesma autora, a *E. coli* faz parte da microbiota normal dos intestinos de animais homeotermos, sendo que a maioria pertence a sorogrupos associados à infecção urinária, meningite e bacteremia.

Alguns autores como Trabulsi (1991) e Kaper et al. (2004) citam a *E. coli*, como um importante agente patogênico, causador da diarreia, predominando sobretudo a diarreia infantil, que tem um maior comprometimento nos seis primeiros meses de vida.

Diversas técnicas baseadas em substratos enzimáticos fluorogênicos e cromogênicos, têm sido desenvolvidas e envolvem a capacidade de detectar a presença de enzimas específicas com o emprego de substratos apropriados. A incorporação de tais substratos permite a detecção, enumeração e identificação de forma direta em placa de isolamento ou em caldo, evitando o uso de subculturas e testes bioquímicos para estabelecer a identificação de certos microrganismos (MANAFI, 2000).

Como *E. coli* e coliformes são os mais importantes indicadores da poluição de águas, algumas técnicas são capazes de detectar rapidamente, estes microrganismos, através da adição de substratos enzimáticos para a detecção de  $\beta$ - D-galactosidase, que indica a presença de coliformes totais, e de  $\beta$ -D-glucoronidase, que indica a presença de *E. coli* (SILVA et al., 2000)

### **3- OBJETIVOS**

#### **3.1- Objetivo Geral**

Realizar estudo de monitoramento das condições sanitárias de praias de água e areia da Baía de Guanabara, tendo como base os padrões sanitários estabelecidos para coliformes por meio de análises colimétricas e parasitológicas.

#### **3.2- Objetivos Específicos**

- ❑ Isolar e monitorar a quantidade de coliformes totais e fecais presentes na areia e água das praias estudadas, de modo ter dados colorimétricos para comparação com os dados parasitológicos;
- ❑ Definir metodologia que possa ser usada nas análises parasitológicas para áreas de recreação para a matriz areia;
- ❑ Isolar e monitorar qualitativamente os parasitos presentes na areia das praias estudadas.
- ❑ Aplicar e comparar diferentes métodos qualitativos para identificação de parasitos causadores de doença.
- ❑ Tratar estatisticamente os dados obtidos e realizar análises de correlação de dados obtidos nas diferentes matrizes ambientais.

## **4- METODOLOGIA**

A metodologia desta dissertação foi dividida em duas etapas: Metodologia de Campo e Metodologia Analítica.

### **4.1- Metodologia de Campo**

#### **4.1.1- Plano de Amostragem**

O plano de amostragem do terceiro período de monitoramento do Macro-Projeto financiado pelo CNPq No. 577.432/2008-7, foi feito de 2010 – 2011, sendo a execução distribuída nos 12 meses ao longo do ano de experimento, com análises dos níveis de *E. coli* e de coliformes totais, nas matrizes areia seca, areia úmida e água, nas quatro praias selecionadas, sendo duas na Ilha do Governador: Praia da Bica e Praia da Ponta do Tubiacanga e outras duas na Ilha de Paquetá: Praia José Bonifácio e Praia dos Tamoios. E com análises parasitológicas realizadas na matriz areia seca, que foi feita além do período terceiro período de doze meses de 2010 – 2011, sendo processadas amostras previamente coletada no primeiro período de coleta (de 2008-2009) e no segundo período de coleta (de 2009-2010), proporcionalmente coletadas nas mesmas estações do ano que as realizadas no terceiro período (de 2010 a 2011).

Sendo os períodos de coleta neste trabalho tratado como primeiro (2008-2009), segundo (2009-2010) e terceiro (2010-2011) períodos. As coletas do terceiro período (2010 – 2011) foram realizadas nas quatro estações do ano, sendo feitas em cada uma das praias quatro coletas por estação, totalizando oito campanhas por praias, e perfazendo um total de 129 amostras de material de areia seca para as análises parasitológicas (Quadro 2), e 80 amostras de areia úmida, 80 de areia seca e 64 de água para análises colimétricas.

#### **4.1.2- Generalidades sobre a Área de Estudo**

Este estudo foi realizado em quatro praias da Baía de Guanabara, duas na Ilha do Governador (IG) e duas na Ilha de Paquetá (IP), situadas no Estado do Rio de Janeiro. As regiões estudadas estão apresentadas na Figura 13.

Na Ilha do Governador (Figura 14) foram definidas as praias: da Bica (Figura 16) e praia da Ponta do Tubiacanga (Figura 17); e na Ilha de Paquetá (Figura 15) foram definidas as praias: José Bonifácio e dos Tamoios.

As áreas de estudo foram escolhidas baseadas no trabalho de Egler et al. (2003), de modo que fossem praias que pudessem representar o ecossistema costeiro da Baía de Guanabara, por esta possuir um espelho d'água bastante diversificado, sendo consideradas as variáveis como circulação das águas, batimetria, situação do entorno, quantidade do material em suspensão, e frequência de moradores nas praias.

Com disposição pré-definida em trabalhos anteriores desenvolvidos pelo grupo e descritas em Rego (2010) e Viana (2011), a seleção dos pontos de coletas das diferentes matrizes de areia seca, areia úmida e água, de modo a serem tomadas coletas sempre nos mesmos pontos. Os critérios de inclusão das praias utilizados foram: (1) praias onde o Instituto Estadual do Ambiente (INEA) realizava monitoramento da qualidade da água, conforme previsto em lei; (2) praias que tivessem frequência principalmente de moradores da região; (3) pelo menos uma praia fosse representativa da região mais poluída da Baía de Guanabara (porção voltada para o fundo da Baía) que, entretanto, ainda fossem frequentadas por uma parcela significativa da população residente na área; (4) praias que são utilizadas de diversas maneiras pela população como: recreação de contato primário; pesca artesanal; lazer; corrida esportiva; dentre outros.



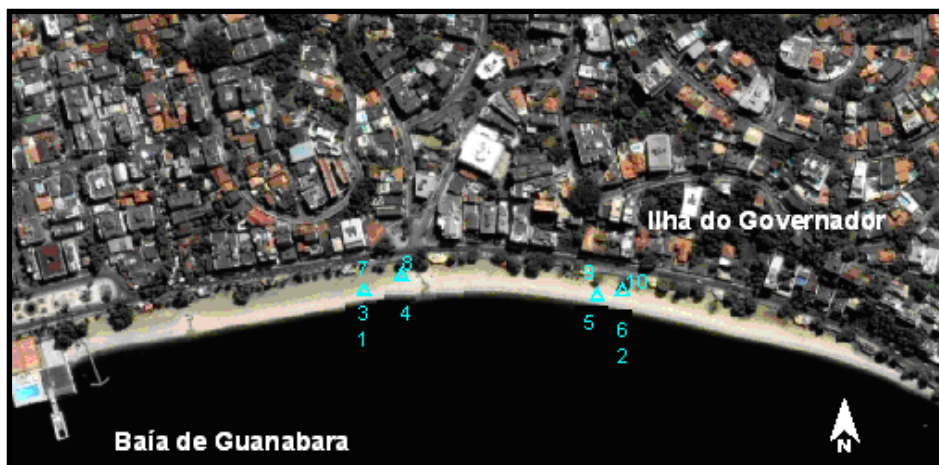
**Figura 13** : Imagem através de satélite do trecho da Baía de Guanabara, Rio de Janeiro (RJ), Brasil. Enfoque na área do estudo. (Programa Surfer, imagens Ikonos).



**Figura 14** : Imagem por meio de satélite da Ilha do Governador (RJ/Brasil), com enfoque para a Praia da Bica e da Ponta do Tubiacanga. (Programa Surfer; Imagens Ikonos).



**Figura 15**: Imagem por meio de satélite da Praia dos Tamoios (Nordeste) e José Bonifácio (Noroeste) na Ilha de Paquetá (Rio de Janeiro/RJ-Brasil), com enfoque na localização dos pontos de coleta.



**Figura 16:** Imagem por meio de satélite da Praia da Bica (Ilha do Governador, Rio de Janeiro/RJ-Brasil), com enfoque na localização dos pontos de coleta.



**Figura 17:** Imagem por meio de satélite da Praia da Ponta do Tubiacanga (Ilha do Governador, Rio de Janeiro / RJ-Brasil), com enfoque na localização dos pontos de coleta.

#### 4.1.2.1- Ilha de Paquetá

Localizada no interior Nordeste da Baía da Guanabara é a principal ilha do Arquipélago de Paquetá; possui aproximadamente 1,71 Km<sup>2</sup> e população estimada de 7.000 habitantes fixos, que em sua grande maioria trabalha e estuda no centro do município do Rio de Janeiro. À população fixa, somam-se turistas e veranistas que

possuem casas na ilha, aumentando assim a sua população em feriados e finais de semana, chegando a 17.000 pessoas. Devido aos seus atrativos históricos e naturais, a Ilha de Paquetá, é sempre procurada para momentos de lazer da população. (SMAC, 2002).

#### **4.1.2.1.1- Praia José Bonifácio**

Possui a maior infraestrutura turística da Ilha de Paquetá, estando localizada do lado oeste. Possui também pontos turísticos e históricos distribuídos ao longo de seus 500 metros de extensão (localização por aparelho de GPS, 43° 6' 37.953"W - 22° 45' 43.498"S) (SMAC, 2002).

#### **4.1.2.1.2- Praia de Tamoios**

Está localizada no lado leste da Ilha de Paquetá (localização por aparelho de GPS, 43° 6' 30.166"W - 22° 45' 18.899"S). Tanto essa praia quanto a José Bonifácio tem uma situação menos complexa de sua problemática ambiental, pois está próxima a Área de Proteção Ambiental (APA) de Guapimirim, rica em manguezais e de difícil acesso (VIANA, 2011).

#### **4.1.2.2- Ilha do Governador**

Encontra-se na parte ocidental da Baía da Guanabara e possui um território de aproximadamente 33 Km<sup>2</sup>, sendo a maior ilha pertencente à Baía. Equidistante do litoral aproximadamente 2,5 Km está ligada a ele por meio de pontes, via Ilha do Fundão. É um bairro predominantemente residencial, apesar da existência de indústrias e setor de serviços. São inúmeras suas praias. Algumas recebem esgoto tanto residencial quanto industrial, através das galerias de águas pluviais, e lixo trazido pelas marés (SMAC, 2002).



#### **4.1.2.2.1- Praia da Bica**

Localiza-se no Bairro do Jardim Guanabara, ao sul da Ilha do Governador (localização por aparelho de GPS,  $43^{\circ} 11' 53.575''W$  -  $22^{\circ} 49' 9.136''S$ ), com aproximadamente 3 km de extensão esta praia é conhecida pelo Esporte Clube Jardim Guanabara. Nesta praia pode-se observar principalmente em dias de fortes chuvas a existência de línguas negras. É uma praia muito procurada para exercícios de caminhada da população (SMAC, 2002).

#### **4.1.2.2.2- Ponta do Tubiacanga**

Localizada ao norte da Ilha do Governador (localização por aparelho de GPS,  $43^{\circ}13'52.824''W$  -  $22^{\circ} 47' 4.748''S$ ), tendo dificuldade a circulação das águas na sua proximidade, devido a estrangulamento causado pela Ilha do Governador e por ficar longe do canal central de entrada da Baía. A orla norte da Ilha do Governador é uma das que mais sofrem com os efeitos da poluição hídrica produzida no continente da Baía de Guanabara, pois está voltada para zona industrial de Duque de Caxias (VIANA, 2011).

#### **4.1.3- Coletas das Amostras nos Períodos de Monitoramento**

Para as análises bacteriológicas foram realizadas coletas de amostras distribuídas no período de doze meses (2º semestre de 2010 e 1º semestre de 2011), sendo feitas duas campanhas por cada estação do ano, totalizando oito campanhas de amostragem no total. E para as análises parasitológicas, além do terceiro período de coleta (2010 – 2011) foram utilizadas amostras de areia seca coletadas pelo grupo de pesquisa coordenado pela Dra. Adriana Sotero Martins, no Projeto de Pesquisa financiado pelo CNPq No. 577.432/2008-7, em que este projeto está inserido, sendo o primeiro período de 2008 – 2009 e o segundo período de 2009 – 2010.

As coletas do terceiro período foram efetuadas em duas praias por campanha de coleta. Praia da Bica e do Tubiacanga na Ilha do Governador no mesmo dia e as praias de José Bonifácio e dos Tamoios na Ilha de Paquetá no dia seguinte. Neste período foram realizadas 160 coletas de amostras de areia para análise colimétrica, sendo 80 amostras de areia seca e 80 amostras de areia úmida e 64 amostras de água das praias, totalizando 224 amostras coletadas no terceiro período de estudo.

No caso das coletas parasitológicas, realizadas somando os três períodos de estudo, participou um total de 129 amostras de areia seca. Sendo 58 amostras do primeiro período (2008-2009); 20 amostras do segundo período (2009-2010), este teve menor número de amostras em função de terem sido perdidas durante trocas de material para outras geladeiras; e 51 amostras correspondentes ao terceiro período (2010-2011).

No Quadro 2 estão os dias das coletas de cada campanha realizadas durante todos os três períodos.

**Quadro 2:** Períodos das Coletas de Amostras nas Praias da Bica (BI), Tubiacanga (TU), José Bonifácio (JB) e Tamoios (TA).

Sequência	Ilha do Governador		Ilha de Paquetá		Campanha	Estação do Ano
	BI	TU	JB	TA		
<b>Primeiro Período de Coleta (2008-2009)</b>						
<b>1X</b>	01/07/08		24/06/08		1 <sup>a</sup> .	<b>Inverno</b>
<b>2X</b>	15/07/08		22/07/08		2 <sup>a</sup> .	
<b>3X</b>	05/08/08		12/08/08		3 <sup>a</sup> .	
<b>4X</b>	26/08/08		02/09/08		4 <sup>a</sup> .	
<b>5X</b>	23/09/08		30/09/08		1 <sup>a</sup> .	<b>Primavera</b>
<b>6X</b>	14/10/08		21/10/08		2 <sup>a</sup> .	
<b>7X</b>	04/11/08		11/11/08		3 <sup>a</sup> .	
<b>8X</b>	02/12/08		09/12/08		4 <sup>a</sup> .	
<b>9X</b>	05/01/09		03/02/09		1 <sup>a</sup> .	<b>Verão</b>
<b>10X</b>	10/02/09		17/02/09		2 <sup>a</sup> .	
<b>11X</b>	02/03/09		04/03/09		3 <sup>a</sup> .	
<b>12X</b>	17/03/09		10/03/09		4 <sup>a</sup> .	
<b>13X</b>	07/04/09		31/03/09		1 <sup>a</sup> .	<b>Outono</b>
<b>14X</b>	05/05/09		28/04/09		2 <sup>a</sup> .	
<b>15X</b>	26/05/09		19/05/09		3 <sup>a</sup> .	
<b>16X</b>	16/06/09		08/06/09		4 <sup>a</sup> .	
<b>SEGUNDO PERÍODO DE COLETA (2009-2010)</b>						
<b>1X</b>	17/08/09		18/08/09		1 <sup>a</sup> .	<b>Inverno</b>
<b>2X</b>	24/08/09		25/08/09		2 <sup>a</sup> .	
<b>3X</b>	13/10/09		14/10/09		1 <sup>a</sup> .	<b>Primavera</b>

<b>4X</b>	14/12/09	15/12/09	2 <sup>a</sup> .	<b>Verão</b>
<b>5X</b>	01/02/10	03/02/10	1 <sup>a</sup> .	
<b>6X</b>	15/03/10	17/03/10	2 <sup>a</sup> .	
<b>7X</b>	12/04/10	13/04/10	1 <sup>a</sup> .	<b>Outono</b>
<b>8X</b>	10/05/10	12/05/10	2 <sup>a</sup> .	
<b>TERCEIRO PERÍODO DE COLETA (2010-2011)</b>				
<b>1X</b>	14/09/10	13/08/10	1 <sup>a</sup> .	<b>Inverno</b>
<b>2X</b>	21/09/10	20/09/10	2 <sup>a</sup> .	
<b>3X</b>	07/12/10	06/12/10	1 <sup>a</sup> .	<b>Primavera</b>
<b>4X</b>	13/12/10	14/12/10	2 <sup>a</sup> .	
<b>5X</b>	21/02/11	22/02/11	1 <sup>a</sup> .	<b>Verão</b>
<b>6X</b>	14/03/11	15/03/11	2 <sup>a</sup> .	
<b>7X</b>	09/05/11	10/05/11	1 <sup>a</sup> .	<b>Outono</b>
<b>8X</b>	23/05/11	24/05/11	2 <sup>a</sup> .	

#### **4.1.4- Registro, Coleta e Preservação das Amostras**

##### **4.1.4.1- Registros**

Os dados primários referentes ao terceiro período de coleta (2010-2011) foram armazenados em ficha de coleta, usada em campo, que contempla os seguintes dados: presença de banhistas, animais, estação do ano, dia, horário de início e término da coleta, leitura de dados colimétricos feitos em laboratório, pH, coordenadas do GPS, espaço de observações; registro dos fatores ambientais como: dados de umidade relativa do ar e da temperatura que foram transcritos do site ([http:// www.climatempo.com.br](http://www.climatempo.com.br)), com data e hora de acesso.

Todas as fichas constam de um único caderno de registro de dados primários de campo e de laboratório, e planilha de registro e cálculos dos dados foram feitas no Programa Excell.

Com relação aos dados das amostras coletadas previamente, foram obtidos os registros originais dos trabalhos anteriores, de modo que todas as amostras conservadas em geladeira foram agrupadas nas datas que foram processadas (Quadro 3).

**Quadro 3:** Número de amostras de areia seca por período, que foram analisadas nos estudos parasitológicos nas Praias da Bica (BI), Tubiacanga (TU), José Bonifácio (JB) e Tamoios (TA).

Praia	Período/ Campanha	Estação do Ano								Total
		Inverno		Primavera		Verão		Outono		
		1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª	
BI	Primeiro (2008- 2009) 58 amostras	2	1	3	0	4	2	4	2	18
TU		2	1	1	0	2	1	2	2	11
JB		2	1	1	1	4	2	2	2	15
TA		1	1	1	1	4	2	2	2	14
BI	Segundo (2009- 2010) 20 amostras	2	0	0	1	0	0	1	1	5
TU		2	0	1	0	0	0	1	1	5
JB		2	0	1	1	0	0	1	0	5
TA		2	0	0	2	0	0	1	0	5
BI	Terceiro (2010- 2011) 51 amostras	2	2	2	2	2	2	2	2	16
TU		1	1	1	1	1	1	1	1	8
JB		2	1	1	1	1	2	2	2	12
TA		2	2	1	2	2	2	2	2	15
<b>Total Geral</b>		<b>22</b>	<b>10</b>	<b>13</b>	<b>12</b>	<b>20</b>	<b>14</b>	<b>21</b>	<b>17</b>	<b>129</b>

#### 4.1.4.2 - Método de Coleta das Amostras

Todas as amostras foram coletadas utilizando técnicas assépticas, boas práticas de laboratório e de biossegurança para evitar a contaminação biológica e exógena das amostras e prevenir a contaminação da equipe envolvida na coleta, segundo os procedimentos descritos por Grasshoff et al. (1999).

Todo material utilizado foi previamente descontaminado em autoclave (121°C/1atm) durante 15 minutos ou por exposição contínua à radiação UV em capela de fluxo laminar durante 40 minutos.

#### **4.1.5- Método da coleta em campo**

##### **4.1.5.1- Para amostras de coliformes**

###### **4.1.5.1.1- Água**

Para a coleta foram utilizados frascos plásticos estéreis com capacidade de 50 mL. As amostras de água foram coletadas a 15 cm abaixo da superfície da água, a uma distância média de meio metro do local da quebra d'água, sendo transferida assim que coletadas para frascos estéreis, com tampa, previamente identificados e pesados para o armazenamento das amostras. (Figura 18). Sendo em seguida, acondicionado em caixa de isopor, e conservadas com gelo para o transporte INEA (2011).



**Figura 18:** Frasco de vidro estéril utilizado no armazenamento da amostra.

###### **4.1.5.1.2- Areia**

As amostras de areia (seca e úmida) foram coletadas em pontos georeferenciados por aparelho de GPS. Após cavar cerca de 10-15 cm de profundidade (Figura 19), a areia era transferida para um copo plástico, estéril, com capacidade de 50 mL. Em seguida o copo foi tampado com papel alumínio estéril e acondicionado em caixa de isopor com gelo, mantendo sob refrigeração até a chegar ao laboratório. A massa, em média, de areia seca foi de 62 g (desvio padrão igual a 3,77) e a média da massa de areia úmida foi de 78 g (desvio padrão igual a 6,26).



**Figura 19:** Coleta de areia para análise colimétrica.

#### **4.1.5.2- Para amostras parasitológicas**

Amostras de areia seca foram coletadas nos mesmo pontos que foram feitas coletas para as análises colimétricas. A areia seca foi retirada da parte superficial da areia, coletada com o auxílio de uma concha (com capacidade aproximadamente de 90g) a massa final correspondente a 270 g de areia seca (Figura 20). Toda a areia coletada do ponto escolhido foi acondicionada em um mesmo saco plástico determinando uma amostra, de ponto georeferenciado por GPS coincidente ao ponto de areia seca coletado para as análises colimétricas.



**Figura 20:** Areia seca coletada com o auxílio de uma concha

Esses sacos plásticos limpos novos e transparentes foram devidamente identificados (Figura 21) sendo armazenado em caixa isopor com gelo para que permanecessem resfriados cerca de 4°C, até chegarem ao laboratório.



**Figura 21:** Coleta de areia seca para análise parasitológica, acondicionado em saco plástico.

## 4.2 – Metodologia Analítica

### 4.2.1- Laboratórios utilizados para as análises

As análises parasitológicas foram realizadas no Laboratório de Parasitologia Ambiental do Departamento de Ciências Biológicas (DCB) da Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP/FIOCRUZ) e as análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Saneamento e Saúde Ambiental (DSSA/ ENSP).

### 4.2.2 - Processamentos laboratoriais das amostras microbiológicas

Neste trabalho chamamos de Coliformes Totais (CT) as outras espécies relacionadas a este grupo com exceção da *E. coli* (EC), pois no grupo dos CT a espécie EC esta incluída, contudo damos destaque aqui à ocorrência de outras espécies do

grupo, pois a metodologia utilizada permite essa distinção de modo que quando chamamos CT estamos nos referindo a colônias crescidas em cor vermelha.

As amostras de areia e água para análise bacteriológica foram processadas em até 24 horas após a coleta. As amostras de areias secas e úmidas foram retiradas do frasco plástico com auxílio de uma espátula estéril, e em condições de assepsia foram transferidas para frascos de Erlenmeyer de capacidade para 500 mL previamente esterilizados e pesados. Após a transferência, os frascos foram pesados para determinação da massa em gramas de amostras e submetidos às diluições sequenciais. As amostras de água não passaram por diluição inicial.

#### **4.2.2.1- Diluição Seriada das Amostras**

A preparação das diluições seriadas da amostra foi utilizada nos ensaios quantitativos, para reduzir o número de microorganismos por unidade de volume, permitindo a contagem de colônias em meio de cultura, para a obtenção de um resultado mais preciso. Essa série de diluições foi sequencial, ou seja, a partir da primeira diluição foi feita a segunda diluição em série (Figura 22).

A determinação da diluição necessária para se ter uma leitura confiável dos valores para coliformes totais (CT) e de *E. coli* (EC) foi baseada em trabalho piloto efetuado pelo grupo em 2008, em que foi avaliação da necessidade de maior diluição nas amostras de areia seca do que nas amostras de areia úmida e água.

A primeira diluição das amostras de areia foi feita em frasco Erlenmeyer de 500 mL previamente pesado, sendo feita a diluição da areia em 200 mL de água fosfatada (1,25 mL/L de Solução estoque A (fosfato monopotássico 34g/L) e 5,0 mL/L de solução estoque B (cloreto de magnésio p.a 81 g/L), pH final 7,5 ±0,25; esterilizado a 121°C), manteve-se o material em solução por 30 minutos, com agitação manual de 10 minutos de intervalo. A partir dessa foi feita às diluições em série para areia, sendo:

Na primeira diluição em série para amostras de areia úmida, foi tomada uma alíquota de 10 mL da diluição inicial e transferida para frasco contendo 90 mL de água fosfatada; e na segunda diluição em série foi transferido 10 mL da diluição anterior para outro frasco contendo 90 mL de água fosfatada, agitando vigorosamente o frasco. Sendo filtrados 10 mL de cada diluição, o experimento foi feito em duplicata.

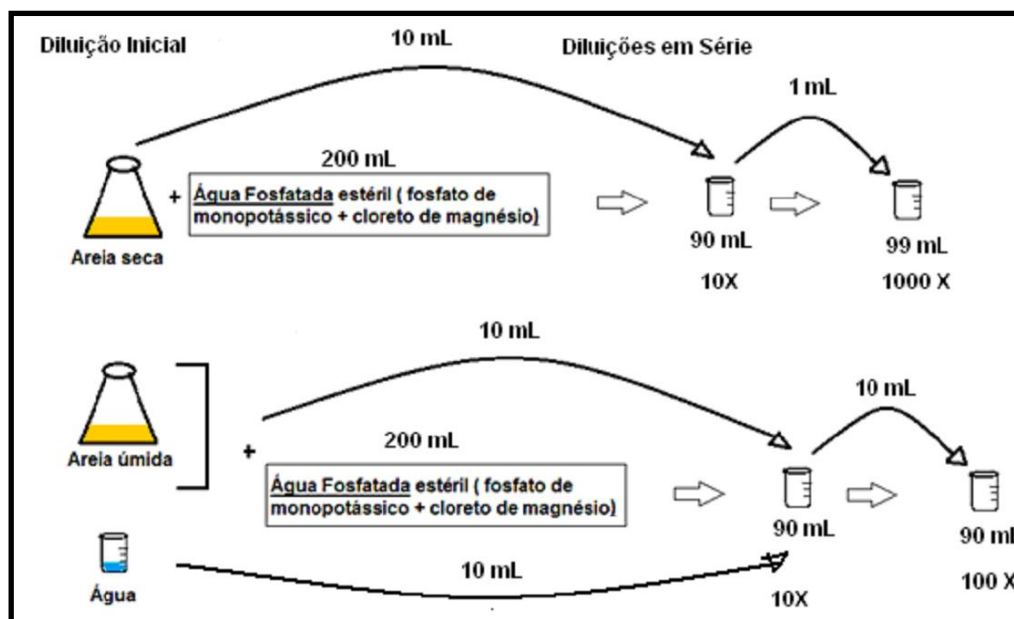
Na primeira diluição em série para amostras de areia seca, foi tomada uma alíquota de 1 mL da diluição inicial e transferida para frasco contendo 99 mL de água



fosfatada; e na segunda diluição em série foi transferido 10 mL da diluição anterior para outro frasco contendo 90 mL de água fosfatada, agitando vigorosamente o frasco. Sendo filtrados 10 mL de cada diluição, o experimento foi feito em duplicata.

Na primeira diluição em série para as amostras de água, foi feita diretamente da amostra de campo, sendo tomada uma alíquota de 10 mL e transferida para frasco contendo 90 mL de água fosfatada; e na segunda diluição em série foi transferido 10 mL da diluição anterior para outro frasco contendo 90 mL de água fosfatada, agitando vigorosamente o frasco. Sendo filtrados 10 mL de cada diluição, o experimento foi feito em duplicata.

As membranas provenientes das filtragens foram transferidas, com auxílio de uma pinça estéril, para a superfície de placas contendo meio de cultura cromogênico Chromocult® Coliform Agar (Merck, 2000), tendo o cuidado para evitar aprisionamento de bolhas entre a membrana e o meio de cultura.



**Figura 22:** Esquema das diluições iniciais e em série das diferentes matrizes ambientais.

As amostras tanto de água quanto de areia foram submetidas à análise por técnica colimétrica, conforme a seguir:

#### 4.2.2.2- Análise Bacteriológica

Conforme descrito no Manual da Merck em 2000, foi realizado o método da membrana filtrante para análise e isolamento dos microrganismos de coliformes totais (CT) e *E. coli* (EC) descrito por EATON et al. (2005).

No procedimento de filtração em membranas foi utilizado membrana da Millipore®, de éster de celulose estéril branca ou quadriculada com porosidade de 0,45 µm e diâmetro de 47 mm.

Foram filtrados 10 mL das amostras diluídas de água e areia com auxílio do aparato de suporte estéril. Através de uma bomba de vácuo procedeu-se à filtração. Após a passagem da amostra, desliga-se a bomba de vácuo para a membrana não ressecasse excessivamente.

Com o auxílio de uma pinça flambada e resfriada, transfere a membrana para a placa de Petri com o meio de cultura Chromocult® Coliform Agar, sendo importante que toda a superfície fique completamente aderida ao meio, para que haja contato dos microorganismos com os nutrientes do meio, evitando a formação de bolhas de ar (SILVA, 2010). Posteriormente as placas são invertidas e incubadas à temperatura de 37° C durante 24 h.

Após o período de incubação, as colônias são contadas com o auxílio da lupa do contador de colônias, para facilitar a visualização (SILVA, 2010).

Na leitura das placas foram considerados que o meio de cultura Chromocult® Coliform Agar combina substratos específicos que faz a diferenciação das colônias pela coloração. As colônias de coliformes totais apresentava uma coloração avermelhada e para as colônias de *E. coli* apresentam coloração azul/violeta.

Para o isolamento das bactérias crescidas como colônias isoladas após a utilização do método da membrana filtrante, foi transferida com auxílio de palito estéril uma colônia para caldo EC (meio da Merck), contendo microtubo de Duran invertido. E após crescimento à 37 °C por 24 h, Consideravam-se como positivos para coliformes fecais, os tubos de caldo EC que revelavam produção de gás após a incubação. Sendo assim, uma alíquota de 0,9 mL da cultura foi transferida para um microtubo de 1,5 ou 2 mL, e mantida a -20 °C em glicerol 40 % para posterior preservação em coleção de cultura.

### **4.2.3- Processamento para Análises Parasitológicas**

A técnica analítica utilizada para a pesquisa de ovos, cistos e larvas nas amostras de areia seca foi de Lutz (1919), devido a sua simplicidade e baixo custo. Para a pesquisa de larvas de nematóide optou-se pela a técnica de Baermann-Moraes (1917).

Ambas as técnicas utilizadas foram adaptadas para melhor aproveitamento da matriz areia.

#### **4.2.3.1- Avaliação de Recuperação de Parasitos em Areia Seca: Contaminação Experimental**

Alguns autores têm preconizado diferentes técnicas para a pesquisa de ovos de helmintos no solo, sendo raras as referências relativas a análises de areia de praias e de áreas de recreação, sem material siltoso ou argiloso. Em vista disso, torna-se de extrema importância o desenvolvimento e a padronização de metodologias adequadas aos exames de rotina de matrizes ambientais, como areias de praias, capazes de satisfazer critérios de especificidade e sensibilidade (SILVA et al., 1991).

Assim, preliminarmente foi realizado um piloto onde procedeu a contaminação experimental de amostras de areia seca com fezes humanas positivas para *Ascaris sp.*, *Trichuris sp.* e *Ancylostoma sp.* a fim de avaliar a sensibilidade da Técnica de Lutz para a detecção de ovos desses parasitos, neste tipo de matriz ambiental.

Foi realizada previamente a contagem dos parasitas em fezes humanas contaminadas, pela Técnica de Kato-Katz (KATZ, 1972). O resultado dessas análises permitiu estimar a intensidade da contaminação das fezes que foram utilizadas na contaminação experimental de areia de praia.

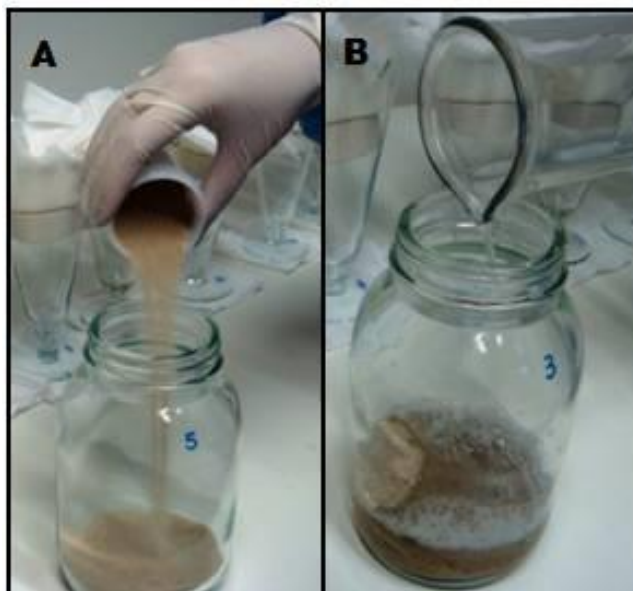
Foi feita a identificação e calculado o número de ovos presentes de *Ascaris sp.* (As), *Trichuris sp.* (Tr) e *Ancylostoma sp.* (An) nas fezes.

Em seguida, foi realizada a contaminação de 4 amostras de areia, sendo utilizado 1 g de fezes para 100 g de areia. E para a evidenciação de ovos de helmintos recuperados na areia foi realizada a técnica de Lutz adaptada, que seria a principal técnica parasitológica usada neste trabalho.

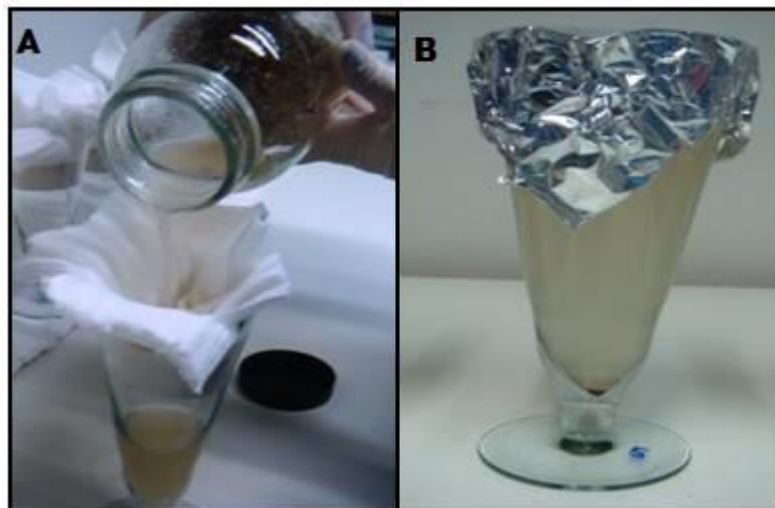
#### 4.2.3.2- Técnica de Lutz Adaptada (Sedimentação espontânea) também conhecida como método de Hoffman, Pons e Janer

Para a detecção e identificação dos organismos presentes em areia seca, foram utilizados aproximadamente 100 gramas de areia (Figura 23A). As amostras foram homogeneizadas e, em seguida, transferidas para um recipiente de vidro com 100 mL de detergente neutro comercial a 0,5% (Figura 23B). Posteriormente, agitou-se vigorosamente a solução por 5 minutos deixando em repouso para a total decantação do substrato. O sobrenadante foi filtrado em gazes dobradas em quatro para um cálice de sedimentação tendo seu volume completado até 250 mL com água destilada (Figura 24 A). Esta suspensão permaneceu em repouso por 2 horas sedimentando (Figura 24 B).

Em seguida foi decantado o líquido sobrenadante até um volume próximo do sedimento. Este foi transferido para um tubo de polipropileno de fundo cônico (tipo Falcon) de 15 mL para uma nova sedimentação. Após 10 minutos, 50  $\mu$ L do material foi pipetado em lâmina, acrescentada uma gota do Reagente de Lugol, cobrindo-se com lamínula. Sendo confeccionadas cinco lâminas para cada amostra. Examinou-se o preparo ao microscópio em aumentos de 100X e 400X. As medidas foram tomadas com o auxílio de ocular micrométrica.



**Figura 23:** Etapa inicial de preparo da amostra de areia seca para Técnica de Lutz Adaptada. Em A mostra 100 g da areia seca sendo transferidos para um recipiente. Em B amostra transferida para um recipiente de vidro com 100 mL de solução de detergente neutro comercial a 0,05%.



**Figura 24:** Etapa de filtração da amostra de areia seca na Técnica de Lutz Adaptada. Em A suspensão é filtrado em gazes dobradas para um cálice de sedimentação. Em B o filtrado fica em repouso por 2 h.

#### 4.2.3.3- Técnica de Baermann-Moraes Adaptada

Inicialmente a amostra de areia foi homogeneizada e em seguida 100 gramas de areia seca foram colocados em gazes dobradas sobre peneira de polipropileno no interior de um cálice de sedimentação. A este sistema acrescentou-se cerca de 180 mL de água destilada aquecida a 45°C, de maneira a cobrir a amostra. O material ficou em repouso por 2 horas. Após este tempo, o sobrenadante foi desprezado recuperando cerca de 2 mL depositados no fundo do cálice. O líquido foi transferido para tubo cônico tipo falcon de 15 mL para nova sedimentação. Posteriormente, 50 µL do sedimento foram pipetados para lâmina, acrescentada uma gota do Reagente de lugol, cobrindo-se com lamínula. Sendo confeccionadas cinco lâminas para cada amostra. Examinou-se ao microscópio utilizando aumentos de 100 e 400x.

#### 4.2.3.4- Ensaio Imunoenzimático (ELISA)

Foram utilizadas amostras congeladas das precipitações realizadas para submeter as amostras de areia seca para as técnicas de Lutz, que foram preservadas em microtubos de capacidade para 1,5 mL, para a realização do ensaio imunoenzimático

(ELISA), com o intuito de ampliar a capacidade de detecção dos cistos de *G. lamblia* e *E. histolytica/dispar* e oocistos de *Cryptosporidium sp.* através de Kits comerciais.

Os “kits” adquiridos comercialmente estão apresentados na tabela 3

**Tabela 3:** “Kits” comerciais utilizados para a realização dos testes de ELISA

MARCA DO KIT COMERCIAL	PARASITO	FUNDAMENTO DA TÉCNICA
IVD Research ®	<i>Giardia sp</i>	Detecção qualitativa de antígenos de cistos de <i>Giardia sp</i>
	<i>Entamoeba sp</i>	Detecção qualitativa de antígenos de cistos de <i>Entamoeba sp</i>
	<i>Cryptosporidium sp</i>	Detecção qualitativa do antígeno oocisto de <i>Cryptosporidium sp</i>

Essas amostras não apresentavam conservantes como formalina ou SAF (Solução de acetato de sódio - ácido acético - formaldeído) para que não causasse alterações nos resultados das amostras.

A técnica foi realizada como preconizado pelo fabricante. Exceto pelo fato de não haver uma diluição prévia das amostras, pois os kits foram desenvolvidos para fazes.

As placas de ELISA foram lidas, incluindo os controles positivos e negativos, em leitor de placa ELISA com o comprimento de onda de acordo com as normas técnicas do fabricante (450/650 nm). Sendo considerada a interpretação dos resultados visuais apenas para efeito de confirmação da leitura esperada.

O ponto de corte foi estabelecido de acordo com as instruções do fabricante para fazes. O valor do ponto de corte estabelecido para *Giardia sp.* e *Cryptosporidium sp.* foi leitura de absorbância acima de 0,08. Para *Entamoeba sp.* leitura de absorbância acima de 0,15.

#### 4.2.4- Comparações Estatísticas

Os dados da contagem das colônias presumíveis de serem coliformes totais (CT) e *E. coli* (EC) foram comparados com os padrões definidos na resolução editada para as praias do Rio de Janeiro, de avaliação das condições sanitárias de areia, Resolução N° 468/2010, da SMAC.

Os dados da contagem das colônias presumíveis de serem CT e EC obtidos neste trabalho foram inseridos em planilhas Excel, sendo considerada a massa em grama (g) de areia e o volume em mililitro (mL) reais que participaram das diluições. E as respectivas diluições foram consideradas nos cálculos matemáticos que foram feitos.

Para avaliação da correlação de Pearson (BARBETA, 2008) os dados das condições colimétricas da região onde os microrganismos foram isolados e os níveis de resistência que estes apresentavam, foram atribuídos valores de 10, 8, 5 e 1: quando os níveis colimétricos estavam na faixa de “Excelente” segundo padrões estabelecidos pela Resolução SMAC 468/2010, foi atribuído valor 10; quando os níveis colimétricos estavam na faixa de “Bom”, foi atribuído valor 8; quando estavam na faixa de “Regular”, foi atribuído valor 5; e quando os níveis estavam na faixa de “ Não recomendada”, foi atribuído valor 1. Para as condições parasitológicas, foram atribuídos valores de 5, 1 e 0: quando obtivesse resultados positivos simultâneos em pelo menos 2 testes parasitológicos (Lutz Adaptada e/ou Baermann-Moraes Adaptada e/ou ELISA) foi atribuído valor 5; quando obtivesse resultado positivo somente em 1 teste parasitológico foi atribuído valor 1; quando não obtivesse nenhum resultado positivo em teste parasitológico foi atribuído valor 0.

Os resultados de colimetria realizados no terceiro período de coletas (2010-2011) foram comparados com os valores dos pontos correspondentes aos resultados parasitológicos também do terceiro período. Na parte de colimetria, usou-se para comparar os resultados médios obtidos em cada campanha de coleta.

## 5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1- Monitoramento da Qualidade da Água das Praias

#### 5.1.1- Análise dos Parâmetros Colimétricos em Água: 3º. Período - 2010 a 2011

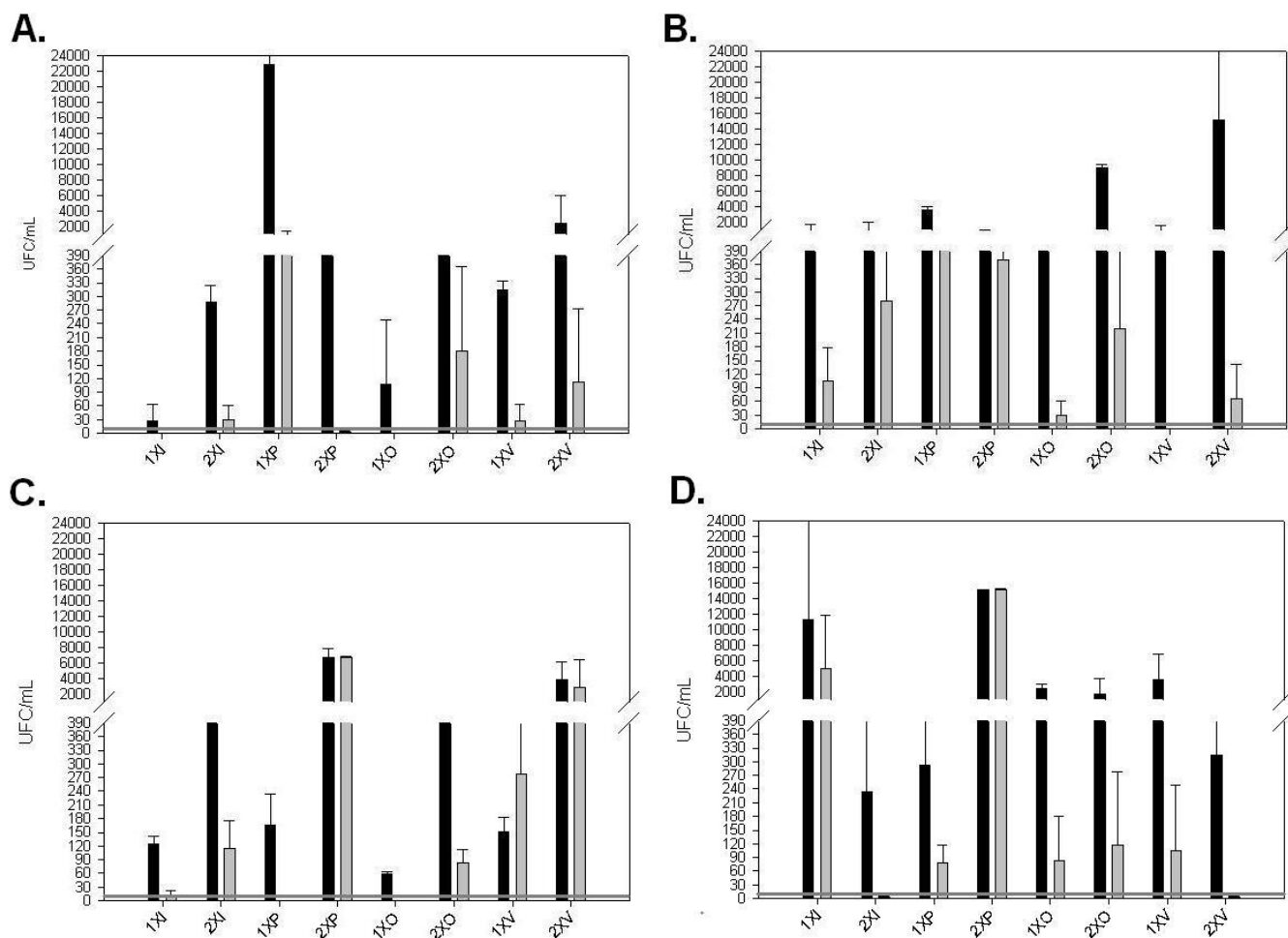
Durante o terceiro período de monitoramento (2010 a 2011), foram realizadas nas quatro praias estudadas um total de 8 campanhas, sendo coletadas um total de 64 amostras de água para análises colimétricas. Na comparação dos níveis de EC e de CT, os resultados para os níveis de coliformes totais foram sempre superiores aos níveis de *E. coli* (Figura 25).

Na avaliação dos resultados dos níveis de EC nas quatro praias monitoradas observamos que 25% (8/32) das vezes estiveram com níveis de EC considerados “satisfatórios” pelos níveis padronizados na resolução CONAMA 274/2000. Dentro dessas campanhas com níveis “satisfatórias”, 37,5% (3/8) foram na praia da Bica, na Ilha do Governador, fato que pode ser relacionado ao funcionamento da Estação da Alegria na Ilha do Fundão.

Por outro lado, em 53 % (17/32) das campanhas estiveram com níveis de EC acima de 10 vezes aos valores padronizados como aceitáveis para satisfatórios pelo CONAMA.

Neste período de estudo, os maiores níveis de EC encontrados foram nas praias da Ilha de Paquetá, durante a segunda campanha da primavera. Contudo para coliformes totais os piores níveis foram observados na praia da Bica, na Ilha do Governador, na primeira campanha da primavera, quando também os níveis de *E. coli* estavam bastante elevados. Os níveis de *E. coli* estiveram próximos dos níveis considerados pela Resolução CONAMA 274/00 como satisfatórios nas seguintes campanhas, nas praias Bica na 1XO, 2XP e 1XI; José Bonifácio 1XO e 1XP; Tamoios 2XV e 2XI; e Tubiacanga somente na campanha 1XV.





**Figura 25:** Comparação das análises dos níveis de coliformes totais (CT) e de *E. coli* (EC) presentes em água (UFC/mL). As barras representam os valores médios dos dados encontrados nas duas campanhas, nos períodos de inverno (1XI e 2XI); primavera (1XP e 2XP); outono (1XO e 2XO); verão (1XV e 2XV), nas praias da Ilha do Governador: Praia da Bica (A) e Praia do Tubiacanga (B); e nas praias da Ilha de Paquetá: Praia José Bonifácio (C) e Praia dos Tamoios (D). ■ CT e ■ EC. — valor limite CONAMA 274/00, correspondente a 9,22 UFC/mL de *E. coli*.

## 5.2- Monitoramento da Qualidade da Areia das Praias

### 5.2.1- Análise dos níveis de Coliformes Totais e de *Escherichia coli* nas areias das praias: 3º. Período - 2010 a 2011

Os níveis de Coliformes Totais encontrados nas praias da Ilha do Governador e da Ilha de Paquetá estiveram acima dos valores definidos como aceitáveis pela Resolução n. 468/2010 da SMAC (Tabela 1), em todas as campanhas realizadas e em

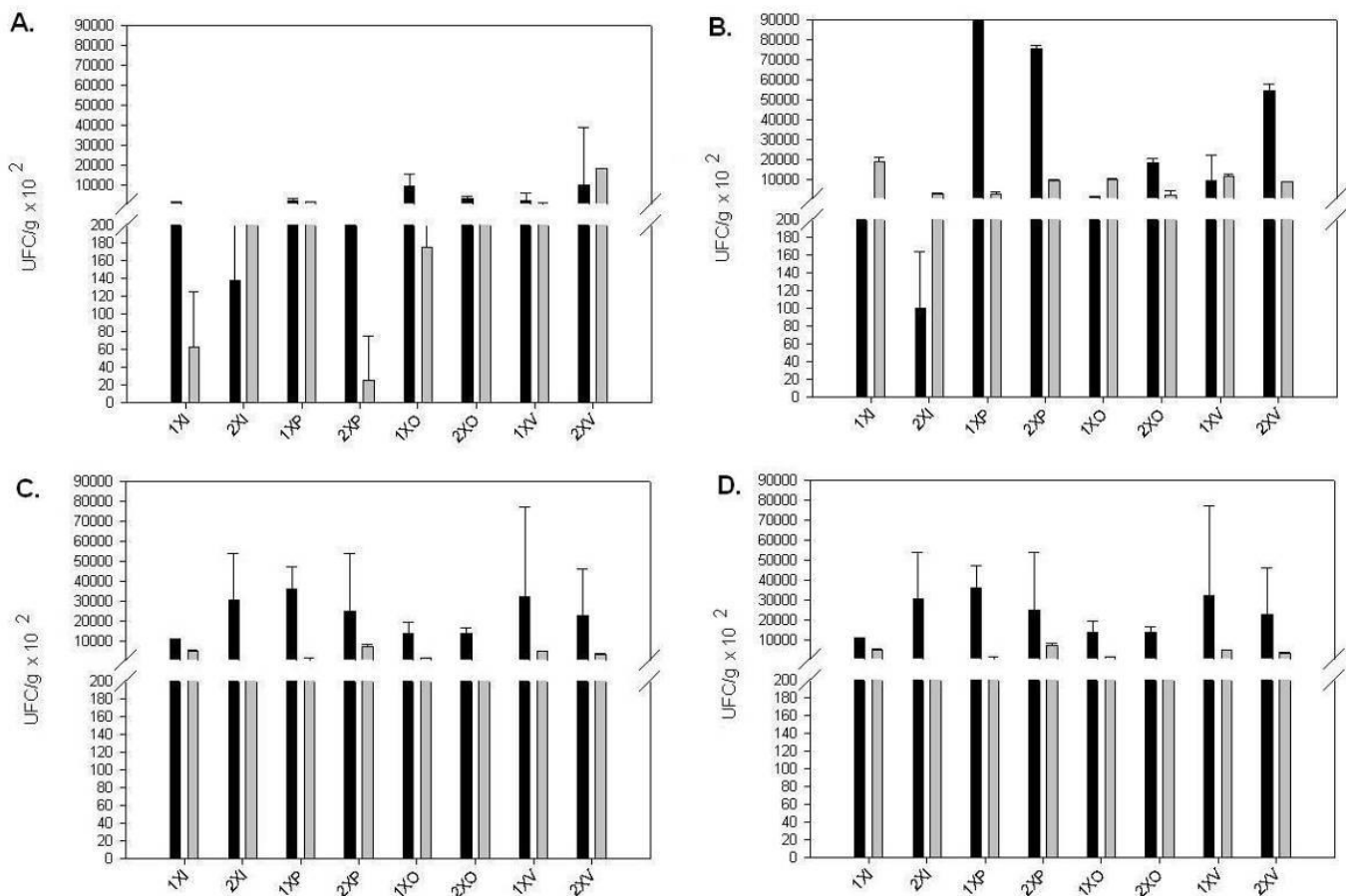
todas as praias monitoradas, portanto tornam-se impróprias para serem utilizadas como áreas de recreação (Figura 26).

O mesmo ocorre em relação aos níveis de *E. coli* em areia, com exceção da segunda campanha da primavera na praia da Bica e da primeira campanha de outono na praia José Bonifácio, como foram somente duas campanhas que obtiveram resultados favoráveis, podemos afirmar que de modo geral esses ambientes oferecem risco a saúde da população, e devem ser informados quando ao risco exposto ao frequentarem esses ambientes (Figura 27).

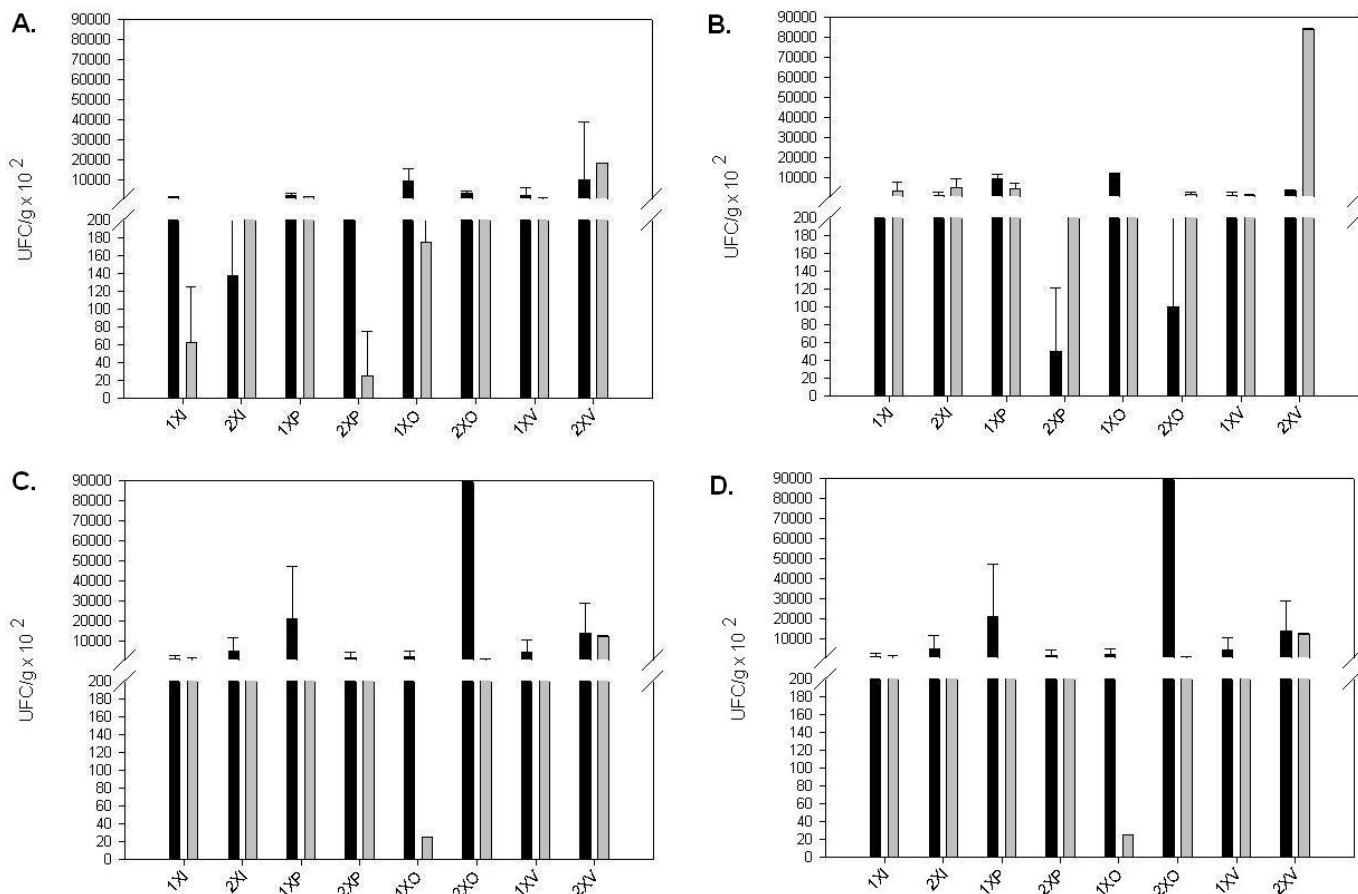
A razão média estabelecida entre os níveis de CT encontrados em areia seca e areia úmida, entre as praia da Bica e da praia de José Bonifácio foi de aproximadamente 30 vezes (1674244/55931,25 e 1948750/131987,5; respectivamente em UFC/g), obtendo os maiores valores de contaminação. A menor relação registrada foi na praia de Tamoios com uma razão de 8 vezes (1613056/208825 em UFC/g), seguida da praia de Tubiacanga com 7 de razão (1210875/ 179775 em UFC/g ) (Figura 29).

Diferentemente, para o parâmetro *E. coli*, a razão média encontrada entre areia seca e areia úmida na praia José Bonifácio foi de 40 vezes ( 176737,5/4462,5 em UFC/g), sendo esta a que obteve maior contaminação. Nesse parâmetro, a praia que apresentou os menor índice foi a praia de Tubiacanga com uma razão de 1 vez (29225/19612,5 em UFC/g). Valores próximos foram observados para a praia da Bica e Tamoios, onde a relação foi de 7 e 8 vezes (30221,88/ 4318,75 e 158787,5/18900 em UFC/ g), respectivamente. (Figura 27).

Tais resultados estão de acordo com os encontrados nos estudos de Rego (2010) e de Viana (2011) nestas mesmas praias, em que encontraram maiores concentrações de CT por grama de areia seca na praia da Bica, na Ilha do Governador. Esses mesmos autores observaram a diferença existente nos níveis de EC entre areia seca e areia úmida, sendo mais elevados em areia seca do que areias úmidas. Esses resultados podem ser justificados pela presença de línguas negras que deságuam na areia seca, que apesar de serem destinadas a águas fluviais devem ter ligações de esgoto clandestinas ligadas, por isso alto níveis colimétricos na praia da Bica e na praia de José Bonifácio, que entre as praias estudadas, foram a que apresentaram níveis elevados de colimetria.



**Figura 26:** Comparação das análises dos níveis de coliformes totais (CT) presentes nas matrizes areia (UFC/g x 10<sup>2</sup>). As barras representam os valores médios dos dados encontrados nas duas campanhas, nos períodos de inverno (1XI e 2XI); primavera (1XP e 2XP); outono (1XO e 2XO); verão (1XV e 2XV), nas praias da Ilha do Governador: Praia da Bica (A) e Praia do Tubiacanga (B); e nas praias da Ilha de Paquetá: Praia José Bonifácio (C) e Praia dos Tamoios (D). ■ areia seca (AS) e ■ areia úmida (AU). — valor limite SMAC 468/2010, correspondente a 24,54 UFC/g de *E. coli* não foi possível visualizar nestes gráficos.



**Figura 27:** Comparação das análises dos níveis de *E. coli* (EC) presentes em areia (UFC/g x 10<sup>2</sup>). As barras representam os valores médios dos dados encontrados nas duas campanhas, nos períodos de inverno (1XI e 2XI); primavera (1XP e 2XP); outono (1XO e 2XO); verão (1XV e 2XV), nas praias da Ilha do Governador: Praia da Bica (A) e Praia do Tubiacanga (B); e nas praias da Ilha de Paquetá: Praia José Bonifácio (C) e Praia dos Tamoios (D). ■ areia seca (AS) e ■ areia úmida (AU). — valor limite SMAC 468/2010, correspondente a 24,54 UFC/g de *E. coli* não foi possível visualizar nestes gráficos.

### 5.2.2- Análises Estatísticas

Correlação linear de Pearson entre os dados médios dos níveis de coliformes totais (CT) e de *E. coli* (EC) encontrados em areia seca das praias estudadas, com os dados positivos de parasitos encontrados na areia seca das mesmas amostras analisadas.

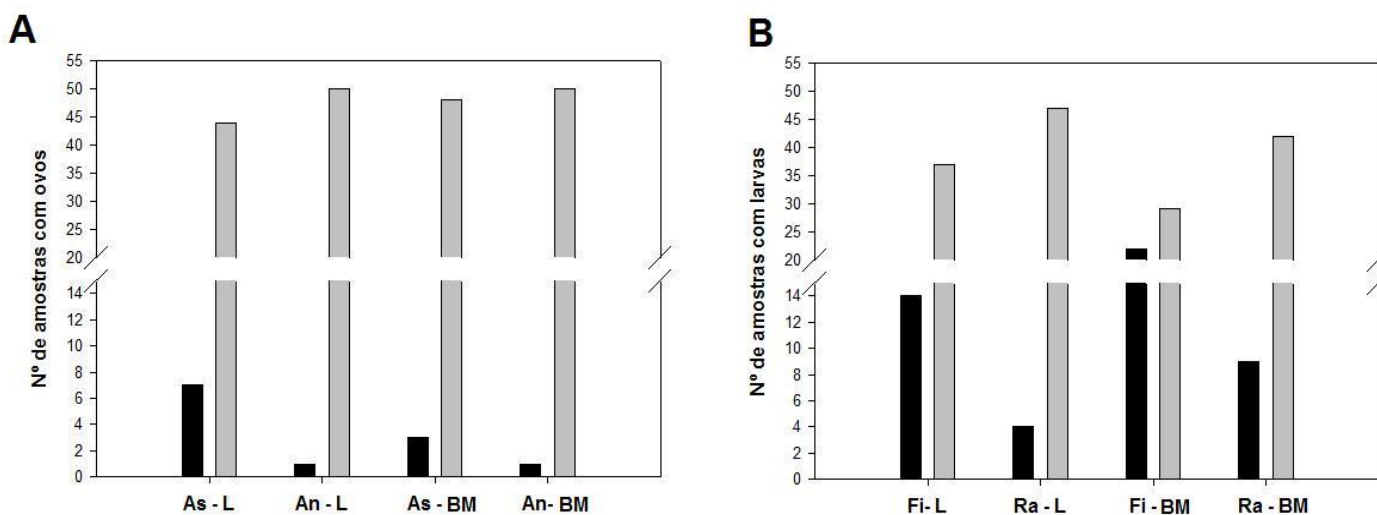
**Tabela 4:** Correlação linear de Pearson entre os dados médios dos níveis de coliformes totais (CT) e de *E. coli* (EC)

<b>Matriz</b>	<b>Coliformes Totais X Positivo para parasitos</b>	<b><i>E. coli</i> X Positivo para parasitos</b>
Areia Seca	0.35	0.15

Embora a correlação entre a presença de parasitos na areia seca com altos níveis de coliformes totais tenha ficado em torno de 35%, e para altos níveis de *E. coli* tenha ficado em torno de 15%, esta foi positiva para ambos. Portanto, pode-se afirmar que há correlação entre altos níveis de coliformes em areia seca com a presença de parasitas.

### 5.3 - Níveis Parasitológicos em Areia

#### 5.3.1- Análise de Amostras Frescas para Parasitologia: 3º Período de Estudo



**Figura 28:** Comparação da frequência absoluta de ovos de *Ascaris sp.*; *Ancylostoma sp.* e Larvas encontradas nas amostras de areia seca no período de 2010 a 2011 pelas as técnicas de Lutz - Adaptada (L) e Baermann-Moraes - Adaptada (BM). Painel A - número de amostras de areia seca com ovos; Painel B - número de amostras de areia seca com larvas; As - *Ascaris sp.*; An - *Ancylostoma sp.*; Fi - Filariíde; Ra - Rabditóide; ■ positivas; ■ negativas.

Das 51 amostras de areia seca analisadas por ambas as técnicas tradicionais (Lutz - Adaptada e Baermann-Moraes – Adaptada) foi encontrado maior frequência absoluta de casos positivos para ovos de *Ascaris sp*, dos quais 7 (13,7%) amostras foram positivas pela técnica de Lutz e 3 (5,8%) pela técnica de Baermann-Moraes. Para o diagnóstico de *Ancylostoma sp* as duas técnicas apresentaram resultados similares, indicando positividade de apenas 1 amostra.

Em relação à presença de amostras positivas com larvas, a técnica de Baermann-Moraes, mostrou maior sensibilidade, sendo possível identificar a presença de larvas em 61% das amostras analisadas (31/51), dos quais 22 amostras foram positivas para larvas filarióides e 9 amostras positivas para larvas rabditóides. Paralelamente, a técnica de Lutz indicou uma menor sensibilidade na identificação de amostras positivas, uma vez que, das 51 amostras analisadas 18 foram consideradas positivas, dentre elas 14 de filarióides e 4 de rabditóides.

Areia de praia pode constituir um importante problema de saúde pública por estarem contaminadas por ovos e larvas de geohelmintos, configurando dessa forma um excelente meio de veiculação de várias espécies de parasitos. Assim, a presença de larvas filarióides e rabditóides nas amostras estudadas revela condições ambientais favoráveis para embriogênese, desenvolvimento e sobrevivência de parasitos, indicando contaminações constantes das areias das praias por animais parasitados e um potencial risco de infecção em seus frequentadores.

Em todas as quatro praias estudadas apresentaram contaminação por parasitos em menor ou maior intensidade, sendo um indicativo de que nenhuma delas está livre de contaminação por um ou mais helmintos de importância zoonótica.

É de extrema relevância ressaltar que a diferença encontrada na frequência de recuperação de parasitos em amostras de solo pode ser influenciada pela técnica empregada na sua recuperação e pelo número de leituras das lâminas (NUNES, 1991). Assim, a partir dos resultados obtidos, sugerimos que a técnica de Lutz- adaptada seja utilizada para recuperação de ovos em matrizes de areia e a técnica de Baermann-Moraes- adaptada para a recuperação de larvas. Nossos resultados corroboram com os dados existentes na literatura, que aconselha a técnica de Lutz como a que oferece resultados significativos para a pesquisa de ovos de helmintos de uma forma geral, estando incluindo entre eles, os ancylostomídeos e os ascarídeos (SILVA et al., 1991).

A maior sensibilidade da técnica de Baermann-Moraes adaptada na recuperação de larvas ocorre em função do hidrotropismo e no termotropismo das larvas e na tendência destas a sedimentar, quando se encontram na água (REY, 2008).

Alguns autores como Carvalho (2005) citam que a técnica de Baermann-Moraes, embora seja mais sensível na recuperação de larvas também pode ser capaz de detectar outras formas parasitárias além das larvais. Nosso estudo corrobora com tais achados, pois, tal técnica foi capaz de fazer a recuperação de ovos.

A adaptação proposta neste trabalho tem como fim principal facilitar e incentivar a reintrodução da técnica de Baermann-Moraes nos trabalhos rotineiros laboratoriais, pois quando associados a outros métodos poderá enriquecer e aumentar o diagnóstico de larvas de nematódeos de interesse médico e veterinário.

**Tabela 5:** Grau de sensibilidade das técnicas de Lutz- Adaptada e Baermann- Moraes Adaptada na recuperação de estruturas parasitárias proveniente da matriz areia seca durante o período de 2010 a 2011.

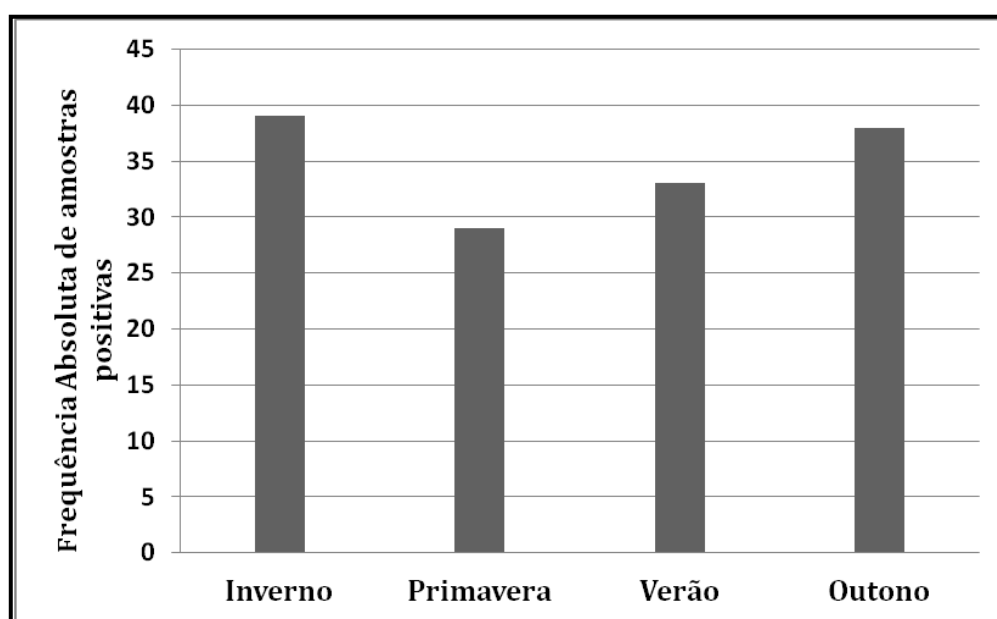
<b>PARASITOS</b>	<b>LUTZ-ADAPTADA</b>	<b>BAERMANN-MORAES ADAPTADA</b>
<i>Ascaris sp</i>	+	+
Ancylostomídeos	+	+
<i>Toxocara sp</i>	+	-
Acantocéfalo	+	-
Strongylata	+	-

Como mostrado na tabela 5, à técnica de Lutz Adaptada mostrou-se mais sensível em relação à técnica de Baermann-Moraes Adaptada por recuperar uma maior diversidade de helmintos. Condição similar têm sido observado por Blazius et al. (2006) estudando a contaminação de areia do Balneário de Laguna, Santa Catarina, onde observaram que além de apresentar maior sensibilidade, a técnica de Lutz demonstrou maior eficácia na recuperação de ovos e larvas de *Toxocara sp.*, ovos de *Trichuris sp.*, devendo por esta razão, ser preconizada em metodologias voltadas para o monitoramento parasitológico em areias de praia.

As técnicas parasitológicas tradicionais adaptadas empregadas no presente estudo, não foram capazes de detectar nas amostras de areia seca, oocisto e cistos de protozoários, que pode ocorrer pelo fato das técnicas utilizadas neste estudo na

investigação parasitária da areia, serem mais propícias para a visualização de ovos e larvas de helmintos. Adicionalmente, estudo realizado por Barbosa (2011) que utilizando as técnicas de Ritchie modificado e a técnica de Sheather modificado em amostras de solo conseguiu identificar oocistos de coccídeo e cisto de amebídeo. Assim, apesar dos estudos tratarem de matrizes ambientais diferentes, tais resultados sugerem a realização de estudos adicionais voltados na comparação de diferentes métodos a fim de selecionar técnicas mais sensíveis capazes de identificar cistos e oocistos de protozoários em areia de praias contaminadas, já que as técnicas empregadas por nós podem não ser sensíveis para a recuperação de tais estruturas parasitárias em modelos considerando areia como matriz ambiental.

Alguns autores como Nunes et al. (2000) e Oge (2000) evidenciaram maior ocorrência de parasitos em amostras fecais do que nas de solo. Em amostras fecais, se obtém a concentração de um grande número de estruturas parasitárias, entretanto, no meio ambiente, essas estruturas se encontram mais dispersas no solo, além de sofrerem ações mecânicas, como por exemplo, de chuvas, ventos ou vetores, o que acaba acarretando a destruição de estruturas parasitárias (MATESCO et al., 2006).



**Figura 29:** Frequência absoluta das amostras de areia seca positivas para as estruturas parasitárias (helmintos/protozoários) relacionadas pelas estações do ano coletadas nas quatro praias estudadas, no período de 2008 a 2011.

Com intuito de realizar o monitoramento parasitológico na região estudada, foi determinada a frequência absoluta das amostras de areia seca positivas para helmintos



e/ou protozoários. Sendo 39 amostras foram positivas no inverno, 29 na primavera, 33 no verão e 38 no outono. (Figura 29).

A maior frequência de amostras positivas foi observada no inverno e o outono, seguido do verão, enquanto que a primavera apresentou o menor número de amostras positivas. Nossos resultados estão de acordo com os encontrados por Salinas et al. (2001), onde verificaram uma tendência de variação sazonal na presença de ovos de helmintos no solo de praças da cidade de Santiago no Chile sendo observado uma maior frequência de positividade também no inverno e no outono. Tais resultados provavelmente decorrem de condições climáticas como a pluviosidade e a movimentação eólica, que segundo Araújo et al. (2008), seriam fatores determinantes para o desenvolvimento e dispersão de ovos de helmintos. No trabalho de Rocha (2007) onde foi realizado um estudo comparativo com a pluviosidade, mostra nitidamente o aumento de ovos e larvas de helmintos nos meses posteriores a grandes picos pluviométricos, indicando uma relação da contaminação ambiental com a estação das chuvas e elevadas umidades. No presente estudo, pelo fato da matriz ambiental utilizada provir de áreas que naturalmente apresentam umidade relativa elevada em todo ano, essa pequena variação observada na frequência de amostras positivas entre as estações provavelmente decorrem de outros parâmetros ambientais, destacando especialmente temperatura e movimentação eólica.

**Tabela 6:** Variação média da umidade relativa do ar e temperatura do ambiente durante o período das coletas (2010-2011) nas estações do ano.

Estações	Umidade relativa do ar (%)	Temperatura do Ambiente (°C)
	X ± DP	X ± DP
Inverno	70 ± 3,83	22 ± 2,16
Primavera	76,25 ± 8,65	28,75 ± 3,20
Verão	75,25 ± 5,50	27 ± 1,41
Outono	81,50 ± 5,80	27 ± 2,94

X = média; DP = desvio padrão

Durante o período das coletas a maior temperatura média foi registrada na primavera ( $28,75 \pm 3,20$ ) e a menor no inverno ( $22 \pm 2,16$ ) apresentando uma variação de 6,75. Com relação à umidade relativa do ar os maiores valores foram alcançados no outono ( $81,50 \pm 5,80$ ) e primavera ( $76,25 \pm 8,65$ ).

Geohelmintos são parasitos que apresentam obrigatoriamente parte do seu ciclo de vida no ambiente. Neste contexto, condições climáticas como temperatura e umidade passam a influenciar diretamente no desenvolvimento ontogênico desses parasitos (REY, 2008).

O presente estudo indica um potencial risco de infecção para humanos, uma vez que ovos e larvas férteis foram encontrados em todas as amostras consideradas positivas no terceiro período do estudo. Segundo Rocha (2007) a temperatura adequada para a embriogênese dos ovos bem como o desenvolvimento das larvas seria em torno de  $22^{\circ}\text{C}$ . O mesmo fato foi mencionado por Mello (2010) o qual revela que a temperatura ideal seria entre  $20^{\circ}\text{C}$  a  $30^{\circ}\text{C}$ , onde forneceria um ambiente propício para tais parasitos.

A temperatura média obtida em cada estação do ano no presente estudo está dentro da variação de temperatura ótima para o desenvolvimento de estruturas parasitárias de acordo com os autores acima.

#### **5.4 – Atlas de Imagens Obtidas de Amostras Positivas do 3º. Período de Estudo**

Das 255 lâminas analisadas e com os registros de medidas dos ovos e larvas, foi possível até o presente constituir um Atlas de Imagens (dados não apresentados completamente), sendo montado para ilustrar a figura 30 (em anexo) com 8 imagens das formas parasitárias encontradas, sendo feita a identificação dos parasitos encontrados a nível de grupo e ordem. Contudo como perspectiva futura deste trabalho, apontamos que este banco de imagens servirá para o aprofundamento do trabalho de identificação. O fato de não terem vistos cistos pode ser atribuído a condições de salinidade observada nesta matriz ambiental, por conta do ambiente praiano.

Em anexo banco de imagens de parte do Atlas (Figura 30).

### 5.5- Avaliação por Imunofluorescência: ELISA

**Tabela 7:** Frequência absoluta e relativa dos protozoários *Giardia sp.*, *Cryptosporidium sp.* e *Entamoeba sp.* Comparações dos resultados obtidos por técnicas de Lutz Adaptada, Baermann-Moraes Adaptada e ELISA. Realizados em 129 amostras de areia seca.

PROTOZOÁRIOS	MÉTODOS					
	LUTZ ADAP.		BAERMANN ADAP.		ELISA	
	FA	%	FA	%	FA	%
<i>Giardia sp.</i>	0	0	0	0	4	3,1
<i>Cryptosporidium sp.</i>	0	0	0	0	107	82,9
<i>Entamoeba sp.</i>	0	0	0	0	0	0

FA: Frequência Absoluta; %: Frequência relativa.

Das 129 amostras de areia seca obtidas nas quatro praias estudadas, foi possível detectar pela técnica ELISA, positividade para *Giardia sp.* em 3,1% (4/129) e na detecção de *Cryptosporidium sp.* em 82,9% ( 107/129), enquanto que para as técnicas tradicionais de microscopia (Lutz Adaptada e Baermann-Moraes Adaptada) não houve a visualização de cistos *Giardia sp.* ou oocisto de *Cryptosporidium sp.* O ELISA não mostrou nenhuma positividade para *Entamoeba sp.*, sendo que o mesmo ocorreu com as técnicas tradicionais, onde não foram detectados cistos de amebídeo tetranucleado.

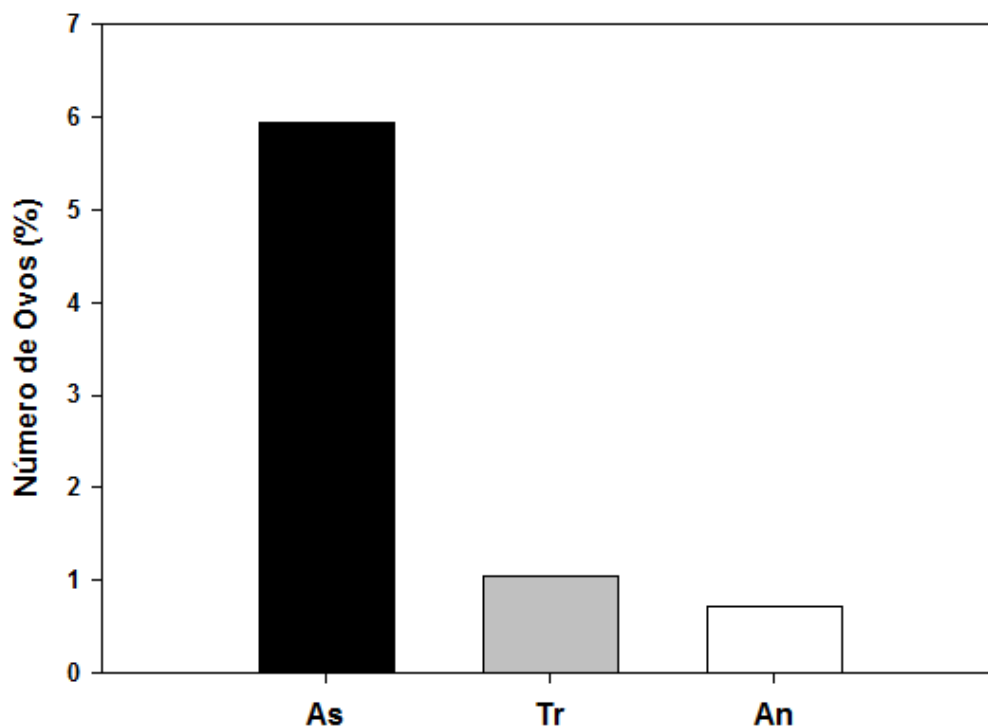
Não foi calculado o índice de sensibilidade e especificidade de detecção das estruturas de *Giardia sp.*, *Cryptosporidium sp.* e *Entamoeba sp.*, visto que só foram identificados no ensaio imunoenzimático.

Nossos resultados indicam que os Kits utilizados para o ensaio de ELISA foram mais sensíveis para presença de *Giardia sp.* e *Cryptosporidium sp.* em relação as técnicas tradicionais utilizadas (Lutz Modificado e Baermann-Moraes Modificado). Resultados similares, contudo, para matriz diferente da ambiental, sendo fezes foi observado por Berne et al. (2006) quando comparando métodos coprológicos tradicionais e ensaio de ELISA que observaram uma maior positividade para *Giardia lamblia* na amostra estudada pelo método imunoenzimático do que pelas tradicionais. Em adição Johnston et al. (2003) revelaram ainda que uma das vantagens da utilização de imunodiagnóstico é a possibilidade de testar um grande número de amostras simultaneamente, de leitura objetiva e de forma rápida. Entretanto a ocorrência de resultados falso-positivos e falso-negativos tem sido observada. Porém no caso de amostras ambientais é preciso frisar que como esta técnica está relacionada com a detecção de epítomos (pedaços da proteína alvo), mesmo na ausência da forma viável, mas já degradada da célula, será detectada por esta técnica.

Nos nossos estudos não foi considerado no resultado final a interpretação dos resultados visuais da coloração obtida nos resultados das placas de ELISA. Só foram considerados os resultados de Densidade Óptica (D.O.), em que todos os poços foram lidos a 450/650 nm. Contudo o registro da coloração foi feito para efeitos de confirmação do esperado.

O ponto de corte foi estabelecido de acordo com as instruções do fabricante. O valor do ponto de corte foi estabelecido para *Giardia sp.* e *Cryptosporidium sp.* foi leitura de absorbância acima de 0,08 DO. Para *Entamoeba sp.* leitura de absorbância acima de 0,15 DO.

### 5.6- Avaliação da Recuperação de Parasitos em Areia Seca: Contaminação experimental da areia



**Figura 31:** Frequência relativa do número de ovos recuperados pela técnica de Lutz após a contaminação das amostras de areia seca. ■ As - *Ascaris sp.*; ■ Tr - *Trichuris sp.*; □ An - *Ancylostoma sp.*

Com o propósito de investigar o grau de eficácia da técnica de Lutz na recuperação de ovos de geohelminhos (*Ascaris sp.*, *Trichuris sp.* e *Ancylostoma sp.*) realizamos neste protocolo a contaminação experimental de amostras de areias com fezes positivas para os respectivos helmintos, como parâmetro de comparação com estudos observacionais que indicam a utilização dessa técnica na recuperação de diferentes espécies de parasitos.

Foram obtidos como resultados de ovos de helmintos nas fezes utilizadas: 10527,6 As/g; 119 Tr/g, na amostra 1; 383,7 Tr/g na amostra 2; 23021,6 As/g na amostra 3 e 1630,7 An/g na amostra 4. E quanto à sensibilidade das análises parasitológicas em areia contaminada para ovos de As foi obtido resultados em torno de 5,63%, para Tr foi de 1,04 % e de An foi de 0,73%.

Atualmente, sabemos que parasitoses intestinais são frequentes em nosso meio sendo utilizadas como indicadores de condições sanitárias inadequadas e maus hábitos de higiene (SOUZA et al., 1979), especialmente em crianças, que por falta de orientação

dos pais ou por não apresentarem hábitos de higiene e saúde consolidados, configuram-se como a fração mais susceptível a aquisição de doenças (SALUM et al., 1989).

Dessa maneira, a presença estruturas parasitárias como ovos de helmintos, configuram-se como importantes biomarcadores de contaminação ambiental, podendo constituir-se em coadjuvante necessário a um adequado monitoramento sanitário do meio (SILVA et al., 1991), bem como, no emprego de medidas sanitárias voltadas para sua erradicação.

Os resultados obtidos pela técnica de Lutz comprovam a boa sensibilidade (com recuperação em média de 2,46% ( $\pm 2,74$ ) para o diagnóstico de ovos de helmintos em areias contaminadas, mesmo em amostras cuja a carga parasitária era baixa, sugerindo sua utilização em estudos de monitoramento epidemiológicos de geohelmintos e contaminação ambiental.

## **6- PERSPECTIVAS FUTURAS DO TRABALHO**

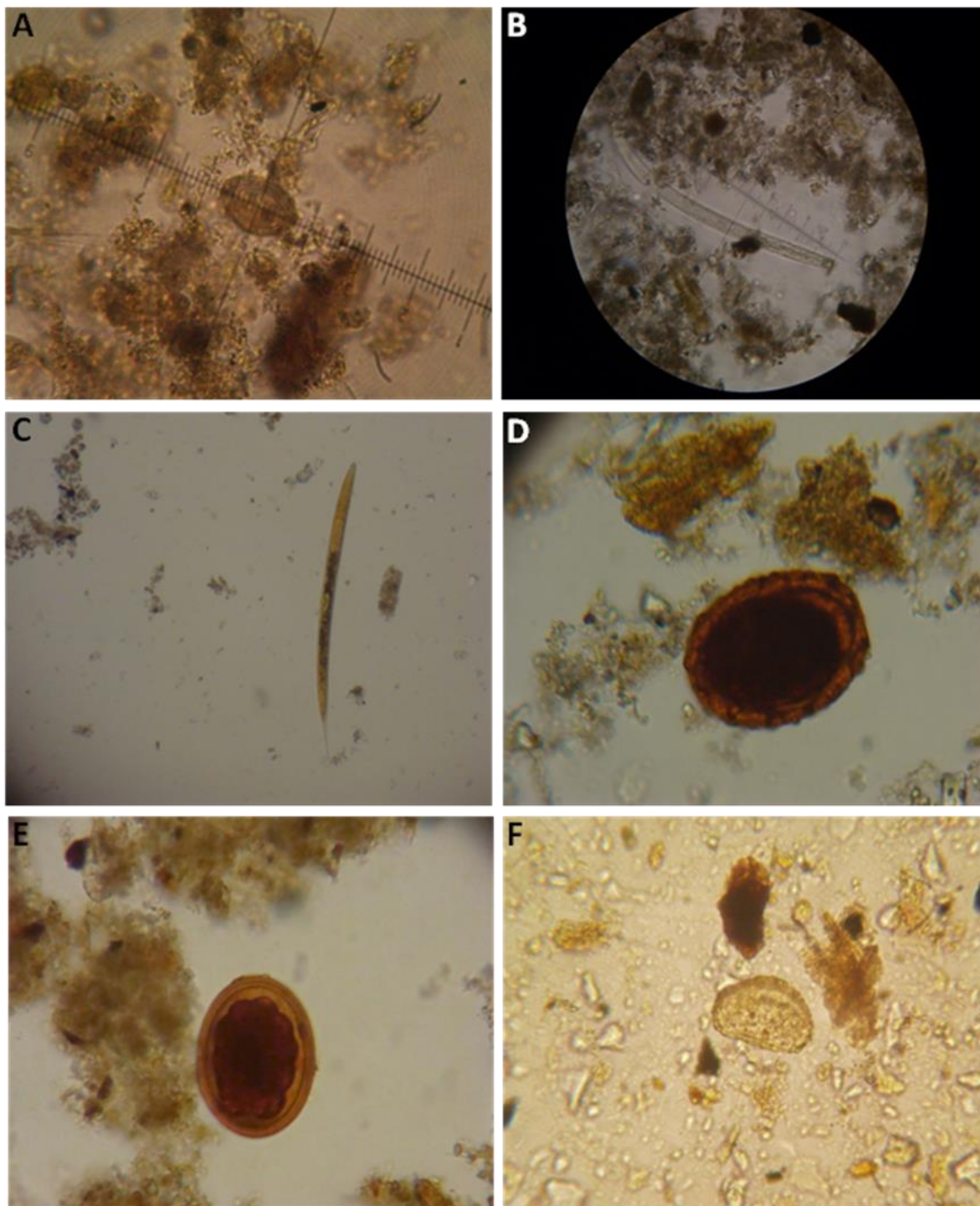
- O banco de imagens construído neste estudo servirá para o aprofundamento do trabalho de identificação, que poderá chegar a identificar os parasitos observados até espécie;
- Estudo de recuperação de parasitos em areia seca poderá ser melhorado a partir do que foi observado e testado neste trabalho, contribuindo para estimativa dos padrões de parasitos por grama de areia;
- Estudos por biologia molecular poderão ser feitos a partir das amostras de precipitados que foram guardadas desde 2008.
- Estudos epidemiológicos poderão ser realizados com associação da correlação dos níveis sanitários encontrados nas praias com a incidência de doenças encontradas na população que faz uso dessas praias.

## 7- CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os níveis de Colimetria encontrados nas praias da Ilha do Governador e da Ilha de Paquetá estiveram acima dos valores definidos como aceitáveis pela Resolução n. 468/2010 da SMAC em todas as campanhas realizadas e em todas as praias monitoradas, portanto tornam-se impróprias para serem utilizadas como áreas de recreação.
- Comparando-se as médias dos resultados dos níveis colimétricos encontrados nas praias estudadas em areia seca, a praia José Bonifácio em Paquetá foi a que teve os piores índices no 3º. Período de estudo.
- Os resultados encontrados para parasitos em areia seca, utilizando a técnica de Lutz adaptada, assim como utilizando a técnica de Baermann-Moraes Adaptada corroboram com os dados da literatura e a técnica de Lutz adaptada é apropriada para esse tipo de matriz ambiental;
- Os níveis colimétricos expressos na legislação carioca para areia são muito permissíveis, uma vez que na maioria das campanhas foram observados valores colimétricos que ultrapassam os estabelecidos como satisfatórios, e quando isso não ocorria às condições observadas visualmente pelo coletor eram de péssimas;
- As condições sanitárias relacionadas com parasitos presentes em praias precisam ser investigadas e monitoradas, para informar a população sobre os riscos encontrados nesses ambientes, e para que o órgão público possa oferecer condições de melhoria desses ambientes.



## ANEXO



**Figura 30.** Microscopia de luz realizada em matrizes ambientais (areias) naturalmente contaminadas por ovos e larvas de diferentes geohelminthos. A – Ovo de Acantocéfala (30 x 24  $\mu\text{m}$ ) . B – Larva Filarioíde (220 x 14  $\mu\text{m}$ ). C – Larva Rabditóide (100 x 12  $\mu\text{m}$ ). D – Ovo de Ascaridata (60 x 36  $\mu\text{m}$ ). E – Ovo de Strongylata (56 x 34  $\mu\text{m}$ ). F – Ovo de Ascaridata (70 x 50  $\mu\text{m}$ ).

## 8- REFERÊNCIAS

ABRAHAMSEN, M.S.; TEMPLETON, T.J.; ENOMOTO, S.; ABRAHANTE, J.E.; ZHU, G. Monitoramento da Qualidade das Areias das Praias do Município do Rio de Janeiro. Complete genome sequence of the apicomplexan, *Cryptosporidium parvum*. **Science**, v.304, p.441- 445, 2004.

ALONSO, J.M. Contamination of soils with eggs of *Toxocara* in a subtropical city in Argentina. **Journal of Helminthology**, v.75, p.165-168, 2001.

AMARAL, L.A.; FILHO, A.N.; JUNIOR, O.D.R.; FERREIRA, F.L.A.; BARROS, L.S. S. Água de consumo humano como fatos de risco à saúde em propriedades rurais. **Revista Saúde Pública**, v.37, p.510-514, 2003.

ANARUMA, F.F. Toxocaríase humana e parasitoses intestinais em áreas sob o risco de enchentes no município de Campinas, Estado de São Paulo, Brasil. Tese de Doutorado. Universidade de Campinas, 2002.

ANDERSON, T.J.C. The dangers of using single locus markers in parasite epidemiology: *Ascaris* as a case study. **Trends in Parasitology**, v.17, p.183-188, 2001.

ARAÚJO, F.R.; CROCCI, A.J.; ROGRIGUES, R.G.C.; AVALHAES, J.S.; MIYOSHI, M.I.; SALGADO, F.P.; SILVA, M.A.; PEREIRA, M.L. Contaminação de praças públicas de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, por ovos de *Toxocara* e *Ancylostoma* em fezes de cães. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.32, p.581-583, 1999.

ARAÚJO, N. S.; RODRIGUES, C.; CURY, M. Helminthes in sandboxes of day care centers of a city in Southeastern Brazil. **Revista de Saúde Publica**, v.42, p.150-153, 2008.

ASSOCIAÇÃO BANDEIRA AZUL DA EUROPA, Agência Portuguesa do Ambiente. Monitorização da qualidade das areias em zonas balneares: época balnear de 2008. Lisboa, 2008.

BAERMANN, G. Eine einfache Methode zur Auffindung Von Ankylostomum (Nematoden) – Larven in Erdproben. Mededeelingen uit het geneeskunding. Laboratorium. Weltevreden., Feestbundel, 1917.

BLAZIUS, R.D.; SILVA, O.S.; KAULING, A.L.; RODRIGUES, D.F.P.; LIMA, M.D. Contaminação da areia do Balneário de Laguna, SC, por *Ancylostoma* spp., e *Toxocara* spp. em amostras fecais de cães e gatos. **Arquivo Catarinense de Medicina**, v.35, p. 55-58, 2006.

BOEHM, A.B.; GRIFFITH, J.; MCGEE, C.; EDGE, T.A.; SOLO-GABRIELE, H.M.; WHITMAN, R.; CAO, Y.; GETRICH, M.; JAY, J.A.; FERGUSON, D.; GOODWIN, K.D.; LEE, C.M.; MADISON, M.; WEISBERG, S.B. Faecal indicator bacteria enumeration in beach sand: a comparison study of extraction methods in medium to coarse sands. **Journal of Applied Microbiology**, v.107, p.1740-1750, 2009.

BONILLA, T. D.; NOWOSIELSK, K.; AUVELIER, M.; HARTZ, A.; GREEN, M. Prevalence and distribution of fecal indicator organisms in South Florida beach sand and preliminary assessment of health effects associated with beach sand exposure. **Marine Pollution Bulletin**, v.54, p.1472-1482, 2007.

BORJA, P.C. Indicadores de saúde ambiental – Saneamento em políticas públicas: Análise crítica e proposta. In: **Congresso interamericano de engenharia sanitária e ambiental**, 27, 2000, Porto Alegre. Anais da ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária. Rio de Janeiro, 2000.

BOUKAI, N. Qualidade sanitária da areia das praias no município do Rio de Janeiro: diagnóstico e estratégia para monitoramento e controle. Dissertação de Mestrado. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2009.

BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente – CONAMA. Ministério do Meio Ambiente. Decreto nº 88.351, de 01 de junho de 1983.

BURET, A. G.; SCOTT, K. G. E.; CHIN, A. C. Giardiasis: pathophysiology and pathogenesis. In: OLSON, B.E., OLSON, M.E., WALLIS, P.M. (Eds.), **Giardia: The Cosmopolitan Parasite**. 3. ed. Wallingford UK: CAB International, 2002. p. 109–125.

CACCIO, S.M.; THOMPSON, A.C.R.; MCLAUCHLIN, J.; SMITH, V.H. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. **Trends in Parasitology**, v.21, p.430-437, 2005.

CAIRNCROSS, S., FEACHEM, R.G. Environmental health engineering in the tropics: an introductory text. 4.ed. Chichester: John Wiley & Sons, 1990. 283p.

CAREY, M.C.; LEE, H.; TREVORS, T.J. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. **Water Research**, v. 38, p. 818-862, 2004.

CARVALHO, F.M.; FALCÃO, A.O.; ALBURQUERQUE, M.C.; SILVA, P.; BASTOS, O.M.P.; UCHÔA, C.M.A. Diagnóstico Coproparasitológico: estudo comparativo entre métodos de Faust e cols., Lutz, Baermann-Moraes, Coprotest. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.34, p.75-77, 2002.

CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Qualidade das praias litorâneas do Estado de São Paulo. Governo do Estado de São Paulo. São Paulo: Secretaria de Meio Ambiente, 2004.

CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Qualidade das praias litorâneas do Estado de São Paulo. Governo do Estado de São Paulo. São Paulo: Secretaria de Meio Ambiente, 2011.

CEZARINA, M.N.S. Relação Saneamento-Saúde-Ambiente: os discursos preventivista e da promoção da saúde. **Saúde e Sociedade**, v.16, p.125-137, 2007.

COLES, G. C.; JACKSON, F.; POMROY, W. E.; PRICHARD, R. K.; VON SANSON-HIMMELS, G.; SILVESTRE, A.; TAYLOR, M. A.; VERCRUYSSSE, J. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v.136, p.3-4, 2006.

CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE – CONAMA (Brasil). Ministério do Ambiente. Resolução nº 274, de 29 de Novembro de 2000. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 25 jan. 2001; 18: Seção 1, p. 70-71.

CORDEIRO, T.G.P.; MACEDO, H.W. Amebíase. Departamento de patologia, Universidade Federal Fluminense. **Revista de Patologia Tropical** v.36, p.119-128, 2007.

CÔRTEZ, M.B.V. Gestão da qualidade da água para consumo humano: diagnóstico microbiológico e parasitário dos rios Macacu, Caceribu e Guapi-Macacu. Niterói, 2010. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Fluminense. p.113, 2010.

CROMPTON, D.W. How much human helminthiasis is there in the world? **Journal for Parasitology**, v.5, p.397-403, 1999.

DUNSMORE, J.D.; THOMPSON, R.C.A.; BATES, I.A. Prevalence and survival of *Toxocara canis* eggs in urban environment of Perth, Australia. **Veterinary Parasitology**, v.16, p.3003-3011, 1984.

EATON, A. D.; CLESCERL, L. S.; RICE, E. W.; GREENBERG, A. E.; FRANSON, M. A. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21. ed. New York: American Water Works Association, 2005. 1368 p.

EGLER, C. A.; CRUZ, C. B. M.; MADSEN, P. F. H.; COSTA, S. M.; SILVA, E. A. Proposta de zoneamento ambiental da Baía de Guanabara. **Anuário do Instituto de Geociências – UFRJ**, v.26, p.127-138, 2003.

FAYER, R.; SANTÍN, M.; TROUT, J.M. *Cryptosporidium ryanae* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). **Veterinary Parasitology**, v. 156, p. 191-198, 2008.

FERREIRA, C.S.; MONTEIRO, C.A. Tendência secular das parasitoses intestinais na infância na cidade de São Paulo (1984-1996). **Revista de Saúde Pública**, v.34, p.73-82, 2000. Em: Plano Nacional de Controle e Vigilância das Enteroparasitoses, p.10. Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, Brasília-DF.

GOMES, T.C.; ALMEIDA, M.F.; MIURA, L.A.; GRANJA, J.L.; SANTOS, D.V.; OLIVEIRA, R.M.; LOPES, A.; SEQUEIRA, B.P.; ROLEMBERG, A.A.; MORAES, A.L.; SANTOS, C.S. Helmintos intestinais em população de rua da cidade do Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.35, p.531-532, 2002.

GRONEWOLD, A.D.; WOLPERT, R.L. Modeling the relationship between most probable number (MPN) and colony-forming unit (CFU) estimates of fecal coliform concentration. **Water Research**, v.42, p.3327-3334, 2008.

GUIMARÃES, A.M.; ALVES, E.G.L.; REZENDE, G.F.; RODRIGUES, M.C. *Toxocara* sp. eggs and *Ancylostoma* sp. Larva in public parks, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v.39, p.293-295, 2005.

HELLER, L. Saneamento e Saúde. Brasília: OPAS/OMS, 1997.

Instituto Estadual do Ambiente. INEA. Qualidade da água. Rio de Janeiro, Brasil; 2011. Disponível em: <http://www.inea.rj.gov.br/fma/qualidade-agua.asp>. Acesso em 3 de março de 2012.

Instituto Estadual do Ambiente. INEA. Qualidade da Água, 2011. Disponível em <http://www.inea.rj.gov.br/fma/qualidade-agua.asp>. Acesso em 25 de abril de 2012. Janeiro. (SMAC).Relatório 12. Rio de Janeiro. Setembro 2002.

KEISER, J.; UTZINGER, J. Efficacy of current drugs against soil-transmitted helminth infections: systematic review and meta-analysis. **Journal of the American Association**, v.299, p.1937–1948, 2008.

LIMA, E.C.R. **Qualidade de Água da Baía de Guanabara e Saneamento: Uma Abordagem Sistêmica**. 2006. 183f. Rio de Janeiro. Tese (Doutorado em Engenharia)-Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

LUDWIG, K.M.; FREI, F.; FIRMINO, A.F.; RIBEIRO-PAES, J.T. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais na população de Assis, Estado de São Paulo (1999). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.32, p. 547-555, 1999.

LUTZ, A.O. *Shistosoma mansoni* e a shistosomatose segundo observações feitas no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.11, p.121-155, 1919.

MAIER, L. M.; OLIVEIRA, V. R.; REZENDE, K. C. R.; VIEIRA, V. D. R.; CARVALHO, C. R. Avaliação da presença de fungos e bactérias patogênicas nas areias de duas praias de baixo hidrodinamismo e alta ocupação humana no litoral do município do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Instituto Municipal de Urbanismo Pereira Passos, jul. 2003. (Estudos cariocas).

MATESCO, V.C.; MENTZ, M.B.; ROTT, M.B.; SILVEIRA, C.O. Contaminação sazonal por ovos de helmintos na praia de Ipanema, em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v.35, p.135-141, 2006.

MELLO, C.B.S. Avaliação parasitológica e contaminação sazonal de areias de parques públicos na região da zona leste da cidade de São Paulo. Dissertação de Mestrado em Saúde Pública. Universidade de São Paulo. S.P. Departamento de Saúde Ambiental. 2010.

MELONI, B.P.; THOPSON, R.C.; HOPKINS, R.M.; REYNOLDS, J.A.; GRACEY, M. The prevalence of *Giardia* and other intestinal parasites in children, dogs and cats

from aboriginal communities in the Kimberley. **Medicine Journal Australian Murdoch University**, v.158, p.157–159, 1993.

MENDES, B.; NASCIMENTO, M.J.; OLIVEIRA, J.S. Preliminary characterization and proposal of microbiological quality standard of sand beaches. **Water Science and Technology**, v.27, p.453-456, 1993.

MONS, C.; DUMETRE, A.; GOSSELIN, S.; GALLIOT, C.; MOULIN, L. Monitoring of *Cryptosporidium* and *Giardia* river contamination in Paris area. **Water research**, v.43, p.211-217, 2009.

MORO, F.C.B.; PRADEBON, J.B.; SANTOS, H.T.; QUEROL, E. *Ancylostoma* spp. e *Toxocara* spp. **Biodiversidade Pampeana. Pucrs, Uruguaiana**, v.6, p.25-29, 2008.

NEVES, D.; MELLO, A.L.; GENARO, O.; LINARDI, P.M. **Parasitologia Humana**. 10. ed. São Paulo: Atheneu, 2000. p.428.

NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. p.494.

O’LORCAIN, P.; HOLLAND, C.V. The public health importance of *Ascaris lumbricoides*. **Parasitology**, v.121, p.51-71, 2000.

OMS/WHO, World Health Organization Weekly Epidemiological Record 81: 145-164, 2006.

PEREIRA, C.S. A cultura de mexilhões na Baía de Guanabara e suas implicações para a Saúde Pública – Contexto Político-Social e Microbiológico. Tese de Doutorado. Rio de Janeiro. Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, 2003.

PERUCA, L.C.B.; LAGONI, H.; LUCHEIS A.B. Larva *Migrans* visceral e cutânea como zoonozes: Revisão de Literatura. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, p.601-616, 2009.



PINTO, K. C. Avaliação Sanitária das águas e areias de praias da Baixada Santista, São Paulo. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. Departamento de Saúde Ambiental, 2010.

QUILÈS, F.; BALANDIER, J.Y.; CAPIZZI-BANAS, S. In situ characterisation of a microorganism surface by Raman microspectroscopy: the shell of *Ascaris* eggs. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.386, p.249-255, 2006.

REGO, J.C.V. Qualidade sanitária de água e areia de praias da Baía de Guanabara. Dissertação de Mestrado. Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, 2010.

REY, L. **Parasitologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p.883.

REY, L. Parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África. In: REY, L. **Parasitologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, p.856.

REYNOLD, K.A.; MENA, K.D.; GERBA, C.P. Risk of waterborne illness via drinking water in the United states. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology** v.192, p.117-158, 2008.

RIBEIRO, E.N; SANTOS, A.B; GONÇALVES, R.F; CASSINI, S.T.A. Recreational water and sand sanitary indicators of Camburi beach, Vitória, ES, Brazil. In: **Congresso Interamericano de Ingenieria Sanitaria y Ambiental**. Anais eletrônicos, 2002.

RIGOTTO, R.M. Saúde Ambiental & Saúde dos Trabalhadores: uma aproximação promissora entre o Verde e o Vermelho. **Revista brasileira de epidemiologia**, v.6, p. 388-404, 2003.

ROCHA, S. Análise ambiental do perfil parasitário encontrado no solo arenoso das praias do Município de Santos, SP. Dissertação de Mestrado em Saúde Coletiva. Setor de Ambiente e Saúde, Universidade Católica de Santos, 2007.

SALUM, N.A.; CREMONESI, E.; ORIA, H. Parasitoses intestinais: diagnóstico de saúde do escolar. **Revista Paulista de Pediatria**, v.7, p.100-106, 1989.

SANTARÉM, U.A.; SARTOR, I.F.; BERGAMO, F.M.M. Contaminação por ovos de *Toxocara* spp de parques e praças públicas de Botucatu, São Paulo, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.31, p.529-532, 1998.

SANTARÉM, V.A.; GIUFFRIDA, R.; ZANIN, G.A. Larva *migrans* cutânea: ocorrência de casos humanos e identificação de larvas de *Ancylostoma* spp. em parque publico do município de Taciba, São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.37, p.179-181, 2004.

SCHROEDER, C.M.; MENG, J.; ZHAO, S.; DEBROY, C.; TORCOLINI, J.; ZHAO, C.; McDERMOTT, P.F.; WAGNER, D.D.; WALKER, R.D.; WHITE, D.G. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O26, O103, O111, O128, and O145 from animals and humans. **Emerging Infectious Diseases**, v.8, p.1409-1414, 2002.

SCHUSTER, F.L.; VIVESVARA, G.S. Amoebae and ciliated protozoa as causal agents of waterborne zoonotic disease. **Veterinary Parasitology**, v.126, p.91-120, 2004.

SILVA, J. P.; MARZOCHI, M.C.A.; SANTOS, E.C.L. Avaliação da contaminação experimental de areias de praias por enteroparasitas. Pesquisa de ovos de Helminthos. **Caderno de Saúde Pública**, v.7, p.90-99, 1991.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 4. ed. São Paulo: LivrariaVarela, 2010. 632p.

SILVA, P. F.; CAVALCANTI, I. M. D.; IRMÃO, J. I.; ROCHA, F. J. Common beach sand contamination due to enteroparasites on the southern coast of Pernambuco state, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.51, p.217-218, 2009.

SOARES, A.S.R.; BERNARDES, R.S.; NETTO O.M.C. Relações entre saneamento, saúde pública e meio ambiente: elementos para formulação de um modelo de planejamento em saneamento. **Caderno de Saúde Pública**, v.18, p.1713-1724, 2002.

SOUZA, W.J.S.; MAZZUCCO, A.M.; COUTINHO, S.G. Prevalência de parasitismo por *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* em 436 escolares do Rio de Janeiro. **Jornal de Pediatria**, v.46, p.227-233, 1979.

STEPHENSON, L.S.; HOLLAND, C. V.; COOPER, E. S. The public health significance of *Trichuris trichiura*. **Parasitology**, v.121, p.73-95, 2000.

THOMPSON, A.C.R. Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. **International Journal for Parasitology**, v.30, p.1259-1267, 2000.

THOMPSON, R.C.A. The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. **Veterinary Parasitology**, v.126, p.15-35, 2004.

THYSSEN, P.J.; MORETTI, T.C.; UETA, M.T.; RIBEIRO, O.B. O papel de insetos (Blattodea, Diptera e Hymenoptera) como possíveis vetores mecânicos de helmintos em ambiente domiciliar e peridomiciliar. **Caderno de Saúde Pública**, v.20, p.1096-1102, 2004.

TRABULSI, L.R.; ORDOÑEZ, J.G.; MARTINEZ, M.B. Enterobacteriaceae. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**, 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 269-276.

VIANA, M.O. Bioprospecção de bactérias com potencial biotecnológico para biorremediação e monitoramento de praias impactadas da Baía de Guanabara/RJ. Rio de Janeiro, 2011. Dissertação de Mestrado. Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz. 2011.

ZUNINO, M.G.; DE FRANCESCO, M.V.; KURUC, J.A.; SCHWEIGMANN, N.; WISNIVESKY-COLLI, M.; CRISTINA, J.O. Contaminación por helmintos en espacios públicos de la provincia de Chubut, Argentina. **Boletín chileno de parasitología**, v.55, p.78-83, 2000.

\_\_\_\_\_. Monitoramento da Qualidade das Areias das Praias do Município do Rio de Janeiro. (SMAC). Relatório 12. Rio de Janeiro. Setembro 2002.