

FACULDADE CATÓLICA SALESIANA DO ESPÍRITO SANTO

TARCILA RODRIGUES DE CARVALHO

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE AREIA DE PRAIAS DO MUNICÍPIO DE
VITÓRIA/ES PELAS TÉCNICAS DE TUBOS MÚLTIPLOS E MEMBRANA
FILTRANTE**

VITÓRIA
2014

TARCILA RODRIGUES DE CARVALHO

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE AREIA DE PRAIAS DO MUNICÍPIO DE
VITÓRIA/ES PELAS TÉCNICAS DE TUBOS MÚLTIPLOS E MEMBRANA
FILTRANTE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade Católica Salesiana do Espírito Santo,
como requisito obrigatório para obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. MSc. Marcus Andrade Covre

VITÓRIA
2014

TARCILA RODRIGUES DE CARVALHO

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE AREIA DE PRAIAS DO MUNICÍPIO DE
VITÓRIA/ES PELAS TÉCNICAS DE TUBOS MÚLTIPLOS E MEMBRANA
FILTRANTE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade Católica Salesiana do Espírito Santo,
como requisito obrigatório para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em ____ de _____ de ____, por:

Prof. . MSc. Marcus Andrade Covre, FCSES - Orientador

Prof. Msc. Danilo Santos-Camargo - FCSES

Prof. Msc. Mauricio da Silva Mattar - FCSES

Aos meus pais Delicio e Dirce e ao meu marido Vinícius.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me proporcionar essa conquista.

Aos meus pais Delício e Dirce, por acreditar em mim.

Ao meu irmão Gabriel e ao meu sobrinho Ian.

Ao meu marido Vinícius, que sempre esteve ao meu lado me incentivando e apoiando, nunca permitindo que eu desistisse desse sonho.

Ao Prof. Ms Marcus Andrade Covre, pela orientação e confiança;

A Profa. Lílian Cristiane Moreira pelo apoio metodológico.

A Profa. Miriam Aparecida Ignácio de Almeida pelo apoio estatístico.

A todos que direta ou indiretamente, de alguma forma, contribuíram para a realização do presente trabalho.

RESUMO

As praias do município de Vitória-ES são reconhecidas como um atrativo turístico, representando um importante fator para o desenvolvimento do turismo e da economia local. Além disso, as praias permitem diversas atividades de lazer aos habitantes da cidade, independentemente de poder aquisitivo, nível cultural ou social. Diante da importância das praias para o município, o monitoramento da qualidade das areias de praia é indispensável. Atualmente, os principais indicadores de qualidade de areia utilizados são as bactérias do grupo Coliformes termotolerantes. As técnicas de análise mais usadas com a finalidade de enumerar os coliformes são Tubos Múltiplos, Membrana Filtrante e Substratos Cromogênicos. Assim, o objetivo desse trabalho foi o de comparar o desempenho das técnicas de Tubos Múltiplos e Membrana Filtrante para a identificação e quantificação de Coliformes termotolerantes na areia de três praias do município de Vitória. Os resultados obtidos demonstraram que a técnica de Tubos Múltiplos se apresentou mais eficaz do que a técnica de Membrana Filtrante no quesito positividade e que não houve diferença significativa entre as médias das concentrações de Coliformes termotolerantes encontrados pelas técnicas.

Palavras-chave: Microrganismos Indicadores. Monitoramento. Areia de Praia. Técnicas de Análises. Patógenos.

ABSTRACT

The beaches of Vitória-ES city are recognized as a tourist attraction, representing an important factor for the development of local tourism and economy. Besides, the beaches allow many leisure activities to the city inhabitants, independently of their purchasing power, cultural or social level. Considering the importance of the beaches for the city, the quality monitoring of beaches' sand is indispensable. Actually, the mainly used quality indicators of sand are the bacteria from thermotolerant coliforms group. The analysis techniques more applied to enumerate coliforms are Multiple-Tube, Membrane Filter and Chromogenic Substrate. Therefore, the objective of this work was to compare the performance of Multiple-Tube and Filtrating Membram techniques for identification and quantification of thermotolerant coliforms in the sand from three beaches of Vitória city. The results demonstrate that Multiple Tubes technique was more effective than the Membrane Filter technique when considering positivity and that there was no significant difference between the fecal coliforms concentration average identified by these techniques.

Keywords: Indicator Microorganisms. Monitoring. Beaches' Sand. Analysis Techniques. Pathogens.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Efeito da temperatura sobre o crescimento de bactérias.	34
Figura 2 – Inoculação da amostra e volumes decimais.	40
Figura 3 – Procedimento da membrana filtrante.	41
Figura 4 – Mudança de coloração quando os substratos ONPG (coloração amarela - A) e MUG (coloração azul - B) são degradados.	42
Figura 5 – <i>Clostridium perfringens</i>	46
Figura 6 – <i>Staphylococcus aureus</i>	46
Figura 7 – <i>Escherichia coli</i>	47
Figura 8 – Células de levedura de <i>C. albicans</i>	48
Figura 9 – Leveduriformes do <i>Histoplasma capsulatum</i>	48
Figura 10 – Trofozoítos de <i>Giardia lamblia</i>	49
Figura 11 – <i>Ancylostoma</i> sp.	50
Figura 12 – Pontos de coleta da água nas praias do município de Vitória em março de 2014.	52
Figura 13 – Estações de monitoramento selecionadas para o estudo.	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Limites para classificação das areias.	30
Tabela 2 – Propostas de padrões internacionais para qualidade microbiológica das areias.	30
Tabela 3 – Porcentagem de <i>E.coli</i> em fezes humanas e animais.	38
Tabela 4 – Ocorrência de enterococos em amostras de fezes de seres humanos e outros animais de sangue quente.	39
Tabela 5 – Coordenadas geográficas das estações de monitoramento no Município de Vitória-ES.	59
Tabela 6 – Concentração de Coliformes termotolerantes obtida pela técnica de membrana filtrante (UFC/100g) nas areias das estações estudadas.	68
Tabela 7 – Concentração de Coliformes termotolerantes obtida pela técnica de tubos múltiplos (NMP/100g) nas areias das estações estudadas.	68
Tabela 8 – Consolidação dos resultados da concentração de Coliformes termotolerantes obtidos nas amostras de areia seca e úmida pela técnica de tubos múltiplos.	71
Tabela 9 – Consolidação dos resultados da concentração de Coliformes termotolerantes obtidos nas amostras de areia seca e úmida pela técnica de membrana filtrante.	74
Tabela 10 – Consolidação dos resultados da concentração de Coliformes termotolerantes obtidos pelas técnicas de membrana filtrante e tubos múltiplos.	75

LISTA DE FOTOGRAFIAS

Fotografia 1 – Procedimento de coleta de amostras de areia.	61
Fotografia 2 – Homogeneização das amostras de areia.	62
Fotografia 3 – Filtração em membrana das amostras.	63
Fotografia 4 – Identificação e quantificação das colônias de Coliformes termotolerantes.	63
Fotografia 5 – Turvação da amostra com presença de gás.	65

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Percentual de positividade nas técnicas de membrana filtrante e tubos múltiplos.	69
Gráfico 2 – Positividade das amostras de areia úmida e seca pela técnica de tubos múltiplos.	70
Gráfico 3 – Positividade das amostras de areia entre as estações de coleta pela técnica de tubos múltiplos.	72
Gráfico 4 – Positividade das amostras de areia úmida e seca pela técnica membrana filtrante.	73
Gráfico 5 – Positividade das amostras de areia entre as estações de coleta pela técnica de membrana filtrante.	75

LISTA DE SIGLAS

ABAE – Associação Bandeira Azul da Europa

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

CPP – Contagem Padrão em Placas

CPRG – Clorofenol Vermelho - β -D-Galactopiranosido

FATMA – Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina

FEPAM – Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luiz Roessler

IAP – Instituto Ambiental do Paraná

IDEMA – Instituto de Desenvolvimento Sustentável e Meio Ambiente do Estado do Rio Grande do Norte

IEMA – Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos

INEA – Instituto Estadual do Ambiente

INEMA – Instituto do Meio Ambiente e Recursos Hídricos

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

MF – Membrana Filtrante

MUG – Fluorogênico 4-Metil- β -D-Glucuronido

NMP – Número Mais Provável

ONPG – Ortonitrofenil - β -D-Galactopiranosido

SMAC – Secretaria Municipal de Meio Ambiente

UFC – Unidade Formadora de Colônia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	27
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	29
2.1 IMPORTÂNCIA DA ANÁLISE DA AREIA.....	29
2.2 FATORES DE CRESCIMENTO BACTERIANO	33
2.2.1 Potenciação de Hidrogênio (pH)	33
2.2.2 Temperatura.....	33
2.2.3 Salinidade	34
2.2.4 Nutrientes.....	35
2.3 MICRORGANISMOS INDICADORES.....	35
2.3.1 Coliformes totais	36
2.3.2 Coliformes termotolerantes.....	37
2.3.3 <i>Escherichia Coli</i>	37
2.3.4 <i>Enterococcus</i>.....	38
2.4 METODOLOGIAS PARA ANÁLISES DE INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO	40
2.4.1 Técnica dos Tubos Múltiplos	40
2.4.2 Técnica da Membrana Filtrante.....	41
2.4.3 Substratos Cromogênicos.....	42
2.4.4 Resumo dos Métodos de Análises	43
2.5 MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS TRANSMITIDOS POR CONTATO COM A AREIA DE PRAIA.....	44
2.5.1 Bactérias	45
2.5.2 Fungos	47
2.5.3 Protozoários	49

2.5.4 Helmintos	50
2.6 PROGRAMAS DE MONITORAMENTO DA BALNEABILIDADE DE PRAIAS	51
2.6.1 Estado do Espírito Santo	51
2.6.2 Município do Rio De Janeiro	52
2.6.3 Estado de Santa Catarina	53
2.6.4 Estado do Paraná	54
2.6.5 Estado do Rio Grande do Sul	55
2.6.6 Estado da Bahia	55
2.6.7 Estado do Ceará	55
2.6.8 Estado do Rio Grande do Norte	56
2.6.9 Portugal	57
3 METODOLOGIA	59
3.1 ÁREA DE ESTUDO	59
3.2 COLETA DAS AMOSTRAS	60
3.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DA AREIA	61
3.3.1 Membrana Filtrante	62
3.3.2 Tubos Múltiplos	64
3.4 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS	65
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
4.1 CONCENTRAÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES EM AREIA	67
4.2 POSITIVIDADE DAS AMOSTRAS ANALISADAS PELAS TÉCNICAS DE MEMBRANA FILTRANTE E TUBOS MÚLTIPLOS	69
4.3 COMPARAÇÃO DAS AREIAS ATRAVES DOS RESULTADOS DE TUBOS MÚLTIPLOS, POR POSITIVIDADE	69
4.4 COMPARAÇÃO DAS AREIAS ATRAVES DOS RESULTADOS DE TUBOS MÚLTIPLOS, POR CONCENTRAÇÃO DE COLIFORMES	70

4.4.1 Estatística descritiva	70
4.4.2 Teste T de <i>Student</i>	71
4.5 COMPARAÇÃO DAS PRAIAS ATRAVÉS DOS RESULTADOS DE TUBOS MÚLTIPLOS, POR POSITIVIDADE	71
4.6 COMPARAÇÃO DAS AREIAS ATRAVÉS DOS RESULTADOS DE membrana filtrante, POR POSITIVIDADE.....	72
4.7 COMPARAÇÃO DAS AREIAS ATRAVÉS DOS RESULTADOS DE MEMBRANA FILTRANTE, POR CONCENTRAÇÃO DE COLIFORMES	73
4.7.1 Estatística descritiva	73
4.7.2 Teste T de <i>Student</i>	74
4.8 COMPARAÇÃO DAS PRAIAS ATRAVÉS DOS RESULTADOS DE MEMBRANA FILTRANTE, POR POSITIVIDADE	74
4.9 COMPARAÇÃO ENTRE AS TÉCNICAS DE MEMBRANA FILTRANTE E TUBOS MÚLTIPLOS.....	75
4.9.1 Estatística descritiva	75
4.9.2 Teste T de <i>Student</i>	76
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
REFERÊNCIAS	79
ANEXO	89

1 INTRODUÇÃO

As praias do município Vitória são reconhecidas como um belo atrativo turístico. Representam um importante fator para o desenvolvimento do turismo e da economia local e além disso, as praias permitem diversas atividades de lazer aos habitantes da cidade, independentemente de poder aquisitivo, nível cultural ou social.

Segundo o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO), as praias com altos índices de bactérias do grupo coliformes podem apresentar alto risco para a saúde dos banhistas (INMETRO, [1998]). A qualidade sanitária das praias pode oferecer riscos aos frequentadores tanto pelo contato direto com a água do mar quanto com a areia contaminada. Segundo Lamparelli ([2012?]), “somente o contato com a areia já constitui um fator de risco para manifestação de sintomas de diarreia”. Apesar dos riscos do contato com a areia serem inferiores aos da exposição à água, eles ainda são importantes. O monitoramento de parâmetros microbiológicos na areia das praias também é de grande importância, uma vez que os resultados das análises podem subsidiar ações que reduzem os riscos à saúde dos frequentadores das praias (SOARES, 2009).

O monitoramento da qualidade sanitária das praias de Vitória é realizado pela prefeitura de Vitória e se baseia na Resolução Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) 274/2000. Entretanto, essa resolução não obriga o monitoramento das condições da areia, que pode atuar como fonte ou vetor de doenças tais como distúrbios gastrintestinais, verminoses e micoses (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2003).

A proposta em realizar o monitoramento da qualidade de areia está diretamente relacionada à proteção à saúde pública. Diante das dificuldades para a identificação de todos os microrganismos patogênicos na água, dá-se preferência a técnicas que permitam a identificação de bactérias indicadoras de contaminação fecal, como os coliformes, cuja presença indica a possível existência de patógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Os principais indicadores de contaminação são os coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e enterococos. Cada um apresenta vantagens e

desvantagens de aplicação para a avaliação da qualidade sanitária dos ambientes (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1999).

Atualmente, as análises destinadas a enumerar coliformes são realizadas através de métodos convencionais (Tubos Múltiplos), aqueles desenvolvidos há muitos anos e que ainda vêm sendo empregados como métodos oficiais, ou de métodos rápidos (Membrana Filtrante e Substratos Enzimáticos Fluorogênicos e/ou Cromogênicos), os quais vêm se desenvolvendo de forma espantosa devido a sua praticidade (FRANCO; LANDGRAF, 2008; GOLDBECK, 2008).

O objetivo geral deste trabalho foi comparar o desempenho das técnicas de tubos múltiplos e membrana filtrante para a identificação e quantificação de Coliformes termotolerantes na areia de três praias do município de Vitória, ES.

Os objetivos específicos desse trabalho foram:

- Analisar a positividade Coliformes termotolerantes nas amostras de areias;
- Analisar a concentração de Coliformes termotolerantes nas amostras de areias;
- Identificar as campanhas que apresentaram maior concentração de Coliformes termotolerantes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 IMPORTÂNCIA DA ANÁLISE DA AREIA

As areias recreacionais têm um importante papel como fonte potencial de contaminação por patógenos. Estudos epidemiológicos demonstram que em praias poluídas, somente o contato com a areia já constitui fator de risco para a saúde. Torna-se claro, do ponto de vista da saúde pública, a necessidade da determinação de padrões e limites para o monitoramento da qualidade microbiológica dessas areias (PINTO; OLIVEIRA, 2011; LAMPARELLI, [2012?]).

Porém, no Brasil não existe uma padronização relacionada à análise da areia, mas apenas algumas recomendações. A resolução CONAMA 274/2000 tem por finalidade definir os critérios de balneabilidade em águas brasileiras e abrange todo o território nacional. No artigo 8º da referida norma, recomenda-se que os órgãos ambientais façam a avaliação das areias de praia analisando as condições parasitológicas e microbiológicas, para futuras padronizações (BRASIL, 2000).

A Lei estadual nº 14.366/2011 determina que a análise periódica da qualidade da areia das praias do litoral, rios e represas do Estado de São Paulo seja realizada pela CETESB. Além disso, a referida lei diz que os dados obtidos da análise da qualidade da areia das praias devem ser divulgados em boletins e em relatórios anuais publicados no sítio da CETESB na rede mundial de computadores - Internet. Porém, essa lei não descreve nenhum parâmetro de qualidade para classificação das areias (SÃO PAULO, 2011).

O Projeto de Lei 834/2011 normatiza o monitoramento da qualidade das areias das praias, rios e represas do Estado do Paraná. Ela determina que o Instituto Ambiental do Paraná (IAP) seja o responsável pelo monitoramento. Entretanto, também não há disposição quanto aos parâmetros de qualidade de areias (PARANÁ, 2011a).

A resolução da Secretaria Municipal de Meio Ambiente (SMAC) Nº 468/2010 dispõe sobre a análise e informações das condições das areias das praias no município do Rio de Janeiro. Na referida norma são descritos os procedimentos para a coleta da areia, transporte e armazenamento. Também são descritos quais os métodos devem

ser utilizados. O artigo 6º dessa resolução estabelece limites para classificação das areias conforme a tabela 1 abaixo (RIO DE JANEIRO, 2010a):

Tabela 1 – Limites para classificação das areias.

Areias das Praias -Classificação-	Coliformes Totais (NMP/100g)	<i>Escherichia coli</i> (NMP/100g)
Ótima	até 10.000	até 40
Boa	> 10.000 a 20.000	> 40 a 400
Regular	> 20.000 a 30.000	> 400 a 3.800
Não Recomendada	acima de 30.000	acima de 3.800

Fonte: Modificada de Rio de Janeiro (2010a).

Entretanto, esses limites para classificação das areias são diferentes de outros países, que possuem seus próprios padrões para qualidade microbiológica das areias (Tabela 2).

Tabela 2 – Propostas de padrões internacionais para qualidade microbiológica das areias.

Local	Estudo/norma	Padrão-Coliforme Termotolerantes
Portugal	Mendes et.al – 1993	100.000UFC/100g
Europa	Associação Bandeira Azul - 2008	2.000 UFC/100g

Fonte: Modificada de Companhia Ambiental do Estado de São Paulo - CETESB (2013).

Vários estudos sobre a análise de areia de praia vêm sendo realizados. A CETESB realiza a análise da areia nos períodos de alta temporada desde 2009 e mostra que, nesse período, a densidade dos microrganismos aumenta devido grande fluxo de turistas.

A areia seca e areia úmida de três praias do município de Fortaleza/CE foram monitoradas por Vieira e outros (2001) no período de maio de 1999 a janeiro de 2000, totalizando 60 amostras. Os microrganismos pesquisados nessas areias foram a *Salmonella*, coliformes totais, coliformes termotolerantes, *E. coli*, *Vibrio parahaemolyticus* e leveduras. Nessas praias, a incidência de *E. coli* foi maior em areia seca. A *Salmonella* foi encontrada apenas em duas amostras de areia (uma de

areia seca e outra de areia molhada) em uma das praias. A bactéria *Vibrio parahaemolyticus* foi encontrada em ambas as areias. Já a levedura do gênero *Candida* apresentou maior contaminação em areia seca.

Com o objetivo de caracterizar a fonte e o destino de *E. coli* em água e areia de uma praia em Chicago/EUA, Whitman e Nevers (2003), utilizando a técnica de membrana filtrante, analisaram 1747 amostras de água e 858 amostras de areia durante os meses de abril a setembro de 2000. Os resultados demonstraram que as densidades de *E. coli* foram maiores na areia do que na água. Uma possível explicação para isso seria a presença de gaivotas na areia.

Rego (2010) realizou um estudo da qualidade sanitária da água e areia de praias da Baía de Guanabara no período de junho de 2008 a junho de 2009, contemplando todas as estações do ano. Foram analisadas 572 amostras de areia e 170 de amostra de água utilizando a técnica de membrana filtrante. As concentrações de Coliformes e fungos foi maior na matriz de areia seca, mantendo-se, na maioria das vezes, superiores aos valores de areia úmida e água. O autor recomenda que a areia deve ser constantemente monitorada.

Com o objetivo de caracterizar as condições bacteriológicas das águas e das areias de praia do município Estância Balneária de Praia Grande/SP, Panagassi e Catanozi (2011) analisaram amostras de água (membrana filtrante) e areia obtidas no verão de 2011. Os parâmetros bacteriológicos usados foram: Coliformes totais, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Staphylococcus aureus*, Enterobactérias e *Salmonella* spp. Os resultados mostram que o nível de contaminação na areia seca foi maior do que as observadas em areia úmida e água.

Pesquisando nas praias Tapera da Base e Ribeirão da Ilha, no Estado Santa Catarina, Nunes (2010), empregando a técnica de tubos múltiplos para quantificação de Coliformes termotolerantes em amostras de areia seca, úmida e molhada, encontrou maior contaminação de Coliformes termotolerantes em areia seca.

Um estudo feito por Passos e outros (2011) no balneário do Cassino (Rio Grande do Sul), no período de janeiro a dezembro de 2002, avaliou a contaminação por Coliformes na água e na areia de praias através da técnica de tubos múltiplos. Os resultados mostraram que em todos os pontos de coleta houve uma maior contaminação na areia do que na água. Isso se repetiu em quase todos os meses do

ano. As maiores contaminações, tanto na areia quanto na água e em ambos os pontos, ocorreram durante os meses de primavera e verão, época de aumento dos banhistas. A concentração média de Coliformes termotolerantes foi maior nos meses de outono do que nos meses de inverno, pois houve maior precipitação na praia nesse mês.

Monteiro (2013), pesquisando em 24 amostras de areia de duas praias do leste do Ceará, entre os meses de fevereiro a maio de 2012, encontrou maior contaminação na areia seca do que na areia úmida. De acordo com os resultados microbiológicos obtidos, as praias estavam impróprias para banho em todo o período estudado. Nesse estudo, foi usada a técnica de tubos múltiplos.

Aplicando a técnica de tubos múltiplos e a técnica de membrana filtrante, Sato e outros (2005), realizaram um estudo em 16 praias do Estado de São Paulo, sendo cinco no Litoral Norte e onze na Baixada Santista, de setembro de 1997 a março de 1998. Foram pesquisadas bactérias indicadoras de contaminação fecal na água e na areia. Os níveis mais elevados de bactérias indicadoras fecais foram encontrados em areia seca durante o verão.

As praias do Gonzaguinha, do Boqueirão e de Pitangueiras, no estado de São Paulo, foram avaliadas mensalmente de janeiro a dezembro de 2009. Nessas praias, foram pesquisadas as bactérias Coliformes termotolerantes, *E. coli*, enterococos, *Staphylococcus coagulase (+)*, *Pseudomonas aeruginosa* (através da técnica de tubos múltiplos) e os fungos *Candida albicans* e dermatófitos (utilizando membrana filtrante). Concluiu-se que as concentrações dos microrganismos foram maiores nas amostras de areia seca, mesmo em período chuvoso, seguidas pela areia úmida, sendo as menores concentrações observadas nas amostras de água. Além disso, percebeu-se que as bactérias *P. aeruginosa*, *Staphylococcus coagulase (+)* e *C. albicans* podem ser utilizadas como indicadores adicionais para o monitoramento da qualidade das águas recreacionais e areias (PINTO, 2010).

No período de fevereiro de 2004 a janeiro de 2005, foi realizado um estudo sobre a qualidade sanitária das águas do mar e das areias das praias em alguns municípios do estado do Paraná. Nesse estudo, foi empregado o substrato cromogênico na identificação de Coliformes totais, *E. coli* e enterococos, utilizados como indicadores de contaminação fecal. Concluiu-se que “as condições sanitárias das águas e areias

das praias são influenciadas pela estação do ano, com maior comprometimento no verão”. Outro resultado foi que “a areia seca apresentou contaminação superior à areia úmida” (ANDRAUS, 2006, p. 65).

2.2 FATORES DE CRESCIMENTO BACTERIANO

As bactérias podem sobreviver mais tempo na areia do que na água devido a capacidade de aderir a partículas de areia e por encontrarem condições favoráveis de nutrientes (PINTO; OLIVEIRA, 2011). Diversos fatores ambientais influenciam o crescimento de bactérias, tais como a potencial de Hidrogênio (pH), temperatura, salinidade e nutrientes.

Beversdorf, Bornstein-Forst e McLellan (2007) confirmaram que a areia da praia atua como um reservatório para a *E. coli*. Além disso, o teor de umidade da areia também pode ser um fator determinante da persistência desse microrganismos na areia.

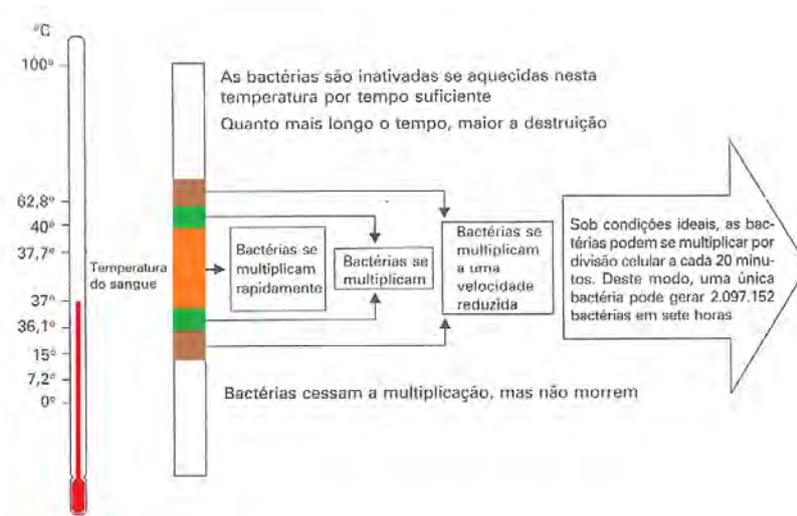
2.2.1 Potenciação de Hidrogênio (pH)

As bactérias possuem valores ideais de pH para sua multiplicação. O pH neutro (em torno de 6,5 e 7,5) é o mais favorável para a maioria dos microrganismos. As bactérias patogênicas tendem a ser mais exigentes em termos de pH do que os mofos e as leveduras. A bactéria *E. coli* tem sua multiplicação ótima quando está em meio com pH entre 6,0 a 8,0, mas pode aguentar até 9,0 a 10. (FRANCO; LANDGRAF, 2008; JAY, 2009). Os efeitos do pH são muito importantes para a célula bacteriana pois interfere no funcionamento de suas enzimas e no transporte de nutrientes para seu interior (JAY, 2009).

2.2.2 Temperatura

Outro fator que também afeta a multiplicação dos microrganismos é a temperatura. Os microrganismos crescem em uma ampla faixa de temperatura (JAY, 2009). A Figura 1 apresenta um exemplo do efeito da temperatura sobre o crescimento de bactérias.

Figura 1 – Efeito da temperatura sobre o crescimento de bactérias.



Fonte: Modificado de Hobbs (apud JAY, 2009, p.65).

A bactéria *E. coli* é classificada como mesofílico, pois cresce em temperaturas moderadas em torno de 25 °C a 40°C. A temperatura ótima de crescimento dessas bactérias fica em torno de 37°C. Temperaturas muito altas causam destruição de suas células, e temperaturas muito baixas cessam sua multiplicação (TORTORA; FUNKE; CASE 2008).

2.2.3 Salinidade

A salinidade é um fator que influencia as populações bacterianas no ambiente (MENDONÇA-HAGLER; VIEIRA; HAGLER, 2001). Condições ambientais de alta salinidade podem limitar a atividade das bactérias. Apenas espécies de bactérias adaptadas conseguem sobreviver a níveis mais elevados de sais, porém, nem sempre atingindo seu potencial de desenvolvimento máximo (OLIVEIRA et al., 2009). No caso da bactéria *E. coli*, a salinidade afeta principalmente a sua velocidade de multiplicação (MONTEIRO, 2013).

As bactérias Coliformes, quando despejadas no ambiente marinho, tendem a sofrer um choque osmótico, fazendo com que elas acumulem ou sintetizem osmorreguladores moleculares específicos. Assim, essas bactérias equalizam a pressão osmótica e evitam uma drástica perda de água do citoplasma. Entretanto, a

diminuição da salinidade na água ocasiona um aumento na sobrevivência das bactérias (ROZEN; BELKIN, 2001).

2.2.4 Nutrientes

Para se desenvolverem, as bactérias dependem da disponibilidade de nutrientes essenciais tais como carbono, nitrogênio, fósforo e enxofre, com os quais elas podem sintetizar precursores de macromoléculas orgânicas e vitaminas. O carbono é um nutriente importante para o crescimento da bactéria pois é usado pra sintetizar todos os compostos orgânicos que uma célula precisa. Nitrogênio, fósforo e enxofre também são necessários para fazer a síntese do material celular. Grande quantidade de nitrogênio e enxofre são usado para sintetizar proteínas. Nitrogênio e fósforo são importantes para síntese de DNA, RNA e ATP (TORTORA; FUNKE; CASE, 2008).

2.3 MICRORGANISMOS INDICADORES

Há muito tempo a qualidade microbiológica vem sendo avaliada através de microrganismos indicadores. Esses grupos ou espécies de microrganismos, quando presentes, podem informar sobre a presença de contaminação de origem fecal e também sobre a provável presença de patógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Para que um grupo de microrganismos seja usado como indicador, precisa apresentar certas características/critérios, que são:

- i) deve ser de rápida e fácil detecção; não deve estar presente como contaminante natural na água ou no alimento, pois assim sua detecção não indicará, necessariamente, a presença da matéria fecal ou de patógenos;
- ii) deve estar sempre presente quando o patógeno associado estiver;
- iii) seu número deve correlacionar-se com o do patógeno;
- iv) deve apresentar necessidades de crescimento e velocidade de crescimento semelhante às do patógeno;
- v) deve ter velocidade de morte que seja ao menos semelhante à do patógeno e, se possível, sobrevivência levemente superior à do patógeno (FRANCO; LANDGRAF, 2008, p. 27).

Segundo os autores Tortora, Funke e Case (2008), como também Franco e Landgraf (2008), Um indicador ideal de contaminação fecal deve apresentar além dos critérios citados os critérios como ter habitat exclusivo no trato intestinal do homem e outras animais de sangue quente, estejam presentes em número elevado nas fezes e sejam detectados utilizando técnicas simples e precisas.

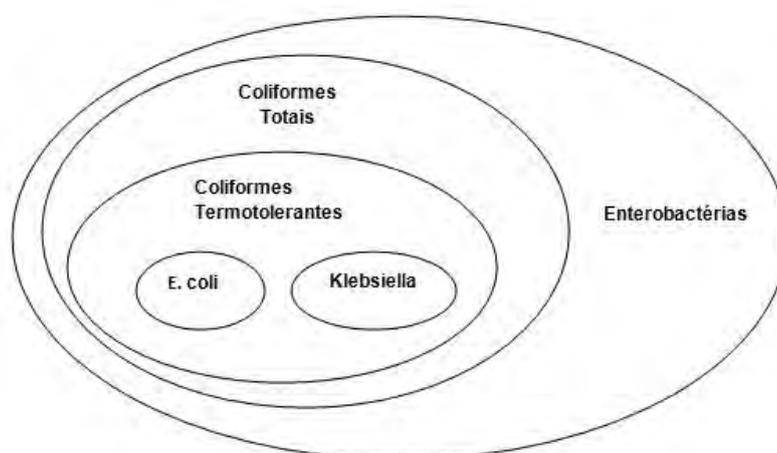
As bactérias indicadoras de contaminação fecais mais usadas hoje são Coliformes termotolerantes, *E. coli* e enterococos (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1999).

2.3.1 Coliformes totais

Em 1937, o termo Coliforme foi citado pela primeira vez por Breed & Norton nos Estados Unidos para detalhar bactérias com formato de bastonetes (bacilo), GRAM negativas e não formadores de esporos. O grupo é constituído por bactérias da família Enterobacteriaceae, e são capazes de fermentar a lactose com produção de ácido, aldeído e gás, quando incubados a 35-37°C, por 24-48 horas (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011; COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2013).

Originalmente, o grupo Coliformes cobria somente os gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter*. Porém, posteriormente percebeu-se que o grupo era mais heterogêneo, incluindo uma ampla gama de gêneros, assim como *Serratia* e *Hafnia*. O grupo de Coliformes totais inclui espécies fecais e ambientais (Diagrama 1) (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011). Coliformes totais não devem ser utilizados como indicadores de contaminação fecal, pois tem incidência em águas e solos não contaminados, representando outros organismos de vida livre, e não intestinal (SPERLING, 2005).

Diagrama 1 – Agrupamento do grupo coliforme.



Fonte: Modificado de SILVA (2005).

2.3.2 Coliformes termotolerantes

Coliformes termotolerantes são um subconjunto do grupo Coliformes totais que podem fermentar lactose a temperaturas mais elevadas 44-45C°. Como parte da fermentação, produzem a enzima β galactosidase (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011).

Foram por muito tempo denominados Coliformes fecais pois acreditava-se que sua origem era exclusivamente fecal. Mais somente a *E. coli* tem origem exclusivamente fecal. As demais bactérias podem originar-se de outras fontes (efluente industriais, matérias vegetais e solo em decomposição), por isso o termo fecal foi substituído pelo termo 'termotolerante' (LECLERC et al., 2001; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011).

A bactéria *E. coli* e espécies dos gêneros *Klebsiella* e *Enterobacter* devem ser consideradas como parte do grupo dos Coliformes termotolerantes. Apenas a *E. coli* tem presença em torno de 96 a 99% nas fezes humanas e animais de sangue quente. Os outros gêneros apresentam percentuais em torno de 3 a 4% em fezes humanas a 3 a 8% em fezes animais (CERQUEIRA; HORTA, 1999).

A presença das bactérias *Klebsiella* e *Enterobacter* em alimento não indica, essencialmente, contaminação fecal recente ou ocorrência de bactérias patogênicas para humanos (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

As análises para o grupo Coliformes podem ser efetuadas pela técnica de tubos múltiplos, por membrana filtrante ou pelo substrato fluorogênicos e/ou cromogênicos.

2.3.3 *Escherichia Coli*

A bactéria *E.coli* não causa dano quando está presente na flora intestinal normal do ser humano e animais endotérmicos. Porém, quando encontrada em outras regiões do corpo, pode causar doenças graves, como infecções do trato urinário, bacteremia e meningite (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011).

A *E. coli* foi então diferenciada dos Coliformes totais como um indicador mais específico de poluição fecal (LECLERC et al., 2001). Outra diferença da *E. Coli* é a

capacidade para a produção da enzima β – glucuronidase (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011).

Segundo Castro (2003), água do mar e a radiação solar tem efeito tóxico sobre o crescimento da *E. coli*. Em dias nublados e/ou chuvoso elas podem sobreviver durante maior tempo, o que pode causar um aumento no risco de transmissão de doenças aos banhistas.

A *E. coli* é encontrada em grande quantidade nas fezes de humanos e de animais (Tabela 3). Apesar de haver evidência de seu crescimento em solos tropicais, a *E. coli* dificilmente é encontrada na ausência de poluição fecal (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011).

Tabela 3 – Porcentagem de *E.coli* em fezes humanas e animais.

Animal Examinado	<i>E. coli</i> (%)
Frango	90
Vaca	99.9
Ovelha	97
Cabra	92
Porco	83.5
Cão	91
Gato	100
Cavalo	100
Homem	96.8
Média(%)	94.5

Fonte: adaptado de DUFOUR (1997 apud CIQUEIRA, 1999, p.1243).

2.3.4 Enterococcus

O gênero *Enterococcus* se caracteriza pela alta tolerância às condições adversas de crescimento, tais como: capacidade de crescer na presença de 6,5% de cloreto de sódio, a pH 9,6 e nas temperaturas de 10° e 45°C. Grande parte das espécies dos enterococos são de origem fecal humana, embora possam ser encontradas em fezes de animais (Tabela 4) (ASSOCIAÇÃO AMERICANA DE SAÚDE PÚBLICA, 1999a).

Wright e outros (2009) realizaram um estudo em fezes de cães, aves e camarões, no estado da Flórida, EUA. Os resultados encontrados demonstraram maior concentração de enterococos nas fezes dos cães, seguido pelas fezes das aves. A presença de enterococos nas fezes de camarões foi insignificante.

Tabela 4 – Ocorrência de enterococos em amostras de fezes de seres humanos e outros animais de sangue quente.

Espécies de animais	Total nº Espécimes amostradas	<i>E. faecalis</i> %	<i>E. faecium</i> %
Humanos	32	41	88
Cachorro	21	29	76
Gato	1	-	-
Porco	22	77	100
Cavalo	3	50	33
Ovelha	4	100	100
Vaca	15	-	73
Galinha	13	92	100
Cabras	2	100	100
Castores	3	-	-

Fonte: Modificado de ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (1999).

As bactérias do gênero *Enterococcus* são Gram-positivos, anaeróbios facultativos, tem formato esférico, ocorrem individualmente, em pares ou em cadeias (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2013).

Essas bactérias podem ser utilizadas como um indicador de contaminação fecal, pois apesar dos enterococos serem menos numerosos do que a *E. coli* em fezes humanas, eles ainda são numerosos o suficiente para serem detectados após diluição significativa. (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011).

As espécies *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* e *E. hirae* constituem o subgrupo de enterococos intestinal. Elas foram separadas do resto dos estreptococos fecais porque são comumente encontrados em poluição fecal. No entanto, na ausência de poluição fecal, alguns enterococos intestinais podem estar isolados em água originada de outros habitats, incluindo o solo. Devido a alta sua resistência ambiental, os enterococos se sobressaem como um indicador para a

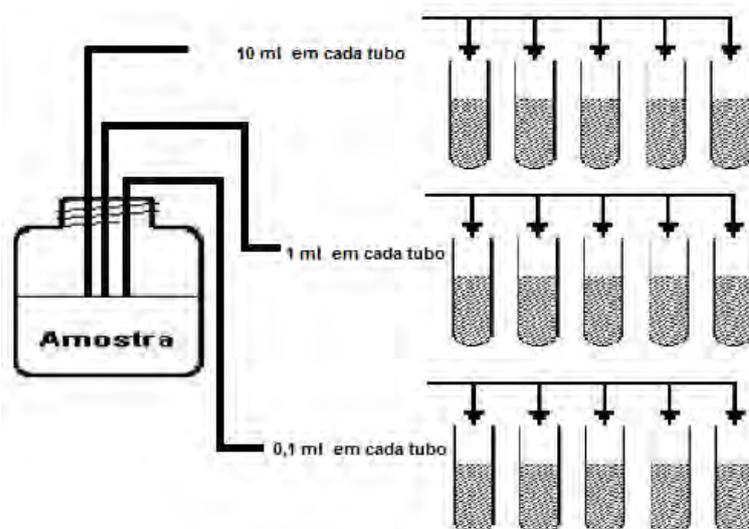
classificação das águas salinas, uma vez que possui amplo tempo de sobrevivência e maior resistência quando comparado com *E. coli* (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011; RIBEIRO, 2002).

2.4 METODOLOGIAS PARA ANÁLISES DE INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO

2.4.1 Técnica dos Tubos Múltiplos

Na técnica dos Tubos Múltiplos, também chamada de técnica Número Mais Provável (NMP), a amostra a ser analisada, após homogeneização, é submetida a pelo menos três diluições decimais seriadas (Figura 2). Três ou cinco tubos são preparados com o meio de cultura selecionado e um tubo coletor de gás (tubo de Durhan), armazenando quantidades iguais para cada diluição. Em seguida, os tubos passam por uma etapa de incubação e, posteriormente, os que apresentarem turvação com produção de gás são identificados como positivos para Coliformes. O NMP por grama de produto é determinado através da quantidade de tubos positivos encontrados em cada uma das diluições, baseando na tabela estatística de Hoskins (anexo) (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Figura 2 – Inoculação da amostra e volumes decimais.



Fonte: Modificado da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (2007).

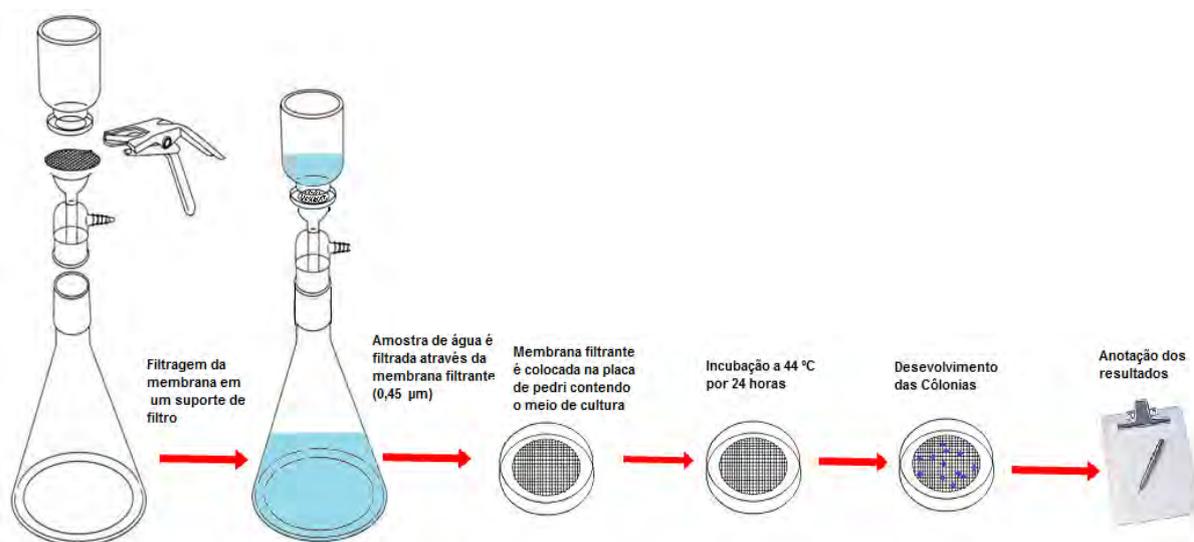
A técnica de tubos múltiplos permite o uso do meio de cultura denominado caldo lauril triptose. Para isso, é realizada a incubação desse meio na temperatura de 35°C durante 24 a 48 horas. Para a diferenciação de Coliformes termotolerantes é

usado o meio de cultura EC, cuja incubação é feita à temperatura de 44,5°C durante 24 horas. Portanto, são necessárias até 72 horas para a obtenção dos resultados. Um procedimento mais simples também pode ser empregado utilizando o meio de cultura A-1. Nesse caso, a incubação é feita na temperatura de 44,5 °C e dura 24 horas (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2013).

2.4.2 Técnica da Membrana Filtrante

A técnica da membrana filtrante (MF) normalmente é utilizada para testes de grande volumes de amostras. Ela é altamente reprodutível e geralmente produz resultados numéricos mais rapidamente do que a técnica de tubos múltiplos. A técnica MF é extremamente útil em água potável e no monitoramento de uma variedade de águas naturais. No entanto, uma desvantagem dessa técnica ocorre quando se testa amostras de águas com alta turvação, o que dificulta a obtenção de resultados satisfatórios (ASSOCIAÇÃO AMERICANA DE SAÚDE PÚBLICA, 1999b).

Figura 3 – Procedimento da membrana filtrante.



Fonte: Elaboração própria.

A técnica MF é um método alternativo de quantificação de microrganismos. O produto em análise é homogeneizado e filtrado através de membranas filtrantes de acetato de celulose ou nitrocelulose, de porosidade adequada (geralmente de 0,45 µm). Assim é possível a passagem de líquidos com a retenção de microrganismos cujo tamanho supere a dimensão dos poros da membrana. Após a filtração, placas de Petri preparadas com o meio de cultura escolhido recebem a membrana com os

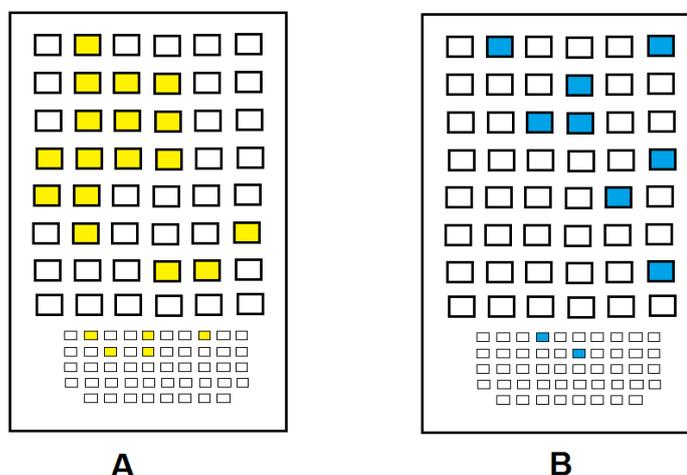
microrganismos retidos. As placas de Petri então são encubadas à temperatura de 44,5 °C, onde ocorrerá o desenvolvimento de colônias azuis que poderão ser enumeradas visualmente ou através de contadores eletrônicos (Figura 3) (FRANCO; LANDGRAF, 2008; LIMA et al., 2001).

2.4.3 Substratos Cromogênicos

Segundo Associação Americana de Saúde Pública (1999c) o uso das Técnicas dos Substratos Cromogênicos permite determinar respectivamente bactérias do tipo Coliformes totais e Coliformes fecais (*E. coli*).

Para a identificação de Coliformes totais são utilizados substratos capazes de detectar a enzima β -D-galactosidase, a qual é produzida por eles. Os substratos aplicados são o ortonitrofenil β -D-galactopiranósido (ONPG) ou o clorofenol vermelho β -D-galactopiranósido (CPRG). A enzima β -D-galactosidase cliva o substrato e produz uma mudança na coloração (amarelo), o que indica um teste positivo para Coliformes totais em 24 horas (ONPG) ou 28 horas (CPRG), sem procedimentos adicionais (Figura 4A). Por sua vez, a enzima β -Glucuronidase é produzida por *E. coli* e clivada pelo substrato fluorogênico 4-metil- β -D-glucuronido (MUG). A enzima β -Glucuronidase cliva o substrato e produz um produto fluorescente que pode ser visto sob longo comprimento de onda (366 nm) ultravioleta. A presença de fluorescência indica um teste positivo para *E. coli* (figura 4B) (ASSOCIAÇÃO AMERICANA DE SAÚDE PÚBLICA, 1999c).

Figura 4 – Mudança de coloração quando os substratos ONPG (coloração amarela - A) e MUG (coloração azul - B) são degradados.



Fonte: Modificado de IDEXX Laboratories (2014).

2.4.4 Resumo dos Métodos de Análises

O quadro abaixo apresenta as principais vantagens e desvantagens dos métodos de análises microbiológicas discutidos:

Quadro 1 – Vantagens e desvantagens das metodologias para análises de indicadores de contaminação fecal.

Metodologias	Vantagens	Desvantagens
Tubos Múltiplos (NMP)	<ul style="list-style-type: none"> - Aplica-se para amostras claras e turvas - Leitura dos resultados é feita de forma fácil 	<ul style="list-style-type: none"> - Tem maior trabalho, custo e tempo para as análises, - Aumento do consumo de reagentes, tubos e espaço para incubação quando há grande número de amostras
Membrana Filtrante	<ul style="list-style-type: none"> - Menor tempo, trabalho e custo em relação aos tubos múltiplos - Determinação direta do número de bactérias com alta precisão 	<ul style="list-style-type: none"> - Não aplicável a amostras turvas - Resultados Falso-positivo, quando outras bactérias formam colônias similares as bactérias alvo
Substratos Cromogênicos	<ul style="list-style-type: none"> - Alta precisão - Não há necessidade de confirmação - Ocupa pouco espaço em estufa - Menor tempo de detecção 	Custo mais elevado

Fonte: Modificado de RIBEIRO (2002).

Eckner (1998) analisou 261 amostras de água potável e 77 amostras de água para recreação, totalizando 338 amostras de água. Ele aplicou as técnicas de tubos múltiplos, membrana filtrante e Colilert nas amostras. Os resultados dessa análise mostraram que a técnica Colilert foi mais sensível à detecção de Coliformes totais do que as técnicas de tubos múltiplos e membrana filtrante. Uma das vantagens do Colilert é a sua rápida obtenção de resultados e a não necessidade de realizar testes presuntivos.

Braz e outros (2001) realizaram um estudo comparativo entre as técnicas de tubos múltiplos com caldo lactosado e cromogênica (kit Colilert - Idexx/Quanti-tray), e posteriormente, entre tubos múltiplos com caldo lactosado e tubos múltiplos utilizando meio A1, ambos visando a detecção de Coliformes totais em amostras de água de praias no município de Belém, PA. Observaram que os resultados

encontrados demonstram boa correlação em todas metodologias testadas, possibilitando o uso métodos rápidos em estudos de balneabilidade e outros de natureza semelhante em águas brutas.

A pesquisa feita por Hsieh (2008) em águas recreacionais na Califórnia, no período de setembro de 2000 a março de 2001, teve como objetivo determinar se o método Colitag para detectar *E. coli* é tão confiável como método de tubos múltiplos, já que este último é a técnica aprovada pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA. A técnica Colitag mostrou ser tão sensível quanto a técnica de tubos múltiplos. Isso pode ser explicado pela correlação linear forte (0,87) obtida entre essas técnicas. Uma vantagem do Colitag é que são necessários apenas 24 horas para obtenção dos resultados enquanto a técnica de tubos múltiplos necessita de 96 horas.

Com objetivo de estudar a qualidade das águas e areias de praias no município da Serra, ES, Soares (2009) utilizou as técnicas de tubos múltiplos e contagem padrão em placas (CPP). Os resultados obtidos mostraram que o método CPP teve maiores valores encontrados na areia do que aos encontrados na água. O método de tubos múltiplos teve resultado oposto, indicando CPP como mais eficiente para análise de areia.

Marquezi, Gallo e Dias (2010) compararam o método de tubos múltiplos com a técnica cromogênica utilizando Colilert e o Colitag em amostras de água de abastecimento, de bica e de rio. Concluíram que, por não apresentarem diferença significativa nas contagens de Coliformes totais em amostras de água de abastecimento e de bica, e nas análises de *E. coli*, em todos os tipos de amostras analisadas, é recomendado o uso dos métodos rápidos Colilert e Colitag como substituto do método de tubos múltiplos.

2.5 MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS TRANSMITIDOS POR CONTATO COM A AREIA DE PRAIA

Diversas doenças podem surgir em ambientes de praia, especialmente no verão, período considerado alta temporada em diversos lugares do mundo. Vários fatores colaboram para a ocorrência de surtos de doenças nesses ambientes. Esses fatores

normalmente são relacionados com o grau de contaminação do ambiente, características do patógeno e da população afetada (SOARES, 2009).

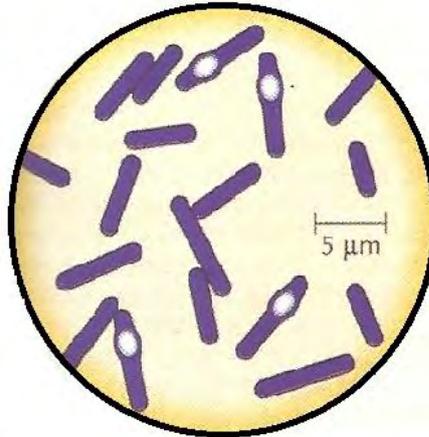
A presença de animais domésticos nas praias também é um fator de risco à saúde pública, pois em suas fezes podem ser encontrados organismos patogênicos ao homem. Parasitas como *Strongyloides stercoralis*, *Toxocara* spp, *A. lumbricoides* podem ser encontrados em areia de praia, sendo oriundos de animais que eventualmente transitam nessa região. (GONZÁLEZ Y CÁCERES et al., 2004). O modo de contaminação desses patógenos pode ocorrer pela ingestão acidental, levando a mão suja de areia à boca e/ou contato com a pele (MILLER apud MAIER, 2003 p. 1).

Bonilla e outros (2007) e Alm, Burke e Spain (2003), realizaram estudos em água e areia de praias associando as doenças intestinais com a exposição nesses ambientes. A densidade de organismos patogênicos foi maior na areia quando comparada com a água, apontando que a exposição à areia pode representar uma maior incidência de casos de gastroenterite.

2.5.1 Bactérias

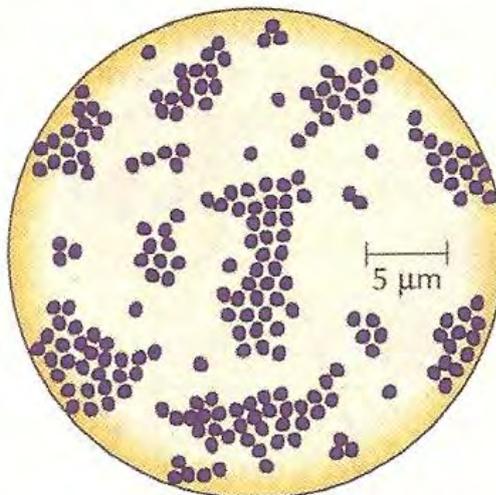
As bactérias pertencem ao reino Monera segundo Whittaker (1969) e são microrganismos unicelulares e procariotos, elas são fundamentais para o equilíbrio biológico. Varias infecções são causadas por bactérias patogênicas ao ser humano, elas tem acesso ao corpo por meio de ferimento e lesões (PELCZAR Jr; CHAN; KRIEG, 2009). Abaixo é apresentada uma lista de algumas espécies de bactérias patogênicas que podem ser encontradas na areia de praias e as respectivas doenças que elas transmitem:

- *Clostridium perfringens* são bactérias que podem causar gastroenterite caracterizada por cólica abdominal, diarreia e vômitos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2008; WALDER, 2006).

Figura 5 – *Clostridium perfringens*.

Fonte: Pelczar Jr; Chan; Krieg, (2009).

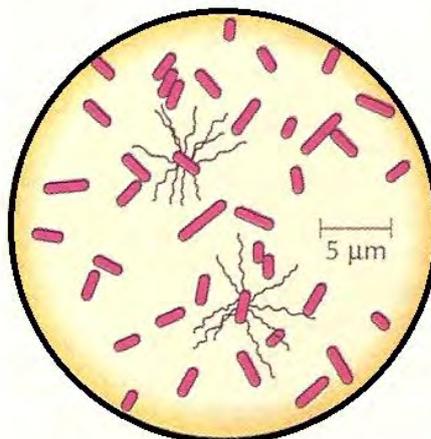
- *Pseudomonas aeruginosa* são resistentes a antibióticos e patogênicos em contato com lesões da pele e mucosas (ASSOCIAÇÃO BANDEIRA AZUL DA EUROPA, 2002).
- *Shigella* sp são bactérias que podem causar disenteria bacilar, caracterizada por cólicas, dores abdominal e diarreias com sangue (WALDER, 2006).
- *Staphylococcus aureus* produz uma toxina responsável pela síndrome de choque tóxico, uma infecção caracterizada por vômitos e febre alta (TORTORA; FUNKE; CASE, 2008).

Figura 6 – *Staphylococcus aureus*.

Fonte: Pelczar Jr; Chan; Krieg, (2009).

- *Escherichia coli*. são bactérias que podem causar gastroenterite (WALDER, 2006).

Figura 7 – *Escherichia coli*.



Fonte: Pelczar Jr; Chan; Krieg, (2009).

- *Salmonella sp* está entre os microrganismos patogênicos mais comuns e é responsável por um número elevado de infecções gastrintestinais (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2013).

2.5.2 Fungos

Os fungos pertencem ao reino Fungi. Podem ser unicelulares ou multicelulares. Algumas espécies de fungos são patogênicas, causando micoses do tipo superficiais, cutâneas, subcutâneas, sistêmicas e/ou oportunistas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005). Abaixo segue uma lista de algumas espécies de fungos patogênicas que podem ser encontrados na areia de praias e as respectivas doenças que eles transmitem:

- *Aspergillus sp* é um gênero de fungos filamentosos encontrados no ambiente em todas as estações do ano e que podem causar Aspergiloses, na forma invasiva, alérgica ou tóxica. As espécies de *Aspergillus* são oportunistas podendo infectar diversos órgãos em indivíduos imunodeprimidos (ASSOCIAÇÃO BANDEIRA AZUL DA EUROPA, 2002; AMORIM et al., 2004).
- “*Cândida sp* são leveduras que podem causar infecções cutâneas, das mucosas, nas unhas [...]” (ASSOCIAÇÃO BANDEIRA AZUL DA EUROPA, 2002).

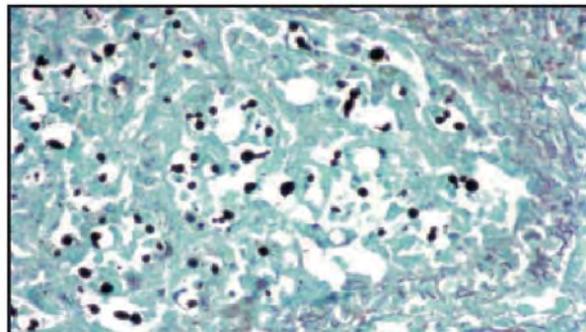
Figura 8 – Células de levedura de *C. albicans*.



Fonte: The University of Adelaide (2014).

- *Chrisosporium* sp são fungos filamentosos que causa infecções em pele e unhas (ASSOCIAÇÃO BANDEIRA AZUL DA EUROPA, 2002).
- *Histoplasma capsulatum* são fungos dimórficos e causa a histoplasmose, doença que podem causar infecções nos pulmões, podem disseminar no sangue e na linfa, causando lesões em quase todos os órgãos do corpo. Os sintomas são mal definidos e a doença pode passar por uma infecção respiratória leve (TORTORA; FUNKE; CASE, 2008).

Figura 9 – Leveduriformes do *Histoplasma capsulatum*.



Fonte: Ferreira; Borges (2009).

- *Rhodotorula* sp são leveduras, normalmente consideradas contaminantes, que podem infectar pacientes imunodeprimidos (ASSOCIAÇÃO BANDEIRA AZUL DA EUROPA, 2002). Podem causar infecções como endocardites e meningites (WIRTH, 2011).
- *Scytalidium* sp são fungos do tipo filamentosos que provoca infecções das unhas e da pele (ASSOCIAÇÃO BANDEIRA AZUL DA EUROPA, 2002).

- *Trichophyton* sp são fungos em formato de filamentos com afinidade pela queratina. Esses fungos são capazes de lesionar qualquer parte do corpo humano, principalmente cabelos, peles e unhas (ASSOCIAÇÃO BANDEIRA AZUL DA EUROPA, 2002; RODRIGUES et al., 2010).

2.5.3 Protozoários

Os protozoários pertencem ao reino Protista e são microrganismos unicelulares eucarióticos quimio-heterotróficos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2008). Abaixo segue uma lista de algumas espécies de protozoários que podem ser encontrados na areia de praias e as respectivas doenças que eles transmitem:

- *Cryptosporidium* sp é um patógeno causador de gastroenterite e diarreias em indivíduos saudáveis e infecções respiratórias e da vesícula biliar (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2013).
- *Giardia* sp é um protozoário parasita do intestino responsável por causar uma gastroenterite denominada giardíase, causando diarreia aguda ou crônica, dor abdominal, perda de peso, desidratação, entre outros (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2013).

Figura 10 – Trofozoítos de *Giardia lamblia*.



Fonte: Lima; Santos; Franz (2014).

- *Toxoplasma gondii* é um protozoário de distribuição geográfica mundial. Causa a toxoplasmose, uma zoonose frequente em várias espécies de animais, inclusive o homem. A toxoplasmose ocular pode causar lesão na retina e pode levar a perda de visão parcial ou total (NEVES et al., 2005).

2.5.4 Helmintos

Os helmintos constituem um grupo grande de animais, espécies de vida livre e de vida parasitária (NEVES et al., 2005). Abaixo é mostrada uma lista de alguns helmintos que podem ser encontrados na areia de praias e as respectivas doenças que eles transmitem:

- *Ancylostoma braziliense* são agentes etiológicos da larva migrans cutânea. Quando a larva penetra na pele do indivíduo, ela migra através do tecido subcutâneo deixando atrás de si um rastro sinuoso denominado “bicho geográfico” (NEVES et al., 2005).

Figura 11 – *Ancylostoma* sp.



Fonte: Guimarães e outros (1999).

- *Ascaris lumbricoides* (lombriga) são helmintos que podem permanecer assintomáticos em infecções de baixa intensidade. Em infecções maciças, podem causar danos viscerais, peritonite, inflamação e obstrução da bile ou duto pancreático (TORTORA; FUNKE; CASE, 2008).
- Larvas Migrans Visceral são larvas *Toxocara canis* capazes de migrar para órgãos e tecidos humanos, causando hepatomegalia e eosinofilia crônica (QUEIROZ; CHIEFFI, 2005).

A quantificação das bactérias Coliformes termotolerantes em amostras de água permite avaliar a qualidade da praia para banho, classificando-a em própria (excelente, muito boa e satisfatória) e imprópria. No estado do Espírito Santo não é feita a análise da areia (VITÓRIA, 2014).

Figura 12 – Pontos de coleta da água nas praias do município de Vitória em março de 2014.



Fonte: Vitória (2014b)

2.6.2 Município do Rio De Janeiro

No estado do Rio de Janeiro é realizado o monitoramento da qualidade da água pelo Instituto Estadual do Ambiente (INEA). O município do Rio de Janeiro conta também com o monitoramento da qualidade das areias de praias, realizado pela Secretaria Municipal do Meio Ambiente (SMAC) da Prefeitura do Rio de Janeiro.

A avaliação das condições de banho nas praias do estado do Rio de Janeiro é realizada a partir da comparação entre os níveis de contaminação da água por Coliformes termotolerantes e enterococos com base na resolução 274/2000, do Conselho Nacional do Meio Ambiente. Os resultados são divulgados regularmente por meio de boletins encaminhados periodicamente para a imprensa, jornais de grande circulação, e pelo site do INEA. Esses boletins informam as condições vigentes das praias para efeito de balneabilidade, orientando a população no uso diário das mesmas. O monitoramento de águas abrange 19 municípios, com 300 estações de amostragem, totalizando 212 praias. As áreas onde há maior

concentração de banhistas são privilegiadas com maior monitoramento (RIO DE JANEIRO, 2013).

O monitoramento da qualidade das areias das praias do município Rio de Janeiro foi criado em 2010 com o objetivo de diagnosticar a qualidade das areias das praias, assegurando as condições necessárias à recreação (de contato primário), através de ações de despoluição das areias das praias de maneira econômica. Para efetuar essa avaliação, o município do Rio de Janeiro estabeleceu a Resolução SMAC Nº 468, de 28 de janeiro de 2010, que dispõe sobre a classificação das areias das praias. O monitoramento das areias é realizado em 33 pontos de coleta (mapa 3). A qualidade da areia das praias está disponível para a população, a cada 15 dias, através do Portal da Prefeitura, do Diário Oficial da Município e de outros meios de comunicação (RIO DE JANEIRO, 2010b).

Mapa 3 – Pontos de Monitoramento da Qualidade da areia.



Fonte: Rio de Janeiro (2014).

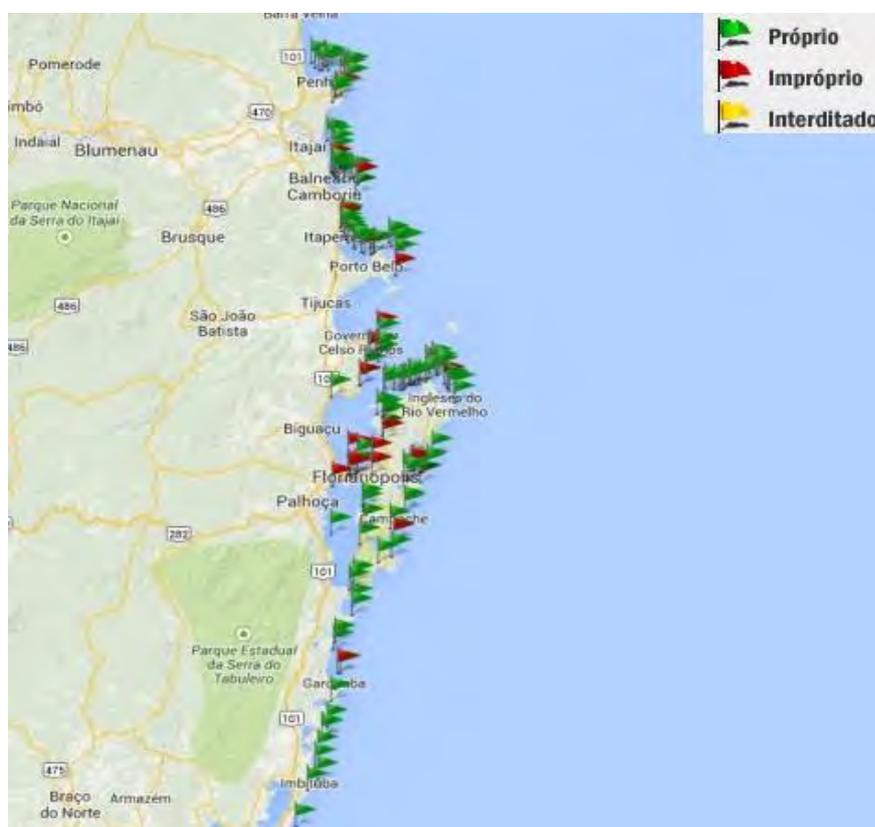
2.6.3 Estado de Santa Catarina

No estado de Santa Catarina, o programa de balneabilidade é realizado pela Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina (FATMA) desde 1976, seguindo as normas da Resolução CONAMA 274/2000. Esse programa abrange somente a análise das águas de praias (SANTA CATARINA, 2014a).

Ao todo, são analisados 199 pontos em da costa catarinense (mapa 2). Esses pontos são escolhidos de forma que todo litoral seja avaliado e monitorado. As coletas são feitas mensalmente nos meses de abril a outubro e semanalmente de novembro a março (verão) (SANTA CATARINA, 2014b).

São coletadas amostras de 250 ml de água do mar de até 1 metro de profundidade em cada ponto de coleta. Essas amostras são analisadas por exames bacteriológicos. Para obter um resultado tecnicamente confiável, as coletas são realizadas por cerca de cinco semanas consecutivas. Os relatórios são disponibilizados mensalmente no site do FATMA (SANTA CATARINA, 2014c).

Mapa 2 – Postos analisados na costa catarinense em maio de 2014.



Fonte: Santa Catarina (2014).

2.6.4 Estado do Paraná

No Estado do Paraná, o monitoramento das praias é realizado pelo IAP. O monitoramento avalia a concentração de bactérias *E. coli* em 33 pontos de 5 praias. O monitoramento é feito em acordo com Resolução N.º274/2000 do CONAMA. Em 2011 o IAP iniciou um projeto de monitoramento da qualidade da areia seca nas praias do litoral paranaense. O objetivo desse projeto é desenvolver um trabalho de

monitoramento da areia semelhante ao realizado com a água do mar (PARANÁ, 2011b). Esse projeto vem sendo realizado no período do verão sob o nome de Operações Verão (PARANÁ, 2012).

2.6.5 Estado do Rio Grande do Sul

No estado do Rio Grande do Sul o projeto de balneabilidade é realizado pela Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luiz Roessler (FEPAM), tendo como base a Resolução nº 274/2000 CONAMA e tem como objetivo monitorar a qualidade das águas dos balneários e informar a população sobre a situação da qualidade das águas. O monitoramento da balneabilidade é feita no período do verão (de novembro a fevereiro). O projeto abrange 44 municípios com 85 pontos de monitoramento, as coletas e análises são realizadas pela FEPAM e pelo laboratório terceirizado. As coletas das amostras de água são realizadas em dias de maior frequência de banhistas. Coliformes termotolerantes ou *E. Coli*. são os parâmetros utilizados para classificação da balneabilidade (RIO GRANDE DO SUL, 2013).

2.6.6 Estado da Bahia

O monitoramento da balneabilidade no Estado da Bahia é realizado pelo Instituto do Meio Ambiente e Recursos Hídricos (Inema), atendendo às especificações da Resolução N.º274/2000 do CONAMA. Esse programa de balneabilidade abrange 121 pontos, distribuídos em toda a costa baiana. As amostras de água para análises da balneabilidade são coletadas semanalmente. Em praias com maior concentração de banhistas, a coleta é realizada no período da manhã. Para o monitoramento da balneabilidade utiliza-se como microrganismo indicador de contaminação o *E. coli* (BAHIA, acesso em 2 mai. 2014).

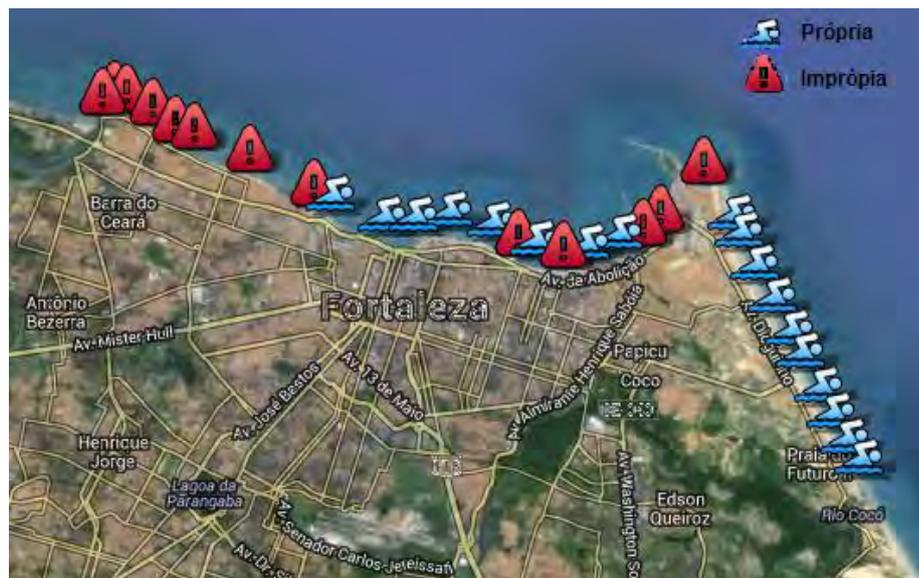
2.6.7 Estado do Ceará

No estado do Ceará também acontece um programa de Monitoramento Balneabilidade das Praias. O monitoramento envolve somente a classificação da

qualidade da água atendendo a Resolução N.º274/2000 do CONAMA (CEARÁ, 2014a).

No município de Fortaleza, as coletas são realizadas semanalmente em 31 pontos (mapa 4) e nas demais praias do estado as coletas são realizadas mensalmente abrangendo 34 pontos (CEARÁ, 2014a).

Mapa 4 – Pontos de Monitoramento da Qualidade da água no município de Fortaleza- CE.



Fonte: Ceará (2014b).

2.6.8 Estado do Rio Grande do Norte

No Estado do Rio Grande do Norte, o monitoramento da balneabilidade das praias é realizado através do Programa Água Azul, que é conduzido pelo Instituto de Desenvolvimento Sustentável e Meio Ambiente do Estado do Rio Grande do Norte (IDEMA). São monitorado 31 pontos em conformidade com resolução CONAMA nº 274/2000. Esse programa abrange o monitoramento de águas superficiais, subterrâneas e de praias, mas não inclui o monitoramento da qualidade das areias de praias. A divulgação dos resultados sobre as condições de balneabilidade das praias são atualizadas e disponibilizadas semanalmente através do Boletim de Balneabilidade, disponível na Internet (RIO GRANDE DO NORTE, 2013).

2.6.9 Portugal

O monitoramento feito em Portugal tem o nome “Areia limpa, Praia Saudável” e é realizado pela Associação Bandeira Azul da Europa (ABAE) (ASSOCIAÇÃO BANDEIRA AZUL DA EUROPA, 2011). Segundo Monteiro (2013, p. 25):

[...] tem como objetivos elevar o grau de conscientização da população, e dos tomadores de decisão, para a necessidade de se proteger o ambiente costeiro marinho, incentivando a realização de ações que conduzam à resolução dos problemas ali existentes.

Nesse monitoramento são feitas análises da qualidade microbiológica somente das areias das praias. É suficiente a análise da areia seca, dispensando a análise da areia molhada ou úmida, devido à alta correlação positiva entre as duas variáveis. Os indicadores Coliformes totais, *E. coli* e *Enterococcus* spp foram o que apresentaram melhor desempenho (ASSOCIAÇÃO BANDEIRA AZUL DA EUROPA, 2011).

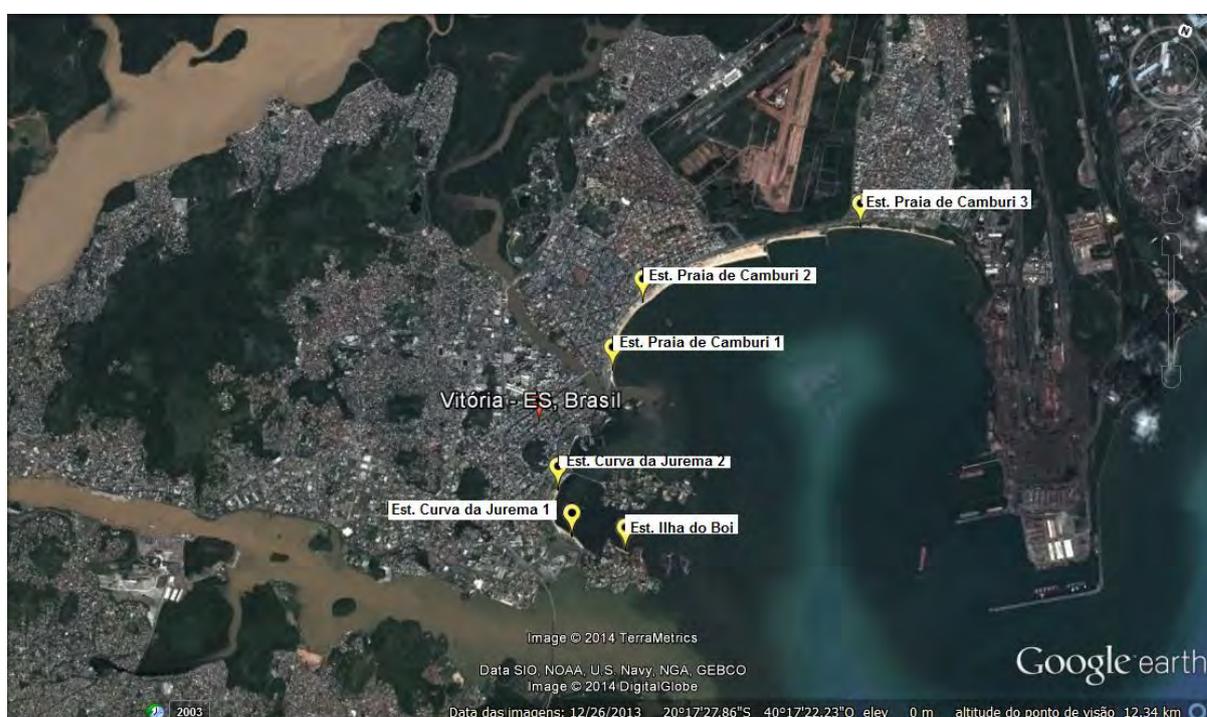
3 METODOLOGIA

3.1 ÁREA DE ESTUDO

A pesquisa foi desenvolvida em três praias do município de Vitória-ES: Ilha do Boi, Curva da Jurema e Praia de Camburi. Foram definidas seis estações amostrais: uma na Ilha do Boi, duas na Curva da Jurema e três na Praia de Camburi. (Figura 13 e Tabela 5).

Essas três praias são consideradas lugares de turismo da Capital, apresentando alta frequência de banhistas nos meses do verão.

Figura 13 – Estações de monitoramento selecionadas para o estudo.



Fonte: Google Earth, (2014).

Tabela 5 – Coordenadas geográficas das estações de monitoramento no Município de Vitória-ES.

Praia	Estação de monitoramento	Coordenadas (UTM)
Ilha do Boi	Ilha do Boi - IB	24 K 366259.95 7753843.24
Curva da Jurema	Curva da Jurema 1 – CJ1	24 K 365627.43 7753785.60
	Curva da Jurema 2 – CJ2	24 K 365259.25 7754246.57
Camburi	Camburi 1 – C1	24 K 365371.45 7755700.87
	Camburi 2 – C2	24 K 365514.03 7756815.68
	Camburi 3 – C3	24 K 367391.82 7758372.49

Fonte: Elaboração própria.

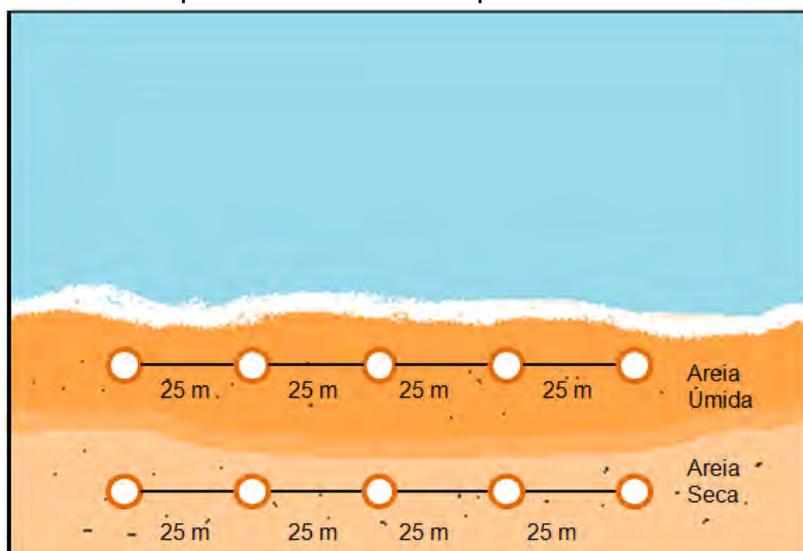
3.2 COLETA DAS AMOSTRAS

Os procedimentos de coleta, preparo dos materiais, acondicionamento/preservação e transporte das amostras de areia foram realizados de acordo com metodologias nacionais e internacionais padronizadas, conforme normas técnicas da CETESB e da Associação Americana de Saúde Pública.

As coletas em cada estação amostral foram realizadas mensalmente, durante os meses de Novembro 2013 a Março de 2014. As praias foram separadas em duas zonas: zona de areia seca, que normalmente não é alcançada pela água do mar, correspondente à área de fluxo de banhistas; e zona de areia úmida, que sofre influência das marés. Em cada estação amostral foram coletadas cinco amostras de areia seca e cinco de areia úmida, totalizando dez amostra de areia por estação e completando sessenta amostra de areia ao final do estudo.

Para cada uma dessas zonas, uma linha imaginária paralela de 100 metros, paralela à faixa de água, foi traçada em cada estação de monitoramento, e as coletas das amostras realizadas a cada 25 metros, totalizando cinco pontos em cada estação (Esquema 1).

Esquema 1 – Esquema de coleta composta das amostras de areia.



Fonte: Elaboração própria.

As amostras foram coletadas de forma composta, com a extração de aproximadamente 200g de areia em cada ponto, na profundidade de aproximadamente 5 cm a partir da superfície da areia. As amostras foram coletadas

com o auxílio do vidro relógio esterilizado, e colocadas em sacos plásticos descartáveis estéreis, devidamente identificados e acondicionados, todas enviadas ao Laboratório de Microbiologia da Faculdade Católica Salesiana do Espírito Santo (FCSES) (Fotografia 1).

As temperaturas das amostras foram anotadas no momento da coleta para que, posteriormente, fosse possível fazer uma análise da interferência da temperatura no crescimento de bactérias.

Fotografia 1 – Procedimento de coleta de amostras de areia.

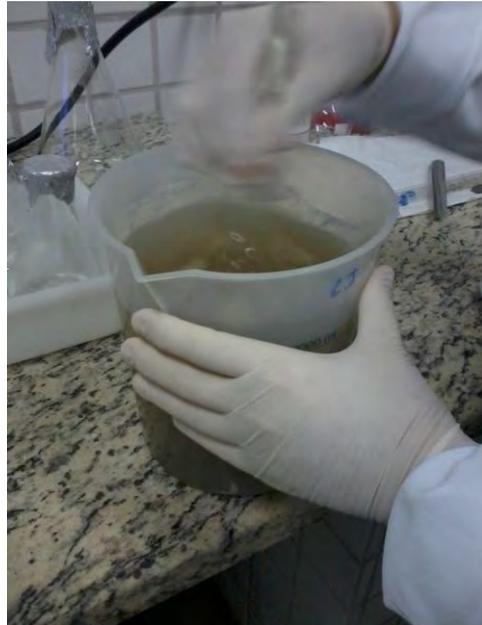


Fonte: Arquivo próprio.

3.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DA AREIA

Em laboratório, as amostras de areia foram retiradas dos sacos plásticos de coleta com auxílio de uma espátula estéril, sob as condições de assepsia. Alíquotas de 200g de cada amostra foram pesadas e transferidas para um Becker de 2000ml esterilizado e diluídas em 1800ml de uma solução tampão fosfatada estéril para extrair as bactérias aderidas ao grão de areia. Em seguida, realizou-se uma homogeneização manual por 10 minutos para a execução das etapas posteriores (Fotografia 2).

Fotografia 2 – Homogeneização das amostras de areia.



Fonte: Arquivo próprio.

Os procedimentos para análise de Coliformes termotolerantes na areia seguiram as recomendações da norma de Métodos padronizados para o exame de água e águas residuais (ASSOCIAÇÃO AMERICANA DE SAÚDE PÚBLICA, 1999d) e da Norma Técnica nº L5.406 - Coliformes termotolerantes: Determinação em amostras ambientais pela técnica de tubos múltiplos com meio A1, da CETESB.

3.3.1 Membrana Filtrante

Após a homogeneização das amostras, foi retirado um volume de 100ml para a filtração. A filtragem dos volumes foi realizada através de um aparato de filtração estéril utilizando uma membrana de 0,45 μm de porosidade, com uma bomba de pressão negativa (Fotografia 3).

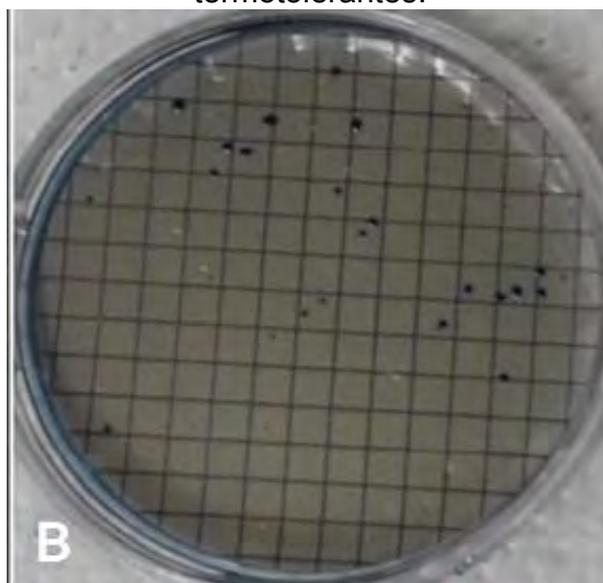
Fotografia 3 – Filtração em membrana das amostras.



Fonte: Arquivo próprio.

Com a ajuda de pinças estéreis, as membranas obtidas da filtração foram colocadas em placas de Petri com o meio de cultura Ágar m-FC. Depois, as membranas foram incubadas a $44,5 \pm 0,2$ °C durante 24 horas. Após o período de incubação, realizou-se a contagem das colônias típicas de Coliformes termotolerantes, as quais apresentam coloração azul (Fotografia 4). Os resultados foram expressos em Unidade Formadora de Colônia (UFC) por 100g de areia.

Fotografia 4 – Identificação e quantificação das colônias de Coliformes termotolerantes.

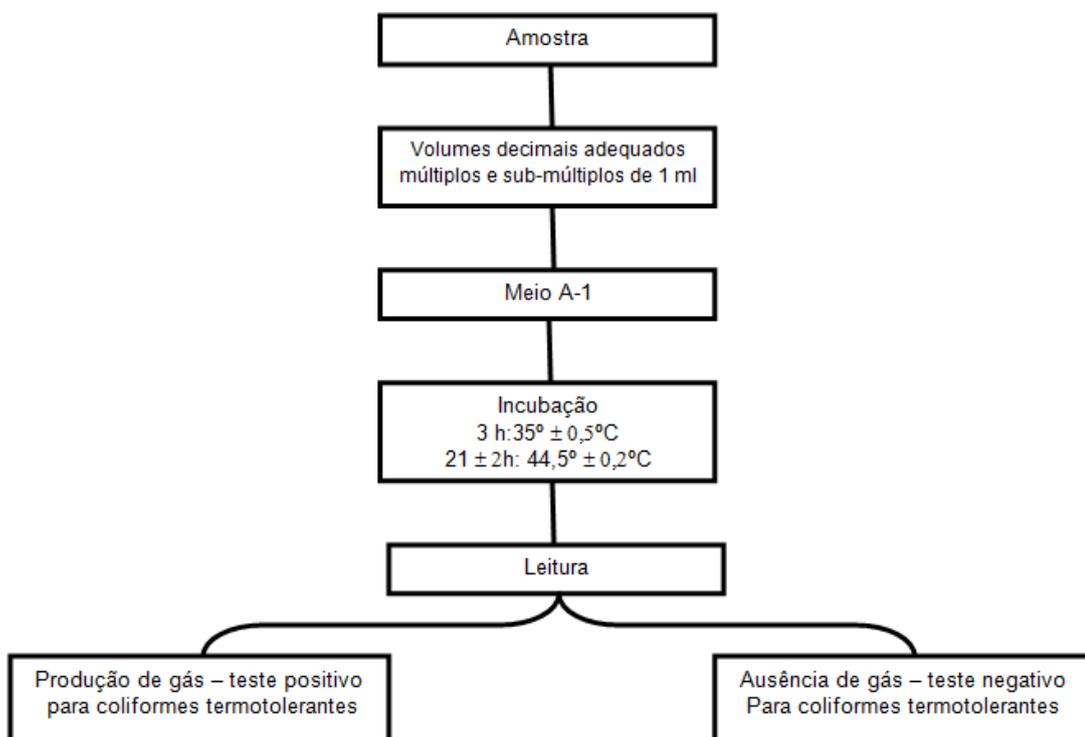


Fonte: Arquivo próprio.

3.3.2 Tubos Múltiplos

Após a mesma homogeneização para cada amostra preparada para membrana filtrante, foram efetuadas diluições decimais consecutivas, nas quais volumes decrescentes da amostra foram inoculados em meio de cultura A1, sendo que cada volume foi inoculado em três série: cinco tubos de 10ml, cinco tubos de 1ml e cinco tubos de 0,1ml, totalizando quinze tubos por amostra. Após a inoculação de todos os volumes da amostra, efetuou-se uma pré-incubação em banho-maria a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ de todos os tubos inoculados durante 3 horas. Após esse período, os tubos foram transferidos para estufa a $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$, para a continuidade da incubação por 21 ± 2 horas. A leitura foi feita considerando como resultado positivo para Coliformes termotolerantes o teste de todos os tubos que apresentaram turvação do meio e formação de gás no tubo de Durham (Fotografia 5). Com os dados obtidos, foi calculado o NMP (número mais provável) de Coliformes termotolerantes por 100 g de areia (Esquema 2).

Esquema 2 – Esquema do procedimento para determinação de Coliformes termotolerantes pela técnica de tubos múltiplos com o meio A-1.



Fonte: Modificado da Norma Companhia Ambiental do Estado de São Paulo - CETESB (2007)

Fotografia 5 – Turvação da amostra com presença de gás.



Fonte: Arquivo próprio.

3.4 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS

Todas as análises estatísticas foram feitas com o auxílio das ferramentas Microsoft Office Excel 2007 e SPSS 19.0 for Windows. Foram obtidos os valores da média, valor máximo, valor mínimo e desvio padrão para cada tipo de amostra (areia seca ou areia úmida) e para cada técnica aplicada, com o objetivo de facilitar as comparações. Foi realizada a Inferência Estatística (teste de “t” de Student para amostras independentes) considerando um nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CONCENTRAÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES EM AREIA

As tabelas 6 e 7 apresentam as concentrações de Coliformes termotolerantes nas areias seca e úmida, obtidas pelas técnicas de membrana filtrante e tubos múltiplos, respectivamente, para cada estação durante o período de estudo.

Todas as estações analisadas apresentaram, em pelo menos uma campanha, positividade para Coliformes termotolerantes na areia, o que indica que as praias do município de Vitória estão sofrendo influência de lançamento de esgoto, já que estes parâmetros são indicadores de contaminação fecal.

É possível observar que os valores máximos de cada técnica – 17000 UFC/100g para membrana filtrante e 16000 NMP/100g para tubos múltiplos – foram encontrados nas primeiras campanhas, referentes aos meses de novembro/2013 e dezembro/2013.

Uma possível causa desse resultado pode estar associada à grande quantidade de chuvas que ocorreram no estado do Espírito Santo nesse período. Essas chuvas causaram enchentes em diversos municípios do estado, aumentando a quantidade de esgoto lançado aos rios que, conseqüentemente, chegou também o mar.

Dalfior (2005) defendeu que no período de maior precipitação a chuva leva mais rapidamente as bactérias presentes em esgotos para a praia. Assim, é provável que o alto número de Coliformes esteja relacionado ao esgoto.

Nessa época, as praias de Vitória foram consideradas impróprias para banho, conforme o relatório de balneabilidade da água realizado pelo Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos (IEMA) em dezembro/2013 (GAZETA, 2014).

É importante salientar que o monitoramento feito no Espírito Santo abrange somente a qualidade da água do mar. Porém, segundo Lamparelli ([2012?]), quando a água do mar está contaminada, presume-se que a areia da praia também estará contaminada, gerando assim um risco para os frequentadores.

Tabela 6 – Concentração de Coliformes termotolerantes obtida pela técnica de membrana filtrante (UFC/100g) nas areias das estações estudadas.

Campanha	Estações											
	IB		CJ1		CJ2		C1		C2		C3	
	AS	AU	AS	AU	AS	AU	AS	AU	AS	AU	AS	AU
1	200	20	17000	1500	3300	8400	0	200	0	600	10	0
2	300	240	3500	600	600	0	0	600	0	400	0	0
3	200	300	100	300	200	200	340	10	0	0	0	0
4	320	0	13800	400	950	30	0	160	0	100	10	0
5	580	10	0	800	400	770	0	40	0	80	2410	20
Média	320	114	6880	720	1090	1880	68	202	0	236	486	4
Mín.	200	0	0	300	200	0	0	10	0	0	0	0
Máx.	580	300	17000	1500	3300	8400	340	600	0	600	2410	20

Fonte: Elaboração própria.

Legenda: IB – Ilha do Boi; CJ1 – Curva da Jurema 1; CJ2 – Curva da Jurema 2; C1 – Camburi 1; C2 – Camburi 2; C3 – Camburi 3; AS – Areia seca; AU – Areia úmida.

Tabela 7 – Concentração de Coliformes termotolerantes obtida pela técnica de tubos múltiplos (NMP/100g) nas areias das estações estudadas.

Campanha	Estações											
	IB		CJ1		CJ2		C1		C2		C3	
	AS	AU	AS	AU	AS	AU	AS	AU	AS	AU	AS	AU
1	45	170	3500	330	16000	1100	16000	4050	0	170	490	93
2	170	130	16000	490	93	170	9200	68	1700	20	1100	0
3	220	45	20	18	0	5400	490	110	20	40	78	130
4	45	110	170	130	68	20	270	45	0	110	45	20
5	140	20	68	40	45	20	130	20	220	20	0	0
Média	124	95	3951,6	201,6	3241,2	1342	5218	858,6	388	72	342,6	48,6
Mín.	45	20	20	18	0	20	130	20	0	20	0	0
Máx.	220	170	16000	490	16000	5400	16000	4050	1700	170	1100	130

Fonte: Elaboração própria.

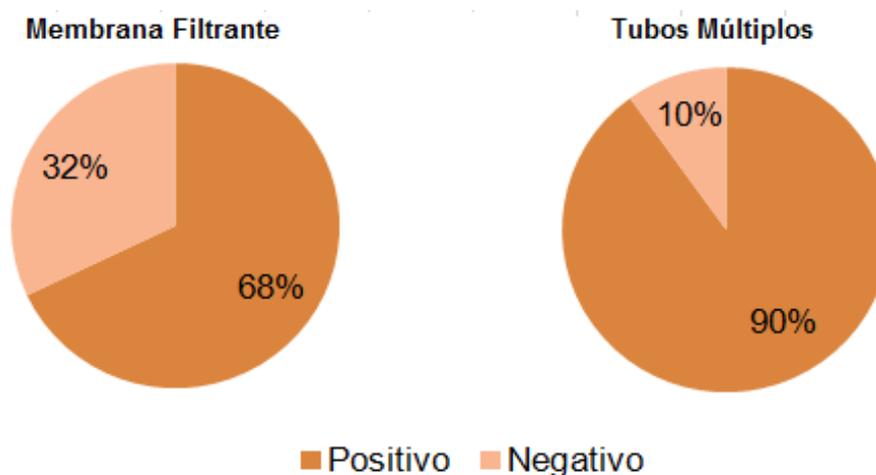
Legenda: IB – Ilha do Boi; CJ1 – Curva da Jurema 1; CJ2 – Curva da Jurema 2; C1 – Camburi 1; C2 – Camburi 2; C3 – Camburi 3; AS – Areia seca; AU – Areia úmida.

4.2 POSITIVIDADE DAS AMOSTRAS ANALISADAS PELAS TÉCNICAS DE MEMBRANA FILTRANTE E TUBOS MÚLTIPLOS

O parâmetro Coliformes termotolerantes apresentou positividade em 41 das 60 amostras de areia quando utilizada a técnica de membrana filtrante, o que representa 68% do total analisado (Gráfico 1). Essa técnica pode apresentar limitações para a quantificação bacteriana na matriz analisada, mesmo eluída em água as amostras turvas podem comprometer a filtração levando ao entupimento dos poros da membrana filtrante, além da possibilidade do encobrimento das colônias pelo material particulado presente na amostra.

A técnica de tubos múltiplos foi capaz de identificar a presença de Coliformes termotolerantes em 54 das 60 amostras de areia analisadas, representando 90% de positividade (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Percentual de positividade nas técnicas de membrana filtrante e tubos múltiplos.



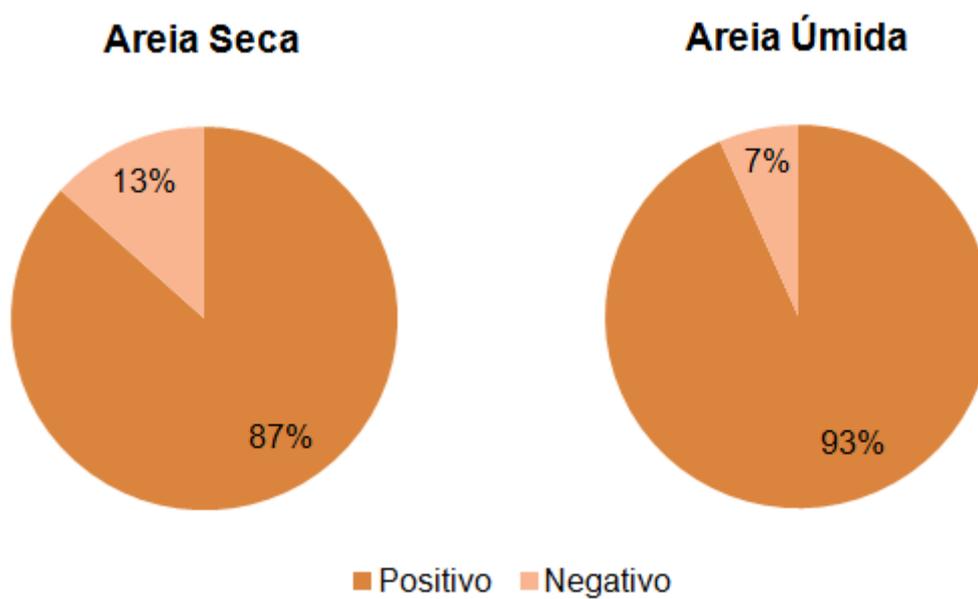
Fonte: Elaboração própria

4.3 COMPARAÇÃO DAS AREIAS ATRAVES DOS RESULTADOS DE TUBOS MÚLTIPLOS, POR POSITIVIDADE

A técnica de tubos múltiplos identificou a presença de Coliformes termotolerantes (positividade) na maior parte das amostras (Gráfico 2). Em 30 amostras de areia seca analisadas, 26 (87%) amostras apresentaram positividade enquanto 4 (13%) amostras não apresentaram. Já nas amostras de areia úmida, o percentual de

positividade foi maior: 93%, o que representa 28 das 30 amostras. Apenas 2 (7%) amostras de areia úmida não apresentaram a presença de Coliformes termotolerantes.

Gráfico 2 – Positividade das amostras de areia úmida e seca pela técnica de tubos múltiplos.



Fonte: Elaboração própria

4.4 COMPARAÇÃO DAS AREIAS ATRAVÉS DOS RESULTADOS DE TUBOS MÚLTIPLOS, POR CONCENTRAÇÃO DE COLIFORMES

4.4.1 Estatística descritiva

As areias secas das estações amostrais C1, CJ1 e CJ2 apresentaram os maiores valores de média e máxima, respectivamente, para Coliformes termotolerantes (Tabela 7). A menor média foi obtida pela areia úmida da estação amostral C2, cujo valor foi de 72 NMP/100g. A máxima dessas areias chegou ao valor de 16000 NMP/100g nas campanhas 1 e 2.

Os valores referentes a média e máximo de concentração de Coliformes termotolerantes (Tabela 8) foram maiores nas amostras de areia seca do que nas amostras de areia úmida. Isso contrasta com a positividade, onde as amostras de areia úmida obtiveram maior percentual do que as amostras de areia seca. Assim, pode-se perceber que a alta positividade não significa, necessariamente, que a concentração de Coliformes também será alta.

Tabela 8 – Consolidação dos resultados da concentração de Coliformes termotolerantes obtidos nas amostras de areia seca e úmida pela técnica de tubos múltiplos.

	Areia Seca (NMP/100g)	Areia Úmida (NMP/100g)
Media	2210,9	436,3
Máx.	16000	5400
Mín.	0	0
Desvio Padrão	4993,52	1197,81

Fonte: Elaboração própria

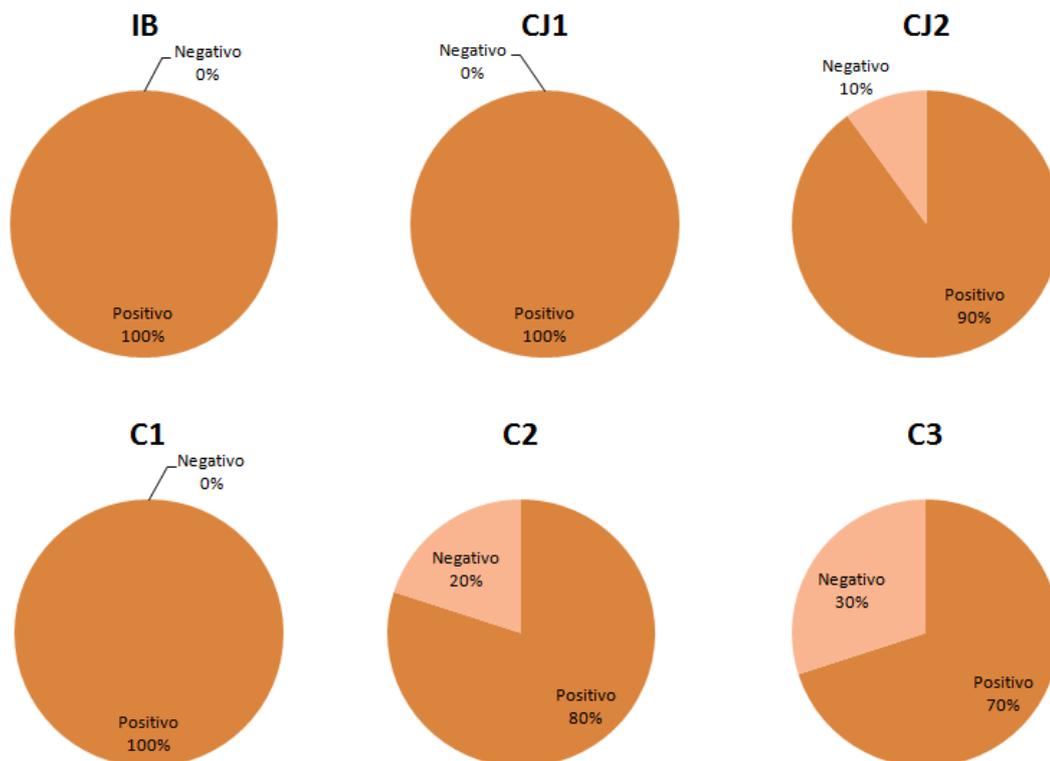
4.4.2 Teste T de Student

Através da análise dos dados por teste “t” para amostras independentes ao nível de significância de 5%, constatou-se valor de $p=0,067$ ($t=1,893$), que para as variáveis testadas a hipótese de igualdade entre as médias (H_0) não foi rejeitada (valor- $p > 0,05$), isto é, que não existe diferença significativa entre médias da areia seca e areia úmida das estações pesquisadas, pela técnica de tubos múltiplos.

4.5 COMPARAÇÃO DAS PRAIAS ATRAVÉS DOS RESULTADOS DE TUBOS MÚLTIPLOS, POR POSITIVIDADE

Os resultados mostraram que o maior índice de positividade ocorreu nas estações amostrais IB, CJ1 e C1, cuja identificação de Coliformes termotolerantes incidiu em 100% das amostras. A estação com o menor índice de positividade foi a C3, que apresentou Coliformes termotolerantes em 7 das 10 amostras, representando 70% de positividade. No gráfico abaixo (Gráfico 3) é apresentado o comparativo da positividade por estação amostral:

Gráfico 3 – Positividade das amostras de areia entre as estações de coleta pela técnica de tubos múltiplos.



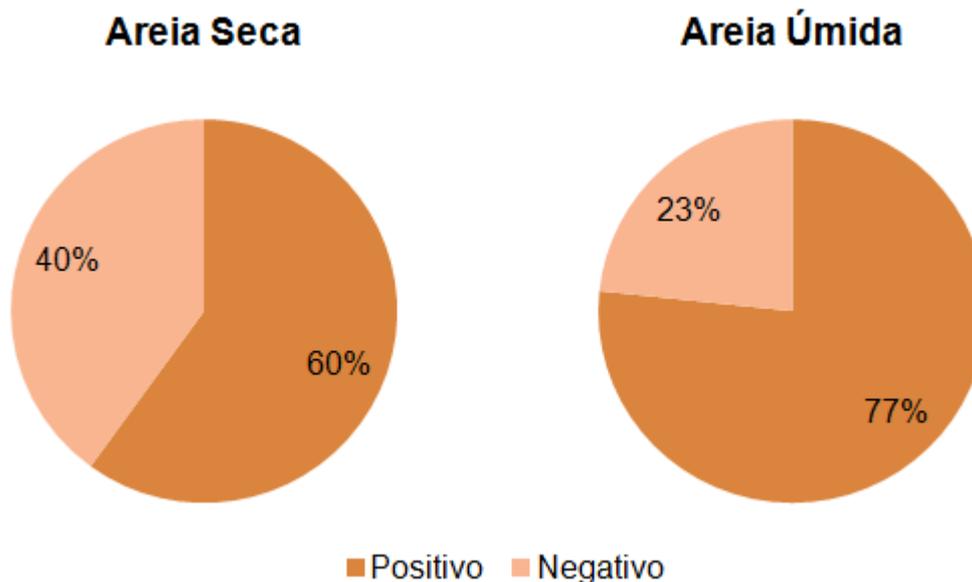
Fonte: Elaboração própria

Legenda: IB – Ilha do Boi; CJ1 – Curva da Jurema 1; CJ2 – Curva da Jurema 2; C1 – Camburi 1; C2 – Camburi 2; C3 – Camburi 3.

4.6 COMPARAÇÃO DAS AREIAS ATRAVES DOS RESULTADOS DE MEMBRANA FILTRANTE, POR POSITIVIDADE

A técnica de membrana filtrante, assim como a técnica de tubos múltiplos, identificou a presença de Coliformes termotolerantes (positividade) na maior parte das amostras (Gráfico 4). Em 30 amostras de areia seca analisadas, 18 (60%) amostras apresentaram positividade enquanto 12 (40%) amostras não apresentaram. Já nas amostras de areia úmida, o percentual de positividade foi um pouco maior: 77%, o que representa 23 das 30 amostras. 7 (23%) amostras de areia úmida não apresentaram a presença de Coliformes termotolerantes. É notável que o percentual de positividade em ambas as areias obtido por esta técnica foi menor do que o obtido pela técnica de tubos múltiplos.

Gráfico 4 – Positividade das amostras de areia úmida e seca pela técnica membrana filtrante.



Fonte: Elaboração própria

4.7 COMPARAÇÃO DAS AREIAS ATRAVÉS DOS RESULTADOS DE MEMBRANA FILTRANTE, POR CONCENTRAÇÃO DE COLIFORMES

4.7.1 Estatística descritiva

Os maiores valores de média e máxima (Tabela 6) da concentração de Coliformes identificados pela técnica de membrana filtrante foram encontrados na estação amostral CJ1 em areia seca, seguida da estação amostral CJ2 em areia úmida e CJ2 areia seca. Os resultados da análise mostraram que as duas estações amostrais da praia da Curva da Jurema obtiveram a maior concentração de Coliformes termotolerantes. A estação amostral com a menor concentração foi a C2, na praia de Camburi, que não apresentou nenhuma ocorrência de Coliformes termotolerantes nas amostras de areia seca.

Assim como na análise feita através de tubos múltiplos, os valores referentes a média e máximo de concentração de Coliformes termotolerantes (Tabela 9) foram maiores nas amostras de areia seca do que nas amostras de areia úmida, reiterando a ideia de que uma alta quantidade de amostras com positividade não significa, necessariamente, que a concentração de Coliformes nessas amostras também será alta.

Tabela 9 – Consolidação dos resultados da concentração de Coliformes termotolerantes obtidos nas amostras de areia seca e úmida pela técnica de membrana filtrante.

	Areia Seca (UFC/100g)	Areia Úmida (UFC/100g)
Media	1474	526
Máx.	17000	8400
Mín.	0	0
Desvio Padrão	3919,02	1525,70

Fonte: Elaboração própria

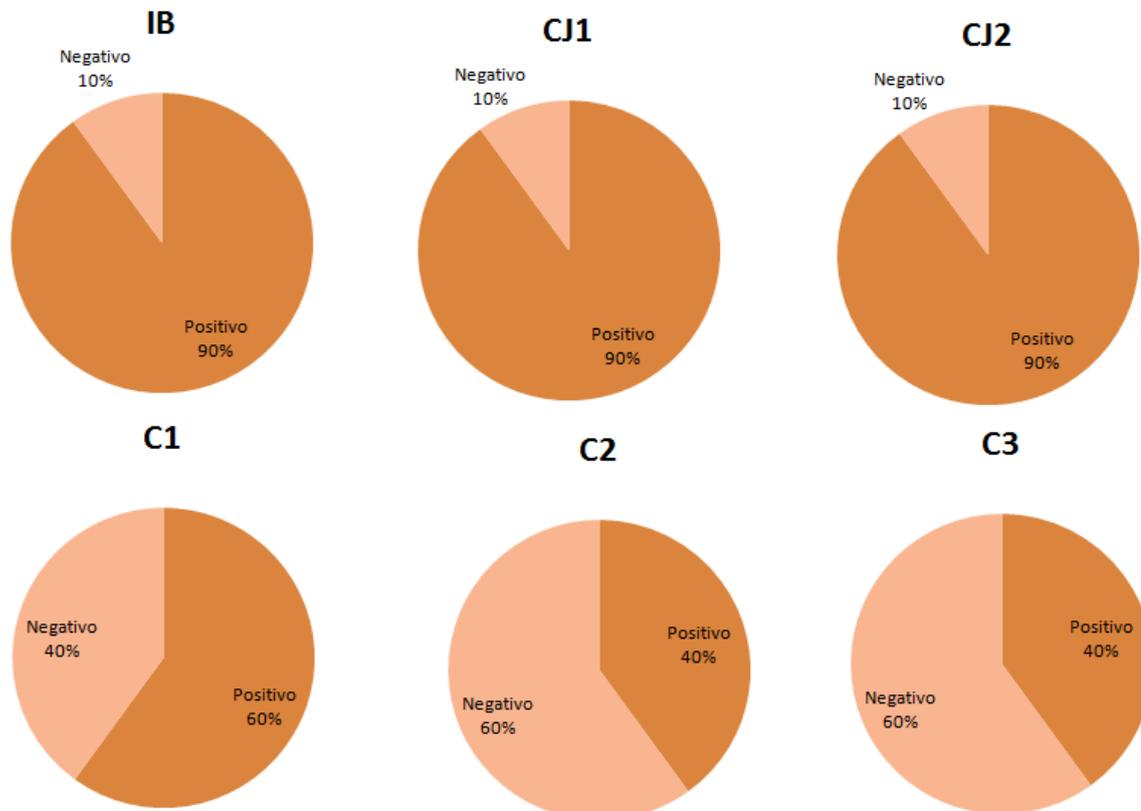
4.7.2 Teste T de Student

Através da análise dos dados por teste “t” para amostras independentes ao nível de significância de 5% constatou-se valor de $p=0,225$ ($t=1,235$), que para as variáveis testadas a hipótese de igualdade entre as médias (H_0) não foi rejeitada (valor- $p > 0,05$), isto é, que não existe diferença significativa entre médias da areia seca e areia úmida das estações pesquisadas, pela técnica de membrana filtrante.

4.8 COMPARAÇÃO DAS PRAIAS ATRAVÉS DOS RESULTADOS DE MEMBRANA FILTRANTE, POR POSITIVIDADE

Os resultados mostraram que o maior índice de positividade ocorreu nas estações amostrais IB, CJ1 e CJ2, cuja identificação de Coliformes termotolerantes incidiu em 90% das amostras. As estações com o menor índice de positividade foram C2 e C3, que apresentaram Coliformes termotolerantes em 4 das 10 amostras, representando 40% de positividade. No gráfico abaixo (Gráfico 5) é apresentado o comparativo da positividade por estação amostral:

Gráfico 5 – Positividade das amostras de areia entre as estações de coleta pela técnica de membrana filtrante.



Fonte: Elaboração própria

Legenda: IB – Ilha do Boi; CJ1 – Curva da Jurema 1; CJ2 – Curva da Jurema 2; C1 – Camburi 1; C2 – Camburi 2; C3 – Camburi 3.

4.9 COMPARAÇÃO ENTRE AS TÉCNICAS DE MEMBRANA FILTRANTE E TUBOS MÚLTIPLOS

4.9.1 Estatística descritiva

A tabela a seguir (Tabela 10) apresenta a consolidação dos resultados obtidos pelas técnicas, apresentando os valores referentes à concentração de Coliformes encontrados, descritos em UFC/100g para a técnica de membrana filtrante e em NMP/100g para a técnica de tubos múltiplos.

Tabela 10 – Consolidação dos resultados da concentração de Coliformes termotolerantes obtidos pelas técnicas de membrana filtrante e tubos múltiplos

	Membrana Filtrante (UFC/100mg)	Tubos Múltiplos (NMP/100g)
Media	1000	1323,6
Máx.	17000	16000
Mín.	0	0
Desvio Padrão	2986,95	3709,75

Fonte: Elaboração própria

4.9.2 Teste T de *Student*

Através da análise dos dados por teste “t” para amostras independentes ao nível de significância de 5% constatou-se valor de $p=0,600$ ($t= -0,526$), que para as variáveis testadas a hipótese de igualdade entre as médias (H_0) não foi rejeitada (valor- $p >0,05$), isto é, que não existe diferença significativa entre médias das concentrações de Coliformes termotolerantes das técnicas de membrana filtrante e tubos múltiplos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados, foi possível concluir que pelo parâmetro positividade a técnica de tubos múltiplos pode ser considerada mais eficaz do que a técnica de membrana filtrante, pois obteve um maior número de amostras cuja presença de Coliformes termotolerantes foi identificada, independente do tipo de areia (seca ou úmida).

Para um melhor custo-benefício, a técnica de membrana filtrante é a mais indicada, visto que os procedimentos dessa técnica são mais simples quando comparados com os de tubos múltiplos. Porém, essa técnica não é indicada para amostras turvas, pois elas podem causar o entupimento da membrana e assim gerar desperdício de recursos.

Houve maior incidência (positividade) de Coliformes termotolerantes nas amostras de areia úmida do que nas amostras de areia seca. Entretanto, com relação à concentração, a areia seca apresentou maior quantidade de microrganismos do que a areia úmida, independentemente da técnica aplicada.

Grande parte das concentrações de Coliformes foram encontradas nos meses de novembro e dezembro de 2013. Isso pode ser explicado pelas precipitações que ocorreram nesse período, o que conseqüentemente aumentou a quantidade de esgoto lançado ao mar.

Ambas as técnicas identificaram que a praia Curva da Jurema apresentou os maiores índices de positividade e concentração de Coliformes termotolerantes. Isso pode estar relacionado ao fluxo de banhistas nesse local, que é maior do que o das demais praias, e também ao comércio local (quiosques).

Um proposta de ação para a diminuição da contaminação das areias de praia seria o uso de máquinas para a remoção de detritos da areia.

Recomenda-se que um estudo de comparação das técnicas seja realizado usando como indicador de contaminação a bactéria enterococos, visto que ela possui maior resistência e sobrevive mais tempo em ambientes salinos do que os Coliformes termotolerantes.

Outra contribuição interessante seria a realização de um estudo de comparação de técnicas considerando as demais estações do ano.

Recomenda-se também a realização de estudos considerando aspectos físico-químicos das amostras de areia, como a granulometria, pH e temperatura.

REFERÊNCIAS

ALM, E. W.; BURKE, J.; SPAIN, A. Fecal indicator bacteria are abundant in wet sand at freshwater beaches. **Water Research**, Philadelphia, v. 37, n. 16, p. 3978 – 3982, 2003. Disponível em:

<http://www.researchgate.net/publication/10621352_Fecal_indicator_bacteria_are_abundant_in_wet_sand_at_freshwater_beaches/file/79e4150a25ac98b7cf.pdf>.

Acesso em 3 mai. 2014.

AMORIM, D. S. de. et al. Infecções por *Aspergillus* spp: aspectos gerais. **Pulmão RJ**, Rio de Janeiro, v.13, n. 2, p. 111- 118, 2004. Disponível em:<http://www.sopterj.com.br/revista/2004_13_2/08.pdf>. Acesso em 28 abr. 2014.

ANDRAUS, S. **Aspectos microbiológicos da qualidade sanitária das águas do mar e areias das praias de Matinhos, Caiobá e Guaratuba-PR**. 2006. 124 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006. Disponível em:

<http://www.pgcisolo.agrarias.ufpr.br/dissertacao/2006_08_02_andraus.pdf>. Acesso em: 11 jan.2014.

ASSOCIAÇÃO AMERICANA DE SAÚDE PÚBLICA. **Seção 9230**: Grupo fecal de *Enterococcus* / *Streptococcus*._____. Métodos padronizados para o exame de água e águas residuais. Washington DC: APHA; AWWA; WEF, 1999a.

_____. **Seção 9222**: Técnica de membrana filtrante para os membros do grupo coliforme._____. Métodos padronizados para o exame de água e águas residuais. Washington DC: APHA; AWWA; WEF, 1999b.

_____. **Seção 9223**: Teste de Coliforme com substrato enzimático._____. Métodos padronizados para o exame de água e águas residuais. Washington DC: APHA; AWWA; WEF, 1999c.

_____. **Seção 9221**: Técnica de fermentação tubo Múltiplo para os membros do grupo coliforme._____. Métodos padronizados para o exame de água e águas residuais. Washington DC: APHA; AWWA; WEF, 1999d.

ASSOCIAÇÃO BANDEIRA AZUL DA EUROPA. **Qualidade Microbiológica de areias de praias litorais**: relatório técnico final. Alfragide: ABAE, 2002. 132p.

Disponível em:

<http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18/232/3/Qualidade%20Microbiol%C3%B3gica%20de%20Areias%20de%20Praias%20Litorais.pdf>. Acesso em: 28 abr. 2014.

_____. **Monitorização da qualidade das areias em zonas balneares**. Relatório Fevereiro de 2011, época banhar de 2010. Lisboa: ABAE, 2011. 32 p. Disponível em:

http://www.abae.pt/programa/BA/projectos/areias/2010/docs/relatorio_da_ABAE_2011_02_10.pdf. Acesso em: 28 abr. 2014.

BAHIA. Instituto do Meio Ambiente e Recursos Hídricos. **Qualidade das Praias**. Disponível em: < <http://www.inema.ba.gov.br/servicos/monitoramento/qualidade-das-praias/>>. Acesso em: 2 mai. 2014.

BEVERSDORF, L.J.; BORNSTEIN-FORST S.M.; MCLELLAN, S.L. The potential for beach sand to serve as a reservoir for *Escherichia coli* and the physical influences on cell die-off. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 102, n. 5, p. 1372-81, may. 2007. Resumo. Disponível em: < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.2006.03177.x/pdf> >. Acesso em: 21 mai. 2014.

BONILLA, T. D. et al. 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**, Philadelphia, v. 54, n. 9, p. 1472 - 1482, 2007.

BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução Conama nº 274, de 29 de novembro de 2000. Dispõe sobre os critérios de balneabilidade em águas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, DF, 08 jan. 2001. Seção 1, p. 70-71. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res00/res27400.html>>. Acesso em: 3 fev. 2014.

BRAZ, V. N. et.al. Comparação entre as técnicas de tubos múltiplos e cromogênica na enumeração de coliformes em águas de praias. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 21. 2001, João Pessoa. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES, 2001. p. 1-7. Disponível em: <<http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/brasil21/xi-025.pdf>>. Acesso em 2 fev. 2014.

CASTRO, H. M. P. de. **Efeito da radiação solar e da salinidade sobre o crescimento de *Escherichia coli***. 2003. 51 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003. Disponível em : < http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/1228/1/2003_dis_hmpdcastro.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2014.

CEARÁ. Superintendência Estadual Do Meio Ambiente. **Programa de Monitoramento da Balneabilidade das Praias**. 2014a. Disponível em: <<http://www.semace.ce.gov.br/licenciamento-ambiental/monitoramento/programa-de-monitoramento-das-praias/>>. Acesso em: 28 mai. 2014.

_____. Superintendência Estadual Do Meio Ambiente. **Boletim de balneabilidade das praias**. 2014b. Disponível em: <<http://www.semace.ce.gov.br/licenciamento-ambiental/servicos-licenciamento-ambiental/boletim-de-balneabilidade/>>. Acesso em: 28 mai. 2014.

CERQUEIRA, D. A.; HORTA, M. C. de. Coliformes fecais não existem. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 20º., 1999, Rio de Janeiro. **Anais**. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1999. p 1239 – 1244. Disponível em: <<http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis//brasil20//ii-038.pdf>>. Acesso em 27 jan. 2014. P 146 – 154.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **L5. 406:** Coliformes termotolerantes: Determinação em amostras ambientais pela técnica de tubos múltiplos com meio A1 - método de ensaio. São Paulo: CETESB, 2007. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/servicos/normas/pdf/L5406.pdf>>. Acesso em 25 jan. 2014.

_____. **Relatório de Qualidade das praias litorâneas no Estado de São Paulo 2012:** Série Relatórios. São Paulo: CETESB, 2013. 189p. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/agua/praias/relatorios/relatorio_balneabilidade_2012.zip>. Acesso em 3 fev. 2014.

DALFIOR, J. S. . **Avaliação da eficiência do grupo coliforme fecal como indicador de balneabilidade de praias quando comparado com Enterococos: Estudo de caso da praia da Curva da Jurema (Vitória, ES).** 2005. 53f. Monografia (Graduação em Oceanografia) – Centro de Ciências Humanas e Naturais, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2005. Disponível em: <http://www.dern.ufes.br/oceano/link/monografias/2004/monog17_2004.pdf>. Acesso em : 11 jan. 2014.

ESPIRITO SANTO (Estado). Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos. **Programa de monitoramento da balneabilidade no ES.** Vitória, 2014a. Disponível em: <<http://www.meioambiente.es.gov.br/default.asp>>. Acesso em: 15 mar. 2014.

_____. Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos. **Balneabilidade no Estado do Espírito Santo.** Vitória, 2014b. Disponível em: <<http://www.meioambiente.es.gov.br/default.asp>>. Acesso em: 15 mar. 2014.

ECKNER, K.F. Comparison of membrane filtration and multiple-tube fermentation by the Colilert enterolert methods for detection of waterborne coliform bacteria, Escherichia coli and Enterococci used in drinking water and bathing water quality monitoring in southern Sweden. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, n. 8, p. 3079- 3083, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC106820/#!po=4.16667>>. Acesso em: 21 mai. 2014.

FERREIRA, M. S.; BORGES, A. S. Histoplasmose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 42, n. 2, p. 192 - 198, 2009. Disponível em :<<http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v42n2/v42n2a20.pdf>>. Acesso em: 18 mai. 2014.

FRANCO, B. D. G. de.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

GAZETA ONLINE. **Vinte praias no Espírito Santo estão impróprias para banho.** Vitória, 2014. Disponível em: <http://gazetaonline.globo.com/_conteudo/2014/01/noticias/cidades/1474373-vinte-

praias-no-espirito-santo-estao-improprias-para-banho.html>. Acesso em: 28 mai. 2014.

GUIMARÃES, L. C., et al. Larva migrans within scalp sebaceous gland. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 32, n. 2, p. 187 – 189, 1999. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v32n2/0386.pdf> >. Acesso em: 18 mai. 2014.

GOLDBECK, J. C. **Métodos rápidos de análise microbiológica**. 2008. 32f. Trabalho apresentado como requisito parcial para aprovação na disciplina de seminários, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008. Disponível em: < <https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=0CDIQFjAB&url=http%3A%2F%2Fquimicadealimentos.files.wordpress.com%2F2009%2F08%2Fmetodos-rapidos-de-analise-microbiologica.doc&ei=hpOKU5qGEbLisATzqYLQDQ&usg=AFQjCNH76vO3WBUIWidJby5sijFmnlGczg&bvm=bv.67720277,d.cWc> >. Acesso em: 28 mar. 2014.

GONZÁLEZ y CÁCERES, A. P. S. et al. Contaminação do Solo por Helminthos de Importância Médica na Praia do Sul (Milionários), Ilhéus-BA. **News Lab**, São Paulo, n. 67, p. 146 – 154, 2004. Disponível em: <http://www.newslab.com.br/ed_anteriores/67/art07.pdf>. Acesso em 15 mar. 2014.

HSIEH, J.J. **A comparison of the Multiple-tube fermentation method and Colitag method for the detection of waterborne coliform bacteria**. 2001. Disponível em: <<http://nature.berkeley.edu/classes/es196/projects/2001final/Hsieh.pdf>>. Acesso em: 21 mai. 2014.

IDEXX LABORATORIES. **How Quanti-Tray woks**. 2014. Disponível em: < <https://ca.idexx.com/water/products/quant-tray.html> >. Acesso em 28 mai. 2014.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artemed, 2005.

LAMPARELLI, C. C. **Quem nada em praias poluídas fica doente?**. Rio de Janeiro: Associação Nacional de Biossegurança, [2012?]. Disponível em: <http://www.anbio.org.br/site/index.php?option=com_content&view=article&id=458:quem-nada-em-praias-poluidas-fica-doente-parte-2&catid=66:biodiversidade&Itemid=61>. Acesso em: 29 de abr. de 2014.

LIMA, A. M. et.al. Estudo comparativo entre as técnicas de determinação de coliformes fecais e escherichia coli em águas naturais e residuárias utilizado os métodos da membrana filtrante e do substrato cromogênico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 21., João Pessoa. **Anais ...** Rio de Janeiro: ABES, 2001. P 1 -9. Disponível em: < <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/brasil21/xi-030.pdf> >. Acesso em: 3 fev. 2014.

LIMA, L. M.; SANTOS, J. I.; FRANZ, H. C. F. **Altas de Parasitologia Clínica e Doenças Infecciosas Associadas ao Sistema Digestivo**. 2014. Disponível em: < <http://www.parasitologiaclinica.ufsc.br/index.php/info/conteudo/fotografias/trofozoitos-glamblia/> >. Acesso em: 18 mai. 2014

LECLERC, H. et al. Advances in the bacteriology of the coliform group: their suitability as markers of microbial water safety. **Annu. Rev. Microbiol.**, v.55, p.201-234, 2001. Disponível em: < <http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.micro.55.1.201>>. Acesso em: 20 jan. 2014.

MARQUEZI, M. C.; GALLO, C. R.; DIAS, C. T. dos S. Comparação entre métodos para a análise de coliformes totais e E. coli em amostras de água. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.69, n. 3, p. 291- 296, 2010. Disponível em: <http://revistas.bvs-vet.org.br/rialutz/article/viewFile/6329/6023>. Acesso em: 3 fev. 2014.

MENDONÇA-HAGLER, L. C; VIEIRA, R. H. S. F.; HAGLER, A. N. Microbial quality of water, sediment, fish and shellfish in some Brazilian Coastal regions. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, p.197-216, 2001. Disponível em: < <http://www.oecologiaaustralis.org/ojs/index.php/oa/article/viewFile/307/806>>. Acesso em: 28 abr. 2014.

MONTEIRO, D. T. L. **Comparação da qualidade bacteriológica da água marinha e da areia seca e molhada de duas praias do litoral leste do Ceará.** 2013. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013. Disponível em: < http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/6517/1/2013_dis_dtlmonteiro-1.pdf>. Acesso em: 19 jan. 2014.

NUNES, J. G. **Avaliação microbiológica da areia e da água do mar na praia da Tapera e do Ribeirão da Ilha/SC relacionada ao cultivo de ostras e à balneabilidade.** 2010. 72 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Pós-Graduação em Engenharia do Controle da Poluição Ambiental) - Universidade do Sul de Santa Catarina, Florianópolis, 2010. Disponível em: < <http://www.uniedu.sed.sc.gov.br/wp-content/uploads/2014/01/Janaina-Gonzaga-Nunes.pdf>>. Acesso em: 3 fev. 2014.

NEVES, D. P. et al. **Parasitologia Humana.** 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2011.

OLIVEIRA, T. C. T. de. et al. Efeito da salinidade na atividade microbiológica em esterco caprino e bovino. In: CONGRESSO DE PESQUISAS E INOVAÇÃO DA REDE NORTE E NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA, 4., 2009. Belém. **Anais eletrônicos...** Belém do Pará: CONNEPI, 2009. Disponível em: < http://connepi2009.ifpa.edu.br/connepi-anais/artigos/175_614_1891.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2014.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Monitoramento baseado em Saúde de águas de recreio:** A viabilidade de uma nova abordagem. Genebra: WHO, 1999. 50p. Disponível em: < http://www.who.int/water_sanitation_health/bathing/Annapolis.pdf>. Acesso em: 30 jan. 2014.

_____. **Diretrizes para a qualidade da água potável.** 4^a ed. Genebra: WHO, 2011. 541p. Disponível em:

<http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241548151_eng.pdf>. Acesso em: 21 jan. 2014.

PANAGASSI, K. A. L.; CATANOZI, G. Caracterização bacteriológica da areia de praia do município Estância Balneária de Praia Grande/SP. **Rev. Ibirapuera**, São Paulo, n. 2, p. 28-32, 2011. Disponível em: <<http://www.revistaunib.com.br/vol2/artigo4.pdf>>. Acesso em: 28 abr. 2014.

PARANÁ. Assembleia Legislativa. Projeto de Lei nº 834/2011. normatiza monitoramento da qualidade da areia das praias, rios e represas do Estado do Paraná e adota outras providências. 2011a. Disponível em: <<http://rasca.com.br/adm/arquivos/upload/projeto-128112011111136.pdf>>. Acesso em: 21 abr. 2014.

_____. Instituto Ambiental do Paraná. IAP passa a monitorar qualidade da areia no Litoral. Curitiba, 2011b. Disponível em: <<http://www.iap.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=96>>. Acesso em: 21 abr. 2014.

_____. Instituto Ambiental do Paraná. Qualidade da areia das praias do Paraná foi tema de palestra internacional. Curitiba, 2012. Disponível em: <<http://www.iap.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=243>>. Acesso em: 21 abr. 2014.

PASSOS, C. T. dos. et al. Variação sazonal da contaminação por coliformes na areia e água da praia do cassino, Rio Grande-rs. **Arq. Ciên. Mar**, Fortaleza, v. 44, n.1, p. 21 – 26, 2011. Disponível em: <http://www.labomar.ufc.br/images/stories/arquivos/ArqCienMar/V44_1_2011/acm_2011_44_1_03.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2014.

PELCZAR JR. M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. Infecções de Pele e de Ferimentos Adquiridos por Contato Direto. In:____. **Microbiologia, Conceitos e Aplicações**. 2 ed. São Paulo. Pearson Education do Brasil, 2009. p. 279-303.

PINTO, A. B.; Oliveira, A. J. F. C. de. Diversidade de microrganismos indicadores utilizados na avaliação da contaminação fecal de areias de praias recreacionais marinhas: estado atual do conhecimento e perspectivas. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, 35(1), p.105–114, 2011. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/artigos/diversidade_microrganismos_indicadores_contaminacao_fecal_areia_praias.pdf>. Acesso em 18 jan. 2014

PINTO, K. C. **Avaliação sanitária das águas e areias de praias da Baixada Santista, São Paulo**. 2010. 239 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/6/6134/tde-28102010-142452/publico/KarlaCristiane.pdf>>. Acesso em: 19 jan. 2014.

QUEIROZ, M. L. de.; CHIEFFI, P. P. Síndrome de Larvas migrans visceral e Toxocara canis. **Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**, São Paulo, v. 50, n. 3, p. 117-120, jul. 2005.

Disponível em: <http://www.fcmscsp.edu.br/files/vlm50n3_revisao.pdf>. Acesso em: 27 abr. 2014.

REGO, J. C. V. **Qualidade Sanitária de Água e Areia de Praias da Baía de Guanabara**. 2010. 132f. Dissertação (Mestrado em Ciências na área da Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <http://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/2434/1/ENSP_Disserta%C3%A7%C3%A3o_Rego_Jane_da_Costa_Valentim.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2014.

RIBEIRO, E. N. **Avaliação de indicadores microbianos de balneabilidade em ambientes costeiros de Vitória/ES**. 2002. 122f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Centro Tecnológico, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2002.

RIO DE JANEIRO (Cidade). Secretaria municipal de meio ambiente. Resolução nº 468 de 28 de janeiro de 2010. Dispõe sobre a análise e informações das condições das areias das praias no Município do Rio de Janeiro. Diário oficial do município do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 29 jan. 2010a. ANO XXIII • Nº 211. Disponível: <<http://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/1458891/DLFE-226002.pdf/Resolucao468de28012010.pdf>>. Acesso em: 3 de fev. de 2014.

_____. Secretaria Municipal de Meio Ambiente. **Monitoramento da Qualidade das Areias das Praias**. Análises constantes das causas de poluição. Rio de Janeiro, 2010b. Disponível em: <<http://www.rio.rj.gov.br/web/smac/exibeconteudo?id=756332>>. Acesso em: 2 mai. 2014

_____. Instituto estadual do ambiente. **Monitoramento das praias do Estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <<http://www.inea.rj.gov.br/Portal/MegaDropDown/Monitoramento/Qualidadedaagua/Praias/index.htm>>. Acesso em: 2 mai. 2014.

_____. Instituto estadual do ambiente. Pontos de Monitoramento da Qualidade da areia. Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <<http://www.rio.rj.gov.br/documents/91265/4552347/Boletim+203.pdf>>. Acesso em: 2 mai. 2014

RIO GRANDE DO NORTE (Estado). Instituto de Desenvolvimento Sustentável e Meio Ambiente. **Programa Água Azul**. 2013. Disponível em: <<http://www.idema.rn.gov.br/Conteudo.asp?TRAN=ITEM&TARG=5962&ACT=&PAGE=0&PARM=&LBL=Gest%E3o+Ambiental>>. Acesso em: 2 mai. 2014.

RODRIGUES, D. A., et al. Doenças causadas por fungos. In: _____. **Atlas de dermatologia em povos indígenas**. São Paulo: Editora Unifesp, 2010, p. 59-80. Disponível em: <<http://books.scielo.org/id/23wpg>>. Acesso em 20 fev. 2014.

ROZEN, Y.; BELKIN, S. Survival of enteric bacteria in seawater. **FEMS Microbiology Reviews**, Holanda, v. 25, n. 5, p. 513 – 529, 2001. Disponível em: <

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1574-6976.2001.tb00589.x/pdf>>. Acesso em : 21 abr. 2014.

SÃO PAULO (Estado). **Lei nº 14.366**, de 15 de março de 2011. 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. Diário Oficial do Estado de São Paulo, São Paulo, 16 mar. 2011. Seção 1, p. 1. Disponível em: <<http://www.al.sp.gov.br/repositorio/legislacao/lei/2011/lei-14366-15.03.2011.html>>. Acesso em: 21 abr. 2014.

SANTA CATARINA. Fundação do Meio Ambiente. **O que é**. 2014a. Disponível em: <<http://www.fatma.sc.gov.br/conteudo/o-que-e>>. Acesso em: 5 mai. 2014.

_____. Fundação do Meio Ambiente. **Relatório de balneabilidade aponta 85,9% de pontos próprios para banho em SC**. 2014b. Disponível em: <<http://www.fatma.sc.gov.br/noticia/relatorio-de-balneabilidade-aponta-859-de-pontos-proprios-para-banho-em-sc>>. Acesso em: 5 mai. 2014.

_____. Fundação do Meio Ambiente. **Informações**. 2014c. Disponível em: <<http://www.fatma.sc.gov.br/conteudo/informacoes-2>>. Acesso em: 5 mai. 2014.

SILVA, M. B. **Qualidade Sanitária de Areias de Contato Primário em Escolas e Logradouros de Vitória – E.S.** 2005. 65 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2005.

SOARES, D. N. E. D. S. **Bases microbiológicas e químicas da qualidade ambiental da água e areia da orla de Manguinhos - Serra , Espírito Santo , Brasil**. 2009. 120f . Dissertação (Mestrado em Ecologia de Ecossistema) – Centro Universitário Vila Velha, Vila Velha, 2009. Disponível em: <http://www.uvv.br/edital_doc/13.DANIELA_NICIOLI_ESTEVAM_DA_SILVA_SOARES.pdf>. Acesso em: 11 jan. 2014.

SPERLING, M. V. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3. ed. Belo Horizonte: Ufmg-desa, 2005.

THE UNIVERSITY OF ADELAIDE. Mycology Online. **Candida albicans**. 2014. Disponível em: <http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Yeasts/Candida/Candida_albicans.html>. Acesso em 18 mai. 2014.

TORTORA, G. I.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

VIEIRA, R. H. S. dos F. et al. Microbial Contamination of sand from major beaches in Fortaleza, Ceará State, Brazil Journal of Microbiology. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 32, n. 2. p. 77-80, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-83822001000200001&script=sci_arttext>. Acesso em: 19 jan. 2014.

VITÓRIA. Secretaria de meio ambiente. **Análise semanal indica como está a qualidade das praias da cidade**. Vitória, 2014a. Disponível em: <<http://www.vitoria.es.gov.br/semmam.php?pagina=comoefeiteaaanalise>>. Acesso em: 01 mai. 2014.

_____. Secretaria de Meio Ambiente. **Mapa de balneabilidade**. Vitória, 2014b. Disponível em: <http://sistemas6.vitoria.es.gov.br/vol_balneabilidade/balneabilidade.php>. Acesso em: 15 mar. 2014.

WALDER, J. F. A. **Microrganismos patogênicos de importância nos alimentos**. 2006. 18f. Trabalho de revisão para a disciplina Microbiologia de Alimentos. Universidade Metodista de Piracicaba, Piracicaba, SP, 2006. Disponível em: https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0CCoQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.slideshare.net%2FCrisBotelho%2Fmicrorganismos-patognicos-em-alimentos&ei=y5aKU43GlabEsAS_3YHoBw&usg=AFQjCNHgZG2e6bMYrYADxLpakHHuincuow&bvm=bv.67720277,d.cWc. Acesso em: 21 abr. 2014.

WIRTH, F. **Infecção disseminada por *Rhodotorula* em um modelo experimental em ratos**. 2011. 140 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas)- Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/37499/000822531.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 28 abr. 2014.

WHITMAN, R. L.; NEVERS, M. B. Foreshore Sand as a Source of Escherichia coli in Nearshore Water of a Lake Michigan Beach. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, n. 9, p. 5555-5562, sept. 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC194947/pdf/0376.pdf>>. Acesso em: 19 jan. 2014.

WRIGHT, M.E. et al. Microbial load from animal feces at a recreational beach. **Marine Pollution Bulletin**, Philadelphia, v. 58, n. 11, p. 1649 – 1656, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2771205/pdf/nihms138348.pdf>>. Acesso em: 7 mai. 2014.

ANEXO

Tabela 1 – Índice de NMP e limites de confiança de 95%, quando são inoculadas porções de 10mL, 1mL e 0,1mL da amostra

Combinação de NMP/100ml positivos		Limites de Confiança 95%		Combinação de NMP/100mL positivos		Limites de Confiança 95%	
		Inferior	Superior			Inferior	Superior
0-0-0	< 1,8	-	6,8	4-0-3	25	9,8	70
0-0-1	1,8	0,090	6,8	4-1-0	17	6,0	40
0-1-0	1,8	0,090	6,9	4-1-1	21	6,8	42
0-1-1	3,6	0,70	10	4-1-2	26	9,8	70
0-2-0	3,7	0,70	10	4-1-3	31	10	70
0-2-1	5,5	1,8	15	4-2-0	22	6,8	50
0-3-0	5,6	1,8	15	4-2-1	26	9,8	70
1-0-0	2,0	0,10	10	4-2-2	32	10	70
1-0-1	4,0	0,70	10	4-2-3	38	14	100
1-0-2	6,0	1,8	15	4-3-0	27	9,9	70
1-1-0	4,0	0,71	12	4-3-1	33	10	70
1-1-1	6,1	1,8	15	4-3-2	39	14	100
1-1-2	8,1	3,4	22	4-4-0	34	14	100
1-2-0	6,1	1,8	15	4-4-1	40	14	100
1-2-1	8,2	3,4	22	4-4-2	47	15	120
1-3-0	8,3	3,4	22	4-5-0	41	14	100
1-3-1	10	3,5	22	4-5-1	48	15	120
1-4-0	10	3,5	22	5-0-0	23	6,8	70
2-0-0	4,5	0,79	15	5-0-1	31	10	70
2-0-1	6,8	1,8	15	5-0-2	43	14	100
2-0-2	9,1	3,4	22	5-0-3	58	22	150
2-1-0	6,8	1,8	17	5-1-0	33	10	100
2-1-1	9,2	3,4	22	5-1-1	46	14	120
2-1-2	12	4,1	26	5-1-2	63	22	150
2-2-0	9,3	3,4	22	5-1-3	84	34	220
2-2-1	12	4,1	26	5-2-0	49	15	150
2-2-2	14	5,9	36	5-2-1	70	22	170
2-3-0	12	4,1	26	5-2-2	94	34	230
2-3-1	14	5,9	36	5-2-3	120	36	250
2-4-0	15	5,9	36	5-2-4	150	58	400
3-0-0	7,8	2,1	22	5-3-0	79	22	220
3-0-1	11	3,5	23	5-3-1	110	34	250
3-0-2	13	5,6	35	5-3-2	140	52	400
3-1-0	11	3,5	26	5-3-3	170	70	400
3-1-1	14	5,6	36	5-3-4	210	70	400
3-1-2	17	6,0	36	5-4-0	130	36	400
3-2-0	14	5,7	36	5-4-1	170	58	400
3-2-1	17	6,8	40	5-4-2	220	70	440
3-2-2	20	6,8	40	5-4-3	280	100	710
3-3-0	17	6,8	40	5-4-4	350	100	710
3-3-1	21	6,8	40	5-4-5	430	150	1100
3-3-2	24	9,8	70	5-5-0	240	70	710
3-4-0	21	6,8	40	5-5-1	350	100	1100
3-4-1	24	9,8	70	5-5-2	540	150	1700
3-5-0	25	9,8	70	5-5-3	920	220	2600
4-0-0	13	4,1	35	5-5-4	1600	400	4600
4-0-1	17	5,9	36	5-5-5	> 1600	700	-
4-0-2	21	6,8	40	-	-	-	-