

Universidade Camilo Castelo Branco  
Campus de Fernandópolis

AMANDA NUNES TENÓRIO

DETECÇÃO DE BACTÉRIAS EM AREIA DE PRAIAS DO MUNICÍPIO  
DE CARAGUATATUBA - SP

DETECTION OF BACTERIA ON SANDY BEACHES OF  
CARAGUATATUBA CITY

Fernandópolis, SP

2015

Amanda Nunes Tenório

DETECÇÃO DE BACTÉRIAS EM AREIA DE PRAIAS DO MUNICÍPIO  
DE CARAGUATATUBA - SP

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Dora Inês Kozusny Andreani

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Camilo Castelo Branco, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Fernandópolis, SP

2015

## FICHA CATALOGRÁFICA

TENÓRIO, Amanda Nunes

T286D Detecção de Bactérias em Areia de Praias do Município de Caraguatatuba - SP / Amanda Nunes Tenório - São José dos Campos: SP / UNICASTELO, 2015.

50f. il.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Dora Inês Kozusny Andreani

Dissertação de Mestrado apresentada no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Camilo Castelo Branco, para complementação dos créditos para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

1. Coliforme. 2. *Pseudomonas aeruginosa*. 3. *Salmonella*. 4. Dermatofites.  
I. Título

**CDD: 574**

**TERMO DE APROVAÇÃO**

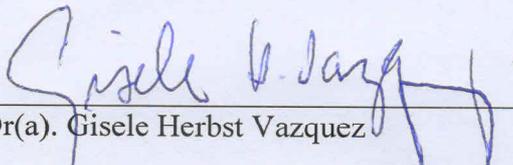
**AMANDA NUNES TENÓRIO**

**DETECÇÃO DE BACTÉRIAS PATOGÊNICAS EM AREIA DE PRAIAS DO  
MUNICÍPIO DE CARAGUATATUBA - SP**

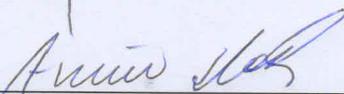
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Camilo Castelo Branco, pela seguinte banca examinadora:



Prof(a). Dr(a). Dora Inés Kozusny-Andreani (Presidente)



Prof(a). Dr(a). Gisele Herbst Vazquez



Prof(a). Dr(a). Anisio Storti

Fernandópolis, 25 de setembro de 2015.

Presidente da Banca Prof(a). Dr(a). Dora Inés Kozusny-Andreani

## DEDICATÓRIA

À Deus, por sempre me conceder sabedoria nas escolhas dos melhores caminhos, coragem para acreditar, força para não desistir e proteção para me amparar.

À minha mãe, pelo amor, inspiração, apoio, confiança e motivação incondicional. Que sempre me impulsiona em direção às vitórias dos meus desafios.

À minha família, Meu esposo Anderson Mesquita pelo amor, compreensão e paciência pela ausência em meus momentos de estudo.

Ao meu filho Dérick Mesquita que quando iniciei o Mestrado, nem andava, nem falava, mas um dia entenderá a importância de estudar.

Ao meu irmão, Dário Nunes pelo apoio e pelas palavras de incentivo e atitudes sábias durante todo o percurso deste árduo trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Durante esses anos só tenho a agradecer a todos que passaram pelo meu caminho e que com certeza deixaram um pouco de si. Os momentos de alegria serviram para me permitir acreditar na beleza da vida, e os de sofrimento, serviram para um crescimento pessoal único. É muito difícil transformar sentimentos em palavras, mas serei eternamente grata a vocês, pessoas imprescindíveis para a realização e conclusão deste trabalho.

Primeiramente agradeço a Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Dora Inês Kozusny Andreani, por acreditar que eu era capaz e pela orientação. Só tenho a agradecer aos seus ensinamentos (pessoais e acadêmicos), orientações, palavras de incentivo, paciência e dedicação. Você é uma pessoa ímpar, onde busco inspirações para me tornar melhor em tudo que faço e irei fazer daqui para frente. Tenho orgulho em dizer que um dia fui sua orientada.

A minha mãe querida, Joana Nunes Vieira que mesmo não tendo domínio sobre o meu trabalho sempre tentava dar suporte acadêmico, trazendo seus trabalhos como exemplo, mesmo em momentos de confraternização de família. A Unicastelo, Instituição responsável por contribuir para o meu crescimento acadêmico e científico.

A Prefeitura Municipal de Caraguatatuba, pelo auxílio da bolsa, suporte financeiro e por acreditar no potencial da turma que se formou.

Aos colegas de turma, que por vezes nos apoiamos e nos ajudamos na jornada de viagens e trabalhos.

Em especial ao colega de turma Luiz Alfredo de Paula pelo ouvido que escutou tantas lamentações, mas sempre companheiro disposto a ajudar, prestativo, Obrigada por nunca me negar ajuda.

# EPÍGRAFE

A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

“Quem tem um amigo, mesmo que um só, não importa onde se encontre, jamais sofrerá de solidão; poderá morrer de saudades, mas não estará só” Amir Klin

# DETECÇÃO DE BACTÉRIAS EM AREIAS DE PRAIAS DE CARAGUATATUBA/SP

## RESUMO

As praias consistem em uma das principais atividades de lazer dos habitantes das cidades litorâneas. Nesse sentido, torna-se explícita a necessidade de manter a qualidade sanitária das praias, bem como seu entorno. O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a presença de coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli* na areia das principais praias do Município de Caraguatatuba/SP e testar a resistência a drogas antimicrobianas. As contagens de coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli* foram realizadas pela técnica das diluições seriadas. Foram detectados coliformes totais e termotolerantes e *Escherichia coli*, na areia de todas as praias avaliadas do Município de Caraguatatuba/SP. Concentrações elevadas foram detectadas nas praias Porto Novo, Centro, Martins de Sá, Indaiá e Cocanha. As cepas de *E.coli* isoladas das praias de Porto Novo, Centro, Indaiá, Cocanha e Tabatinga apresentaram resistência e multirresistência a alguns antimicrobianos testados.

**Palavras Chaves:** Coliformes, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*,  
dermatófitos, contaminação.

# DETECTION OF PATHOGENIC BACTERIA ON SANDY BEACHES OF CARAGUATATUBA CITY

## ABSTRACT

On coast cities the beaches are the mainly recreation activity of its inhabitants. Due to it, the need of a sanitary quality at the beaches and its surroundings is essential. This paper had the objective to evaluate the presence of total coliforms, thermotolerant and *Escherichia coli* on beaches sands of Caraguatatuba/SP city, also testing its resistance to antimicrobial drugs. The count of the coliforms was realized by serial dilution technique. The mentioned coliforms were found in all evaluated city beaches. High concentrations were detected at Porto Novo, Centro, Martim de Sá, Indaiá e Cocanha beaches. The *E. coli* isolated strains found at Porto Novo, Centro, Indaiá, Cocanha and Tabatinga beaches presented resistance and multi resistance to some tested antimicrobials.

**Keywords:** Coliforms, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, contamination.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ponto de Coletas das areias das praias de Caraguatatuba- SP- Google Maps (adaptado) .....	17
Figura 2: Indicação do ponto de coleta na Praia Tabatinga (23°34'34.2"S 45°16'36.4"W).....	18
Figura 3: Indicação do ponto de coleta na Praia Cocanha.....	19
Figura 4: Indicação do ponto de coleta na Praia Martins .....	20
Figura 5: Indicação do ponto de coleta na Prainha.....	21
Figura 6: Indicação do ponto de coleta na Centro.....	22
Figura 7: Indicação do ponto de coleta na Centro.....	23
Figura 8: Indicação do ponto de coleta na Praia do Porto Novo .....	23
Figura 9: Sistema API20E.....	25

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Concentração de coliformes totais, coliformes termotolerantes e <i>Escherichia coli</i> em areia de praias do município de Caraguatuba – SP.....	27
Tabela 2: Presença de <i>Salmonella spp</i> e concentração <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em areia de praias do município de Caraguatuba – SP.....	29
Tabela 3: Susceptibilidade (S), susceptibilidade intermediária (I), resistência (R) e índice de resistência múltipla (IRMA) a diferentes classes de antimicrobianos de cepas de <i>Escherichia coli</i> , isoladas de areia de praias do município de Caraguatatuba /SP. ....	31
Tabela 4: Susceptibilidade (S), susceptibilidade intermediária (I), resistência (R) e índice de resistência múltipla (IRMA) a diferentes classes de antimicrobianos de cepas de <i>Escherichia coli</i> , isoladas de areia de praias do município de Caraguatatuba /SP. ....	32
Tabela 5: Susceptibilidade (S), susceptibilidade intermediária (I), resistência (R) e índice de resistência múltipla (IRMA) a diferentes classes de antimicrobianos de cepas de <i>Salmonella sp</i> , isoladas de areia de praias do município de Caraguatatuba/SP.....	33

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- 1- CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo.
- 2- CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute
- 3 - CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente.
- 4 - EC- Caldo Encubado
- 5- EMB - Eosina-Azul de metileno.
- 6- FIB - Bactérias Indicadoras de Contaminação Fecal.
- 7- HIV- Vírus da Imunodeficiência Humana.
- 8- SMAC – Secretaria Municipal de Meio Ambiente.
- 9- FIB - Bactérias Indicadoras de Contaminação Fecal.
- 10 -IRMA - Índice de Resistência Múltipla aos Antimicrobianos.
- 11- Nacl – Cloreto de Sódio.
- 12- NMP – Número mais provável.
- 13- rpm – Rotações por minuto.
- 14- UFC - Unidade Formadora de Colônia.
- 15- UV – Ultra Violeta.
- 16- VB – Verde Brilhante.

## **SUMÁRIO**

1 INTRODUÇÃO .....	7
1.1 Objetivos gerais .....	8
1.2 Objetivos específicos .....	8
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	10
2.1 Características dos Micro-organismos contaminantes de areias .....	10
2.1.1 Coliformes totais coliformes termotolerantes .....	10
2.1.2 Escherichia coli .....	11
2.1.3 Salmonella .....	11
2.1.4 Pseudomonas aeruginosa .....	12
2.2 Fungos Patogênicos .....	12
2.3 Potenciais de riscos à saúde humana.....	14
2.4 Legislação Brasileira sobre áreas de Recreação .....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	17
3.1 Caracterização da área de Estudo.....	17
3.2 Descrição dos Locais de Estudo .....	18
3.2.1 Praia da Tabatinga.....	18
3.2.2 Praia da Cocanha .....	19
3.2.3 Praia Martins de Sá .....	19
3.2.4 Prainha .....	20
3.2.5 Praia do Centro .....	21
3.2.6 Praia do Indaiá.....	22
3.2.7 Praia do Porto Novo.....	23
3.3 Procedimentos de coleta de areia.....	24
3.4 Análises microbiológicas.....	24
3.4.1. Cultura Microbiológica .....	24
3.4.2 Avaliação da multirresistência bacteriana aos antibióticos.....	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	27
4.1 Contaminação bacteriana da areia .....	27
4.2. Resistência bacteriana aos antibióticos .....	30
5 CONCLUSÕES .....	34
REFERÊNCIAS .....	35
ANEXO I – Solicitação para autorização de pesquisa. ....	43

## 1 INTRODUÇÃO

A qualidade ambiental das praias tem adquirido uma importância crescente por razões ambientais e de saúde pública. Atualmente os indicadores de qualidade disponíveis que geralmente permitem uma avaliação por parte da população quanto às condições de banho são os índices de coliformes fecais na água. As areias são, no entanto, uma possível fonte de contágio de micro-organismos patogênicos.

A presença de patógenos, tanto na areia, quanto na água, consiste em uma ameaça à saúde da população e banhistas que podem estar sujeitos a doenças causadas por vírus, bactérias e fungos (VELONAKIS *et al.*, 2014). Nos últimos anos foi verificado um aumento dos casos de micoses e infecções bacterianas contraídas por pessoas que frequentam as praias e utilizam suas areias como local de recreação. Isso tem ocasionado maiores preocupações com a contaminação microbiana (PINTO e OLIVEIRA, 2011).

A balneabilidade das praias está relacionada geralmente à qualidade microbiológica da água. No entanto, a preocupação com a contaminação da areia da praia tem aumentado nos últimos anos devido à disposição inadequada de lixo, resíduos animais, esgotos domésticos sem tratamento e poluição que são levados pela água da chuva (VALDEZ e GROSELLI, 2012; ANDRAUS *et al.*, 2014).

Há evidências de que bactérias patogênicas sobrevivem em areias, pois estas recebem poluentes de diferentes fontes. Além disso, fatores abióticos favoráveis, tais como temperatura, umidade, pH, matéria orgânica, entre outros, indicam um fenômeno de bioacumulação (ABDALLA *et al.*, 2005; ELMANAMA *et al.*, 2005). A qualidade sanitária da água de balneários é avaliada pela presença de bactérias cultiváveis indicadoras de contaminação fecal. As águas podem ser influenciadas por populações persistentes destas bactérias em areias ou esgotos locais, além de entradas variadas de origem fecal humana ou animal (HALLIDAY *et al.*, 2014).

A detecção e a quantificação de indicadores em areias recreacionais são de grande importância para verificar o risco da presença de micro-organismos patogênicos nesse ambiente. As agências reguladoras encarregadas de monitorar águas recreacionais utilizam como base bactérias indicadoras de contaminação fecal (FIB), tais como *Escherichia coli* e *Enterococos* porque estudos epidemiológicos demonstraram que concentrações de FIB em águas de recreio

impactadas por efluentes de estações de tratamento (ou seja, fontes pontuais de esgoto sanitário) foram correlacionados com doenças adquiridas em áreas de recreação (SHIBATA, SOLO-GABRIELE, 2012).

Segundo a CETESB (2008), são definidos como micro-organismos do grupo coliforme capazes de fermentar a lactose a 44-45°C, sendo representados principalmente por *Escherichia coli* e, também por algumas bactérias dos gêneros *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter*. Dentre esses micro-organismos, somente a *E. coli* é de origem exclusivamente fecal, estando sempre presente, em densidades elevadas nas fezes de humanos, mamíferos e pássaros, sendo raramente encontrada na água ou solo que não tenham recebido contaminação fecal. Os demais podem ocorrer em águas com altos teores de matéria orgânica, como por exemplo, efluentes industriais, ou em material vegetal e solo em processo de decomposição.

Haja vista que o número de coliformes termotolerantes presentes nas fezes do homem e animais de sangue quente, sua presença na areia da praia, constitui um caso de saúde pública, necessitando assim de estudos aprofundados (CARDOSO-DE-OLIVEIRA e PINHATA, 2008).

Diferentes fatores contribuem para que diferentes micro-organismos se estabeleçam na areia de praias. A contaminação por fungos pode ocorrer devido presença de animais como cães, pombos entre outros, os quais, associados ao lixo despejado, fazem desse local um propício para o desenvolvimento destes micro-organismos. Como as pessoas, nas praias, mantêm um contato estreito com a areia; pelo tanto, se tornam fontes de contaminação da mesma juntamente com a água e os animais que dividem o mesmo espaço. O homem e os animais transmitem à areia micro-organismos potencialmente patogênicos de que são portadores. (EFSTRATIOU *et ali.*, 2001).

### **1.1 Objetivos gerais**

Avaliar a contaminação por bactérias de areias das praias do Município de Caraguatatuba - SP.

### **1.2 Objetivos específicos**

- Determinar e quantificar coliformes totais, coliformes termotolerantes, *E.coli*, *Salmonella* e *Pseudomonas aeruginosa* em amostras de areias das praias;
- Avaliar as bactérias isoladas quanto à resistência e susceptibilidade a antimicrobianos;
- Determinar o IRMA.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Características dos Micro-organismos contaminantes de areias

#### 2.1.1 Coliformes totais coliformes termotolerantes

O grupo de bactérias determinado como coliformes totais habitam o intestino de animais mamíferos inclusive o homem. As bactérias do grupo coliforme são consideradas os principais indicadores de contaminação fecal. O grupo coliforme é formado por um número de bactérias que inclui vários gêneros denominadas, em conjunto de Enterobactérias. Todas as bactérias coliformes são gram-negativas, bacilares, não esporuladas que estão associadas com as fezes de animais de sangue quente e com o solo (MENEZES; SILVA; NEUFELD, 2006).

As bactérias coliformes fecais reproduzem-se ativamente a 44,5°C e são capazes de fermentar o açúcar. O uso da bactéria coliforme fecal para indicar poluição sanitária mostra-se mais significativo que o uso da bactéria coliforme "total", porque as bactérias consideradas fecais estão restritas ao trato intestinal de animais e de sangue quente. A determinação da concentração dos coliformes assume importância como parâmetro indicador da possibilidade da existência de micro-organismos patogênicos, responsáveis pela transmissão de doenças de veiculação hídrica, tais como febre tifóide, febre paratifóide, desintéria bacilar e cólera (TORTORA et al., 2012).

Os coliformes termotolerantes, incluem o gênero *Escherichia coli* e *Klebsiella* (MAIER et al., 2000), e, conforme APHA (2006) é um grupo constituído por bacilos gram –negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase - negativos, capazes de crescer na presença de sais biliares e que possuem a enzima  $\beta$ - galactosidade. Fermentam a lactose com produção de ácido e gás à temperatura 44°- 45°C em 24 horas e, segundo ALPHA (2005) a *Escherichia Coli* é predominante deste grupo.

### 2.1.2 *Escherichia coli*

A espécie bacteriana *Escherichia coli* pertencente a família Enterobacteriaceae, pode ser identificada e enumerada rapidamente em placas de isolamento ou em caldo, por diversas técnicas baseadas em substratos enzimáticos cromogênicos e fluorogênicos (TORTORA, FUNKE, CASE; 2012).

Essa espécie cresce em meio complexo a 44°- 45° C fermentam lactose e manitol com produção de ácido e gás, produzindo indol a partir do aminoácido triptofano. São abundantes em fezes humanas e de animais, sendo somente encontradas em esgotos, efluentes, águas naturais e solos que tenham recebido contaminação fecal recente, CONAMA (2000).

A *E.coli*, segundo Levison e Jawetz (2005), é um bastonete gram-negativo que fermenta a lactose, produzindo ácido, gás e indol na presença de triptofano. São anaeróbicas facultativas e exercem inúmeros papéis benéficos ao organismo, mas essa bactéria é capaz de provocar um amplo espectro de infecção, variando de meningite a infecções entéricas e as amostras patogênicas são determinadas de acordo com seus mecanismos de virulência. (FOCACIA, 2005; JAWETZ, 2005; TRABULSI, ALTERTHUM, 2008; TORTORA, FUNKE, CASE, 2012).

Em relação ao tratamento de doenças causadas por *E.coli*, Trabulsi e Alterthum (2008) recomendam o uso de sulfametoxazol + trimetoprima, ciprofloxacina, fluoroquinolonas ou ofloxacina no tratamento de doenças urogenitais causadas por *E. coli*. Contudo, Menezes et al. (2006) relataram resistência da bactéria *E. Coli* pelo antibiótico ciprofloxacina e Oliveira e Nogueira (2011) relataram resistência a fluorquinolonas.

### 2.1.3 *Salmonella*

A *Salmonella sp* é um micro-organismo gram-negativo que pode ser encontrado nos vegetais, água, areia, solo, fezes, entre outros, porém essa bactéria é comprovadamente patogênica e persiste por tempo inferior nesses substratos, quando comparada aos componentes dos coliformes totais (GUPTA et al., 2011).

As bactérias do gênero *Salmonella* apresentam a forma de pequenos bastonetes gram-negativos, que não formam esporos. Esses micro-organismos são indistinguíveis das *E. coli* sob o microscópio ou mesmo em ágar nutriente. Elas são

amplamente distribuídas na natureza e têm o homem como um de seus principais reservatórios. Doenças alimentares e de veiculação hídrica que têm a *Salmonella* como seu agente etiológico, resultam da ingestão de alimentos ou água contendo um número significativo de determinadas linhagens do gênero (JAY, 2005; Silva et al, 2011).

#### **2.1.4 Pseudomonas aeruginosa**

As bactérias do gênero *Pseudomonas* são bastonetes gram-negativos, com grande mobilidade, aeróbios não fermentadores. Do ponto de vista médico, o gênero mais importante é a *Pseudomonas aeruginosa*. Esta espécie comumente habita o solo, água e vegetais e faz parte da microbiota normal do ser humano, podendo ser encontrada na pele, garganta e nas fezes de indivíduos saudáveis. Pode ser considerada oportunista, uma vez que causa doença em indivíduos imunocomprometidos (MURRAY et al., 2000, BROOKS, 2012).

A *P. aeruginosa* é uma bactéria ubíqua, que pode fazer parte da microbiota humana, sendo raras as infecções causadas por essa bactéria em pessoas saudáveis. No entanto, essa bactéria torna-se um agente infeccioso considerável, quando são consideradas as infecções hospitalares, principalmente em indivíduos com baixa resistência ou imunodeprimidos (FOXMAN, 2002; SOUZA et al., 2006). Devido às mutações e seleções naturais relacionadas ao uso excessivo de antibióticos, algumas cepas de *P. aeruginosa* tornaram-se resistentes a estes, convertendo-se em grande ameaça aos pacientes hospitalizados (SANTOS; XAVIER, 2002; TORTORA et al., 2012).

## **2.2 Fungos Patogênicos**

Em humanos, as infecções fúngicas não costumam evoluir para quadros mais sérios de complicação. Entretanto, quando se trata de alguém com a imunidade comprometida, como portadores do vírus HIV, diabéticos, transplantados, etc., podem ser devastadores e, inclusive, provocar a morte em curto espaço de tempo (WANKE, LAZÉRA, NUCCI, 2000; FARIA et al., 2004)

Muitos fungos vivem, de forma harmoniosa, no corpo dos seres humanos e animais. Entretanto, situações que propiciam sua superpopulação podem provocar problemas. A candidíase, as dermatofitoses, entre outras, são micoses, resultado da proliferação demasiada destes organismos na pele (HAGE, GOLDMAN, WHEAT, 2002; DE ROSSI et al., 2011). Em alguns casos, os mesmos agentes de infecções cutâneas, ou outras espécies, podem colonizar regiões diferenciadas, como o aparelho respiratório, sistema nervoso, genital e gastrointestinal. Para agravar o quadro, algumas liberam toxinas: as chamadas micotoxinas piorando ainda o quadro.

Candidíase ou candidose é uma micose causada por leveduras do gênero *Candida*, em que a lesão pode ser branda, aguda ou crônica, superficial ou profunda, e de espectro clínico bem variável. Embora o principal agente das candidíases seja a *C. albicans*, outros agentes também são destacados frequentemente na literatura, a saber, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae*, *C. viswanathii*, *C. famata*, dentre outras. (CHAVES; CAVACANTI; PORTO, 2003).

A *Candida albicans* é a espécie do gênero *Candida* com maior conhecimento quanto a sua patogenia, devido à diversidade de fatores de virulência descobertos. A origem habitual das infecções por *C. albicans* é a microbiota do trato digestivo humano, onde esse micro-organismo vive como comensal, porém diversos casos têm sido relatados de forma horizontal. Uma vez que esta levedura faz parte da microbiota humana, ela é considerada uma micose oportunista (BARBEDO et al., 2010).

As dermatofitoses são infecções causadas por dermatófitos, fungos que invadem apenas os tecidos queratinizados da pele ou de seus anexos (extrato córneo, unhas e pelos) e sua transmissão pode ser por meio de um indivíduo para outro de objetos contaminados (GARCIA; MOSER, 2007; PURIM; FREITAS; LEITE, 2009).

Entre as micoses cutâneas, as onicomicoses são infecções fúngicas mais frequentes que acometem as unhas, responsáveis por 15 a 40% das doenças ungueais. São consideradas as micoses mais difíceis de diagnosticar e tratar, pois o tratamento é lento, causa inúmeros efeitos colaterais, além de um alto custo para o paciente (CARVALHO, 2010; ZANARDI, 2008). Sendo uma infecção que

pode acarretar danos à saúde, principalmente dos idosos e não é apenas um problema estético (ARAUJO, et al., 2003).

As onicomicoses são consideradas patologias de regiões tropicais, devido ao clima quente e úmido. As unhas dos pés são as mais afetadas, porque o ambiente úmido, escuro e aquecido, encontrado dentro dos calçados, favorece o crescimento desse tipo de micro-organismo, que tem como principal fonte de nutrientes a queratina (MARTINS, 2007; ZANARDI et al.'2008).

O tratamento de doenças fúngicas é mais demorado que o de uma infecção bacteriana, e as chances de reincidir também são maiores. Assim, evitar situações que propiciam a proliferação de tais organismos, como calor e umidade excessivos, são algumas medidas para evitar tais ocorrências. O tratamento das onicomicoses é realizado com a associação de medicamentos tópicos e sistêmicos. No entanto, o tratamento de onicomicoses resulta em insucesso, porque deve ser mantido durante um longo tempo, o custo das medicações se torna alto podendo provocar efeitos colaterais, e requer da persistência do paciente e cuidados de higiene (SILVA; DOIMO; FARIA, 2011).

### **2.3 Potenciais de riscos à saúde humana**

Existe crescente preocupação dos órgãos ambientais e da sociedade com a significativa contaminação das areias das praias, pelo descarte inadequado de lixo, dejetos de animais ou poluição trazida pelas marés, que podem carregar bactérias, fungos e parasitas patogênicos (Boukai, 2005).

De acordo com o estudo realizado pela Companhia Estadual de Tecnologia e Saneamento Básico (CETESB) de São Paulo, SP, Brasil, publicado por Sato (2005), existe forte correlação entre a presença dos patógenos *Escherichia coli* e *Enterococos* associada a gastroenterite em nadadores; os gêneros *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* foram também associados como responsáveis por doenças em banhistas, principalmente os que apresentam baixa imunidade.

É possível ressaltar que são poucos os estudos sobre o potencial de risco a saúde associado com exposição a areia de praia, causando doenças. Isto se deve, principalmente, a dificuldade da associação entre a ocorrência dos patógenos em seus limites permitidos, com a obtenção de dados precisos sobre o

aparecimento da doença na população, que, muitas vezes, não relata a correlação com a possibilidade de ter contraído o agente na praia, pois, geralmente há desconhecimento do risco associado devido á inexistência de monitoramento periódico nestes locais (REGO, 2010).

#### **2.4 Legislação Brasileira sobre áreas de Recreação**

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2000) recomendou aos órgãos ambientais a avaliação da qualidade parasitológica e microbiológica da areia para futuras padronizações, por meio da Resolução no. 274/00 no oitavo artigo, que classifica as águas em doces, salobras e salinas destinadas a balneabilidade. Por aquela ocasião, a Secretaria Municipal de Meio Ambiente (SMAC) editou a Resolução no. 081/00, (BRASIL 1986) contudo, esta tinha caráter provisório de dois anos e tratava apenas das condições bacteriológicas, não estabelecendo a análise para fungos e parasitas, assim como não estabelecia indicadores e os respectivos limites para estes micro-organismos, os quais também são importantes patógenos de praias. Uma vez que muitas doenças de pele, infecções da unha, couro cabeludo, alergias respiratórias e outros comprometimentos orgânicos estão associados a micoses e doenças parasitárias pelo contato com areia contaminada, com maior risco para crianças e idosos (REGO, 2010).

A qualidade ambiental das praias tem adquirido importância crescente por razões ambientais e de saúde pública. A qualidade sanitária das praias era, durante muito tempo, apenas monitorada pela densidade de coliforme fecal presente em suas águas, apesar de a matriz areia ser uma possível fonte de contágio de microrganismos patogênicos (MAIER et al., 2003).

De acordo com Mancini et al. (2005), após o processo de análise de fungos e bactérias em areia e água de praia da Itália por membrana filtrante, expressando seus resultados em unidade formadora de colônia (UFC) por 100 gramas e por 100 mL, respectivamente, encontraram um maior percentual de bactérias em areia, assim como fungos filamentosos dos gêneros *Penicillium*, que foi encontrado em (15%), seguidos por *Aspergillus* encontrado em (12%). Os autores associaram essa ocorrência ao fenômeno de bioacumulação de matéria orgânica, que serve de fonte de carbono, nitrogênio e sais minerais para

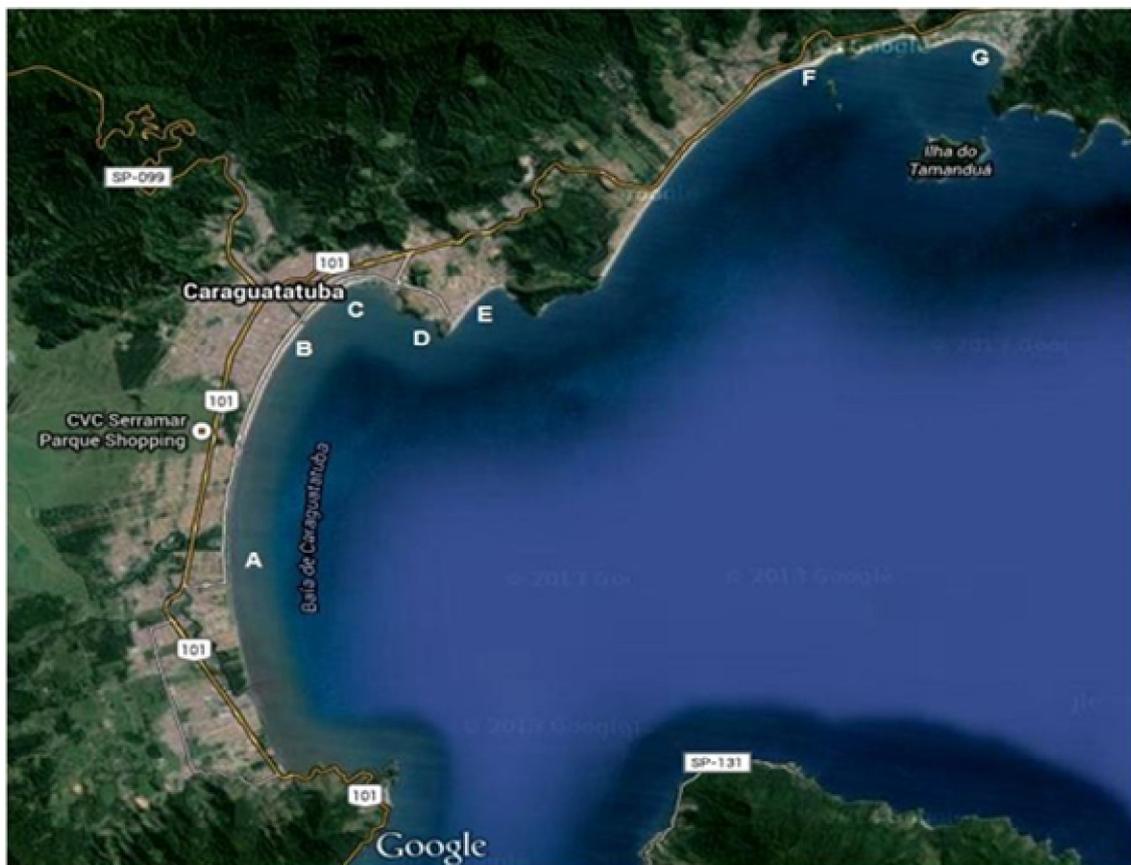
proliferação dos micro-organismos, fazendo com que a areia seja geralmente mais contaminada do que a água.

Embora não estabeleça nenhum parâmetro de avaliação das areias de praias, a Resolução CONAMA nº274/2000 expressa preocupação em relação á qualidade dessas areias. Em seu artigo 8º recomenda aos órgãos ambientais a avaliação das condições parasitológicas e microbiológicas da areia inclusive para servir de base para futuras instalações.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Caracterização da área de Estudo

A área de estudo compreendeu o município de Caraguatatuba – SP, com latitude  $23^{\circ} 37' 13''\text{S}$  e longitude  $45^{\circ}24' 47''\text{W}$ . Localizado no litoral norte do estado de São Paulo. Pertence à Mesorregião do Vale do Paraíba Paulista e Microrregião de Caraguatatuba. A cidade ocupa uma área de 485,097 km<sup>2</sup>. Em 2014 sua estimativa populacional foi de 111 524 habitantes, resultando em uma densidade demográfica de 229,9 hab/Km<sup>2</sup>. Foram selecionadas sete praias consideradas de alta afluência de público e preferidas por turistas a coleta foi realizada no mês de abril. As praias foram identificadas por letras, (Figura 1), **A**: praia do Porto Novo, **B**: praia do Indaiá, **C**: praia do Centro, **D**: Prainha, **E**: praia Martim de Sá, **F**: praia da Cocanha, **G**: praia da Tabatinga.



**Figura 1:** Ponto de Coletas das areias das praias de Caraguatatuba- SP.

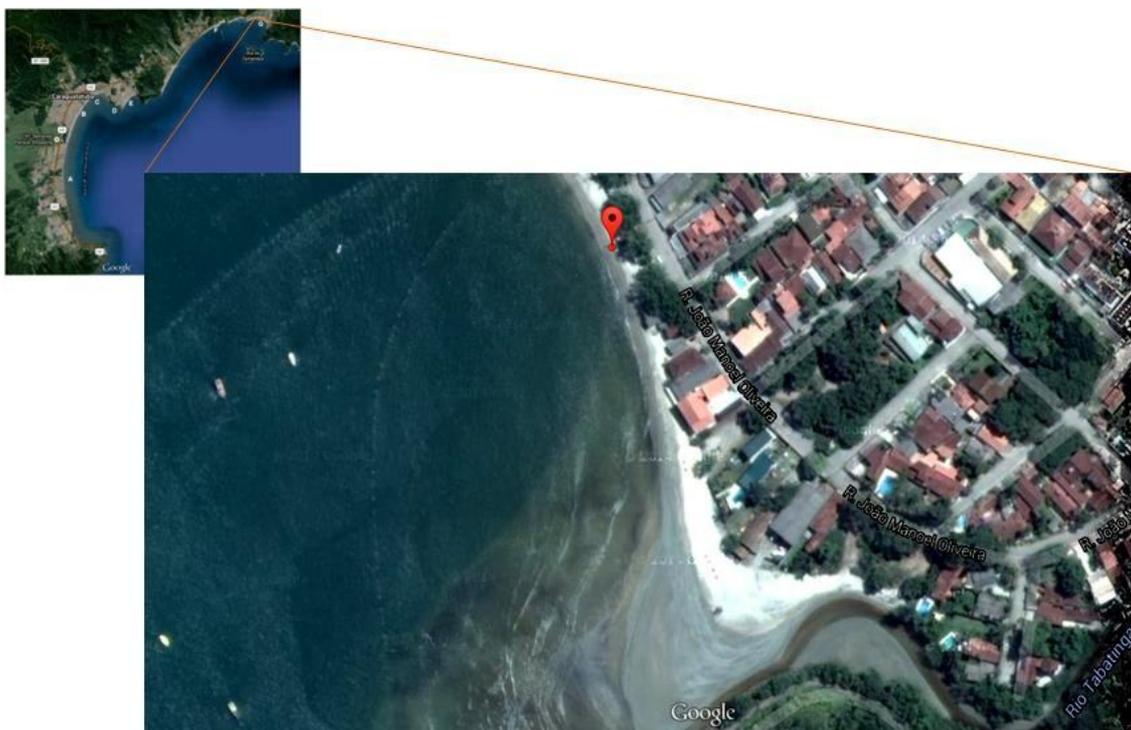
Fonte: Google Maps (adaptado)

### 3.2 Descrição dos Locais de Estudo

As Praias foram escolhidas pela preferência de turistas e moradores locais, sendo as mais frequentadas, levando em consideração as extremidades da orla e as divisas de Município, sendo que a praia de Tabatinga faz divisa com o município de Ubatuba e a Praia do Porto Novo com o município de São Sebastião. Os pontos de coleta foram determinados pelo maior fluxo de pessoas do dia.

#### 3.2.1 Praia da Tabatinga

Praia da Tabatinga é uma praia localizada a 18 km do centro de Caraguatatuba (Figura 2), faz divisa com o município de Ubatuba e tem 500 m de extensão. A praia quase não tem ondas e é cercada de lanchas, iates e jet skis. Existe até uma linha, formada por pequenas bóias, a uma distância de aproximadamente 15 metros da praia, responsável por dividir a área destinada aos banhistas e após esta linha é o local por onde circulam os veículos aquáticos.



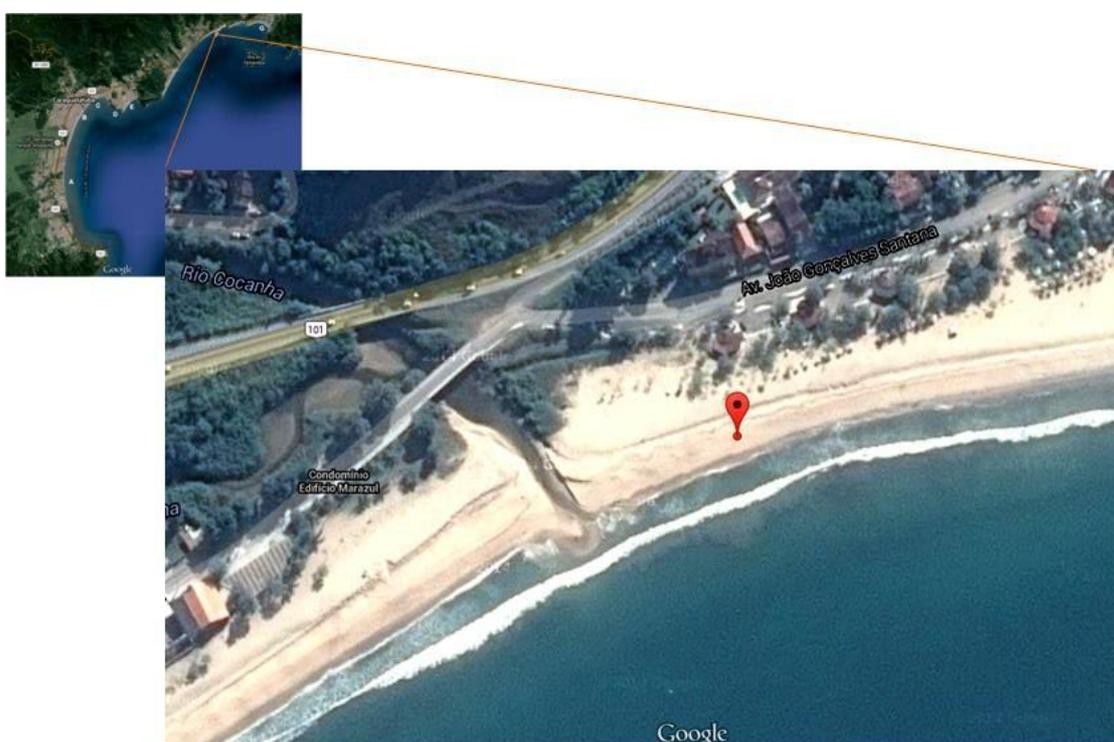
**Figura 1:** Indicação do ponto de coleta na Praia Tabatinga (23°34'34.2"S 45°16'36.4"W).

Fonte: google maps 2015 (adaptado)

### 3.2.2 Praia da Cocanha

A Praia da Cocanha fica localizada a 12 km do centro de Caraguatatuba (Figura 3), com 1 km de extensão. Em frente a praia, avista-se um ilhote, bastante frequentado para prática de mergulho e observação da vida marinha.

O local também é conhecido pela tradicional travessia de nadadores da chamada de Prova Natatória Ilha da Cocanha, que tem 1.200 metros de extensão e reúne nadadores de várias partes do país. Nesta praia está localizado a maior fazenda de mexilhões do estado de São Paulo, produzindo cerca de 8 mil toneladas por ano.



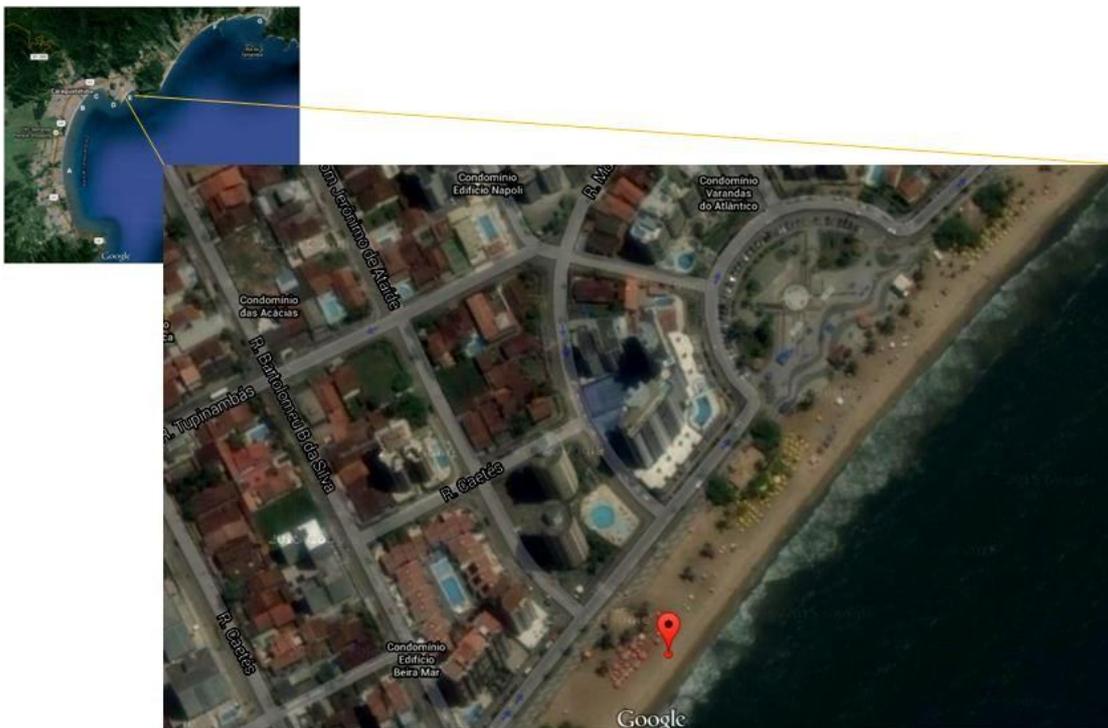
**Figura 2:** Indicação do ponto de coleta na Praia Cocanha.

Fonte: google maps 2015 (adaptado)

### 3.2.3 Praia Martins de Sá

Com uma extensão de 1,5 km a praia de Martim de Sá (Figura 4) possui uma das melhores estruturas da região com quiosques e barracas. Seu mar é agitado com ondas boas para surf na parte sul e mais calmo e raso na parte norte, próximo a rio Guaxinduva.

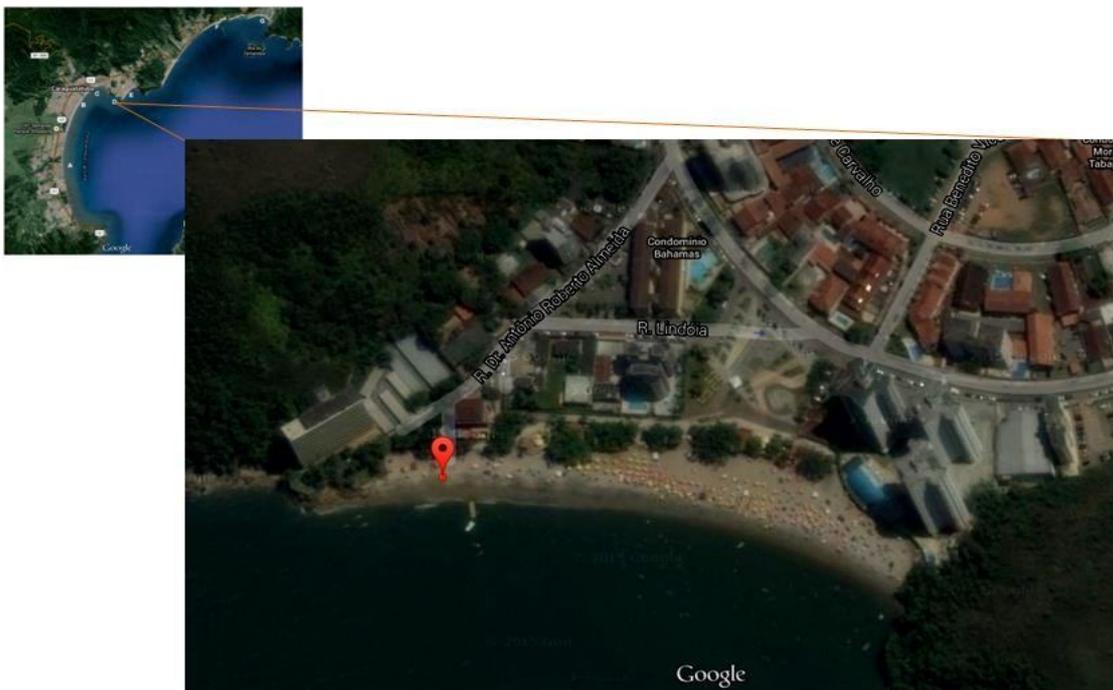
A praia apresenta uma larga faixa de areia clara e fofa. A região é formada por um bairro bastante urbanizado com muitos prédios, residências e um variado comércio.



**Figura 3:** Indicação do ponto de coleta na Praia Martins  
Fonte: google maps 2015 (adaptado).

### 3.2.4 Prainha

É uma praia pequena localizada na região central da cidade, com 250m de extensão e urbanizada. Considerada pequena, porém é uma das praias com maior infraestrutura da cidade. Esta praia está situada entre a praia Martins de Sá e a da Freira.

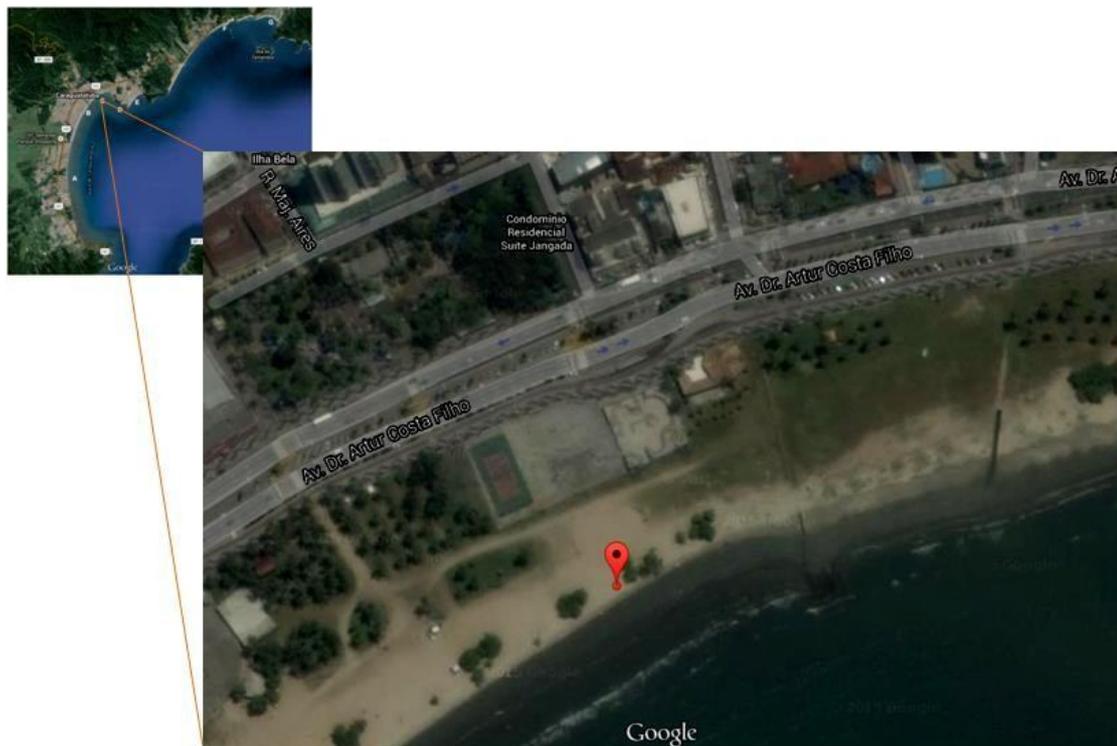


**Figura 4:** Indicação do ponto de coleta na Prainha.

Fonte: google maps 2015 (adaptado)

### 3.2.5 Praia do Centro

É a praia central de Caraguatatuba (Figura 6), onde se concentra a área mais movimentada da cidade. Neste local está situado o parque de diversões, a praça de eventos, uma pista oficial de skate e o centro de diversões aquáticas onde ocorrem os grandes shows e comemorações.

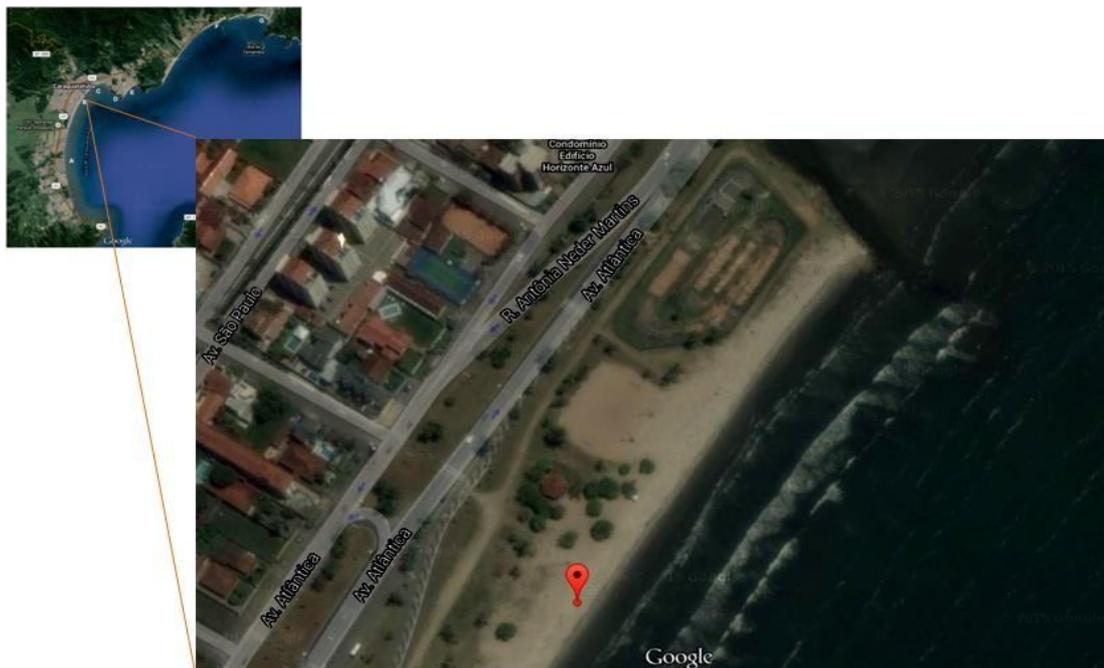


**Figura 5:** Indicação do ponto de coleta no Centro.

Fonte: google maps 2015 (adaptado)

### 3.2.6 Praia do Indaiá

A Praia do Indaiá (Figura 7) tem o seu início no rio Santo Antônio que a separa da Praia do Centro local este onde está situado a Pista Oficial de Bicicross e a Pista de Pouso para Ultraleves. Possui uma orla com uma larga avenida, uma ciclovia e é costeada por diversas residências e alguns prédios.

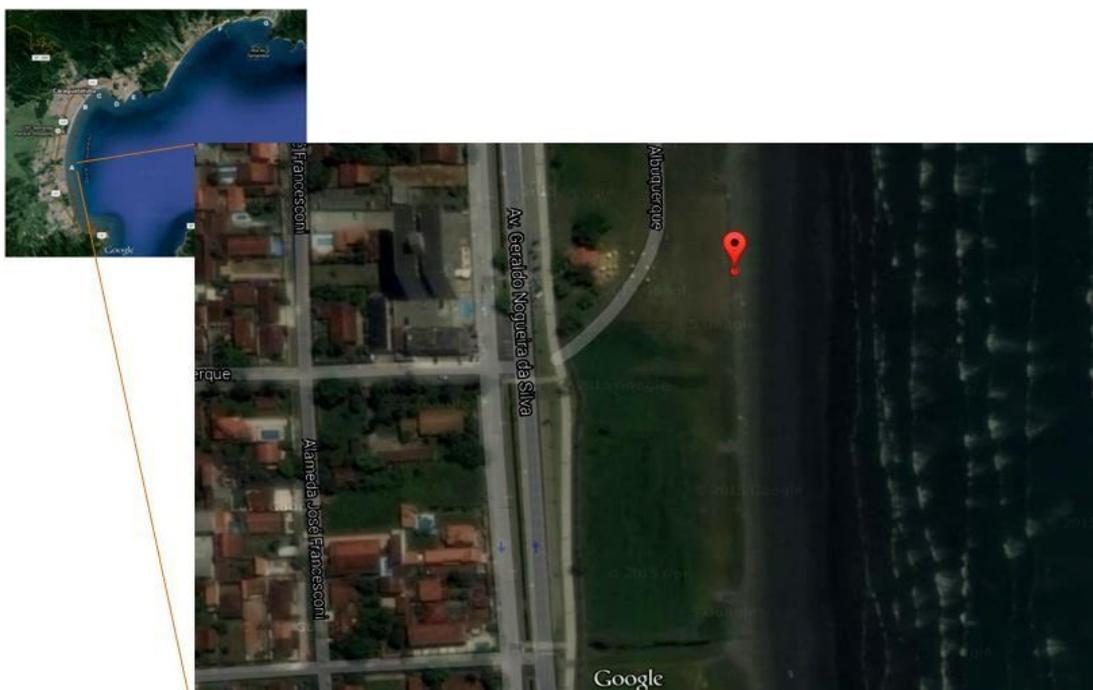


**Figura 7:** Indicação do ponto de coleta no Centro.

Fonte: google maps 2015 (adaptado)

### 3.2.7 Praia do Porto Novo

A Praia do Porto Novo (Figura 8) faz divisa com a cidade de São Sebastião e no seu canto direito desemboca o rio Juqueriquerê.



**Figura 6:** Indicação do ponto de coleta na Praia do Porto Novo

Fonte: google maps 2015 (adaptado).

### 3.3 Procedimentos de coleta de areia

Em cada praia foram coletadas três amostras de lugares diferentes na mesma direção, cada praia com 3 pontos de coleta, sendo que a 1° amostra era mais próximo à água, na mesma direção a 2° amostra era intermediária entre a água e o fim da faixa de areia e a 3° amostra bem próximo ao fim da faixa de areia. Todas as amostras foram coletadas no mesmo dia em um intervalo de tempo entre a primeira coleta da 1° praia coletada entre as 08h e a última praia as 10h30m, no total foram coletadas 21 amostras. A amostragem foi realizada em abril de 2015, sendo assim considerado uma época de baixa temporada e cada amostra consistiu em 200 g de areia superficial recolhida a uma profundidade máxima de 5 cm, usando uma espátula esterilizada, em cada amostragem. O material foi transferido para recipientes estéreis e transportado para o laboratório em caixa isotérmica provida de gelo.

### 3.4 Análises microbiológicas

#### 3.4.1. Cultura Microbiológica

As análises microbiológicas foram realizadas pelos métodos baseados na técnica de diluições seriadas (Eaton e Franson, 2005). As amostras de areia foram preparadas adicionando-se 10g de areia em 90 ml de solução salina estéril (NaCl 0,85%), contida em frascos estéreis com tampa, na sequência foram agitados por 30 minutos em mesa orbital (200 rpm). O sobrenadante foi coletado para ser utilizado como a solução inicial, a partir da qual foram realizadas diluições seriadas.

Para determinação de coliformes totais, alíquotas de 1 mL das diluições seriadas de  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$ , foram inoculadas nos meios de cultura Caldo Lactosado e *Esherichia coli* (EC) contendo um tubo de Durhan invertido, usando-se séries de 3 tubos para cada diluição, incubados por 24-48h a 37°C e obtidos os resultados a partir de cada conjunto de tubos da mesma diluição. Os tubos positivos para caldo lactosado foram inoculados em Caldo Lactose Bile, Verde Brilhante (VB) para detecção de coliformes totais e incubados à 37°C.

Para análise de coliformes termotolerantes foi usado Caldo EC incubados à 45°C por 24-48 horas. De cada tubo de Caldo EC positivo, foi retirada uma alçada

do meio e estriada em placas contendo Ágar MacConkey Sorbitol e ágar Eosina-Azul de metileno (EMB), incubadas à 37°C por 24-48 horas, para verificar o crescimento de colônias típicas de *Escherichia coli*.

Para pesquisa de *Salmonella* alíquotas de 0,1 mL das diluições seriadas de  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$ , foram inoculadas nos meios de cultivo Caldo Rappaport os quais foram incubados a 35,5°C por 24 horas. Os tubos positivos provenientes do Caldo Rappaport foram semeados em placas contendo meio Ágar *Salmonella-Shigella*. As placas semeadas foram incubadas em estufa a 35,5°C durante 24 horas para posterior leitura dos resultados (Nascimento et al., 2000).

Para o cultivo *Pseudomonas aeruginosa* alíquotas de 0,1 mL das diluições seriadas de  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$ , foram inoculadas em meio cetrimide e as placas semeadas foram incubadas em estufa a 35,5°C durante 24 horas.

Os micro-organismos isolados foram contados e os resultados expressos em unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de areia.

A identificação dos micro-organismos foi realizada por meio de testes bioquímicos do sistema API20E (Analytical Profile Index, BioMérieux) para identificação de enterobactérias (Figura 9).



**Figura 7:** Sistema API20E.

Fonte: <http://www.biomerieux-industry.com/food/api-id32-microbial-identification>

### 3.4.2 Avaliação da multirresistência bacteriana aos antibióticos

Para avaliação da susceptibilidade antimicrobiana *in vitro*, se utilizou o método de Kirby Bauer Modificado (CLSI, 2013), e foram avaliados os antimicrobianos Amicacina (30µg), Ampicilina (10µg), Aztreonam (15µg); Cefaclor (30µg), Cefazolina (30µg), Cefalexina (30µg), Cefalotina (30µg), Cefotaxime (30µg), Cefepime (30µg), Cefotaxime (30µg); ,Cefotaxime (30µg); Ceftazidima (30µg), Ceftriaxona (30µg), Ciprofloxacina (5µg), Clindamicina (2µg),loranfencol (30µg e Tetraciclina (30µg). Os resultados foram interpretados de acordo aos parâmetros estabelecidos pela CLSI (2013).

O índice de resistência múltipla aos antimicrobianos (IRMA) foi calculado conforme a metodologia descrita por Krumperman (1983). O IRMA foi calculado pela razão entre o número de antibióticos aos quais o isolado foi resistente e o número de antibióticos ao qual o isolado foi exposto. Quando o IRMA é superior a 0,2 caracteriza multirresistência.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Contaminação bacteriana da areia

Na tabela 1 estão apresentados os resultados obtidos do cultivo de areia de sete principais praias do município de Caraguatatuba/SP. Constatou-se que das 21 amostras e locais amostrados, somente dois não apresentaram contaminação por coliformes, duas amostras da Prainha. Diferentes fatores como efeitos das marés, descarga de esgoto sanitário, mudança de estação do ano, presença de animais e o número de banhistas têm sido apontados como contribuintes para a sobrevivência e dispersão de micro-organismos patogênicos em areia de praia.

A sobrevivência de bactérias entéricas na superfície de areia seca pode ser de curta duração devido à ação do meio ambiente. Já a areia úmida enriquecida com matéria orgânica confere ao ambiente condições favoráveis, permitindo um período de sobrevivência maior do que em água do mar (WHO,2003). Noble *et al.* (2004) e Beversdorf *et al.* (2007) afirmam que fatores como a umidade, temperatura, raios uv e a concentração de carbono orgânico dissolvido são alguns dos fatores que afetam a viabilidade de micro-organismos na areia.

**Tabela 1:** Concentração de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em areia de praias do município de Caraguatatuba – SP.

Praias	Nº de Locais amostrados	Amostras Positivas (%)	Concentração de coliformes (UFC 100g <sup>-1</sup> )		
			Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes	E.coli
Prainha	3	33,33	1,2x10 <sup>2</sup>	0,5x10 <sup>2</sup>	0,5x10 <sup>1</sup>
Porto Novo	3	100	1,6x10 <sup>5</sup>	1,0x10 <sup>3</sup>	0,2x10 <sup>3</sup>
Martins de Sá	3	100	2,0x10 <sup>3</sup>	0,4x10 <sup>4</sup>	1,0x10 <sup>3</sup>
Centro	3	100	0,5x10 <sup>5</sup>	0,8x10 <sup>3</sup>	0,5x10 <sup>2</sup>
Indaiá	3	100	1,4x10 <sup>5</sup>	0,5x10 <sup>4</sup>	0,5x10 <sup>3</sup>
Cocanha	3	100	1,6x10 <sup>4</sup>	1,0x10 <sup>4</sup>	0,2x10 <sup>2</sup>
Tabatinga	3	100	1,7x10 <sup>2</sup>	0,5x10 <sup>2</sup>	0,2x10 <sup>2</sup>

Constatou-se presença de coliformes termotolerantes com confirmação de *Escherichia coli* (Tabela 1). *E. coli* é uma bactéria que tem sido amplamente utilizada como indicador de contaminação de origem fecal. O habitat natural e principal reservatório de *E. coli* é o trato intestinal do homem e outros animais homeotérmicos, sendo, portanto, abundante em esgotos, efluentes, água naturais e

solos que tenham recebido contaminação fecal recente. Sua presença indica a possibilidade da existência de outros micro-organismos, entre estes, aqueles patogênicos ao homem (ABDALLAH *et al.*, 2005, SATO *et al.*, 2005, VALDEZ, GROSELLI, 2012; ANDRAUS *et al.*, 2014).

Stewart *et al.*, (2008) afirmam que além das fontes pontuais de contaminação devem ser consideradas as fontes difusas, que são disseminadas e dificilmente reconhecíveis. A carga microbiana de fontes difusas é grande, encontradas no escoamento da área urbana e áreas rurais, vazamentos de sistemas de limpeza biológicos e sistemas de drenagem, as descargas a partir de barcos e deposição atmosférica de aerossóis.

A concentração de coliformes totais e termotolerantes e de *E.coli* na areia das diferentes praias foi variável, sendo maior nas praias Porto Novo, Centro, Martins de Sá, Indaiá e Cocanha. No entanto não existem normativas que estabelecem índices máximos destes micro-organismos na areia. Os parâmetros estabelecidos nas resoluções CONAMA 20/86 (índice máximo para coliformes totais 5000 NMP 100 mL) e resolução Conama 274/00 (índices máximos para coliformes termotolerantes 1000 NMP/100 mL) para a água (Brasil, 2000), havendo ausência de parâmetros específicos para a areia. Ao considerar os valores determinados nas resoluções constatou-se pelos resultados obtidos neste trabalho que os índices estão elevados de coliformes na areia das praias de Caraguatatuba.

Nas praias Porto Novo, Centro e Cocanha foram isoladas cepas de *Salmonella sp* (Tabela 2). Constatou-se presença desta bactéria nos três pontos de amostragem, enquanto que nas praias Porto Novo (66,66%) e Cocanha (33,33%) as amostras positivas corresponderam a areia próxima a água. As bactérias do gênero *Salmonella* constituem-se em um dos principais agentes etiológicos de doenças veiculadas por alimentos e água, tanto no Brasil, como em diversas partes do mundo, uma vez que esta bactéria é amplamente distribuída na natureza, podendo ser encontrada no solo, na água, nos animais e em humanos (GARCIA; DUARTE, 2014; SILVA *et al.*, 2010).

**Tabela 2:** Presença de *Salmonella spp* e concentração *Pseudomonas aeruginosa* em areia de praias do município de Caraguatuba – SP.

Praias	<i>Salmonella sp</i>	Amostras positivas (%)	<i>P. aeruginosa</i> * (UFC 100g <sup>-1</sup> )	Amostras positivas (%)
Prainha	Ausência	0,0	Ausência	0,0
Porto Novo	<b>Presença</b>	<b>66,66</b>	<b>0,9x10<sup>2</sup></b>	<b>66,66</b>
Martins de Sá	Ausência	0,0	0,8x10 <sup>2</sup>	100
Centro	<b>Presença</b>	<b>100</b>	<b>1,0x10<sup>1</sup></b>	<b>100</b>
Indaiá	Ausência	0,0	0,5x10 <sup>2</sup>	100
Cocanha	<b>Presença</b>	<b>33,33</b>	<b>1,5x10<sup>1</sup></b>	<b>33,33</b>
Tabatinga	Ausência	0,0	1,5x10 <sup>2</sup>	33,33

\* *Pseudomonas aeruginosa*

Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* foram isoladas em seis praias, exceto na Prainha (Tabela 2). Constatou-se presença desta espécie bacteriana nos três pontos de amostragem das praias Martins de Sá, Centro e Indaiá, enquanto que nas praias Porto Novo (66,66%), Cocanha e Tabatinga (33,33%) os isolamentos corresponderam aos pontos de amostragens mais próximos a água. As bactérias do gênero *Pseudomonas* são amplamente encontradas no solo e na água, o homem pode tornar-se hospedeiro da espécie *Pseudomonas aeruginosa*, que se caracteriza como um micro-organismo invasivo e toxigênico (BROOKS, et al., 2012). As *Pseudomonas* são bactérias extremamente versáteis do ponto de vista metabólico e nutricional, uma vez que podem utilizar uma imensa variedade de compostos orgânicos como fonte de carbono e energia, sendo frequentemente encontrados na água e nos alimentos (SILVA et al, 2010).

*P. aeruginosa* é um patógeno causador de infecções hospitalares, tendo sido observado que os vegetais ingeridos sem cozimento podem atuar como veículos primários para a introdução deste agente patogênico ao paciente (PRESTES, 2007). Uma vez introduzida no paciente, a bactéria pode se fixar nas mucosas, invadindo-a localmente, podendo levar a doença sistêmica (BROOKS et al., 2012 TORTORA, FUNKE, CASE, 2012).

As condições que favorecem a persistência, a sobrevivência e possível crescimento de bactérias na areia incluem o aumento da proteção contra luz solar, temperaturas favoráveis, maior disponibilidade de nutrientes, redução do estresse osmótico, cobrir de predação por outros micro-organismos, uma grande superfície área para o desenvolvimento de biofilme, e maior umidade e conteúdo orgânico

provenientes das ondas marinhas (ISHII et al., 2007; BONILLA et al., 2007, YAMAHARA, WALTERS, BOEHM, 2009). Em relação aos micro-organismos, existe uma ordem de persistência na areia das praias, que segue a sequência de maior a menor: *Campylobacter* > *Salmonella* > colifagos somáticos > enterococos > *E. coli* > *F. fagos*. Em contraste, agentes patogênicos decaem mais rapidamente do que os indicadores fecais: enterococos > Bacteroidales > *Salmonella* > *Campylobacter* (YAMAHARA, WALTERS, BOEHM, 2009).

As fontes para os altos níveis de poluição microbiana fecal na areia de praia não são claras. Alguns estudos atribuem como fonte de poluição fecal as descargas das estações de tratamento de esgoto municipal e que estão em estreita proximidade com as praias. Contudo, outros estudos afirmam que as fontes de poluição fecal podem ser o escoamento urbano e / ou de animais domésticos e selvagens sangue quente (ALM, BURKE, SPAIN, 2003; ELMANAMA et al., 2005; BONILLA et al., 2007).

#### **4.2. Resistência bacteriana aos antibióticos**

Na tabela 3 estão apresentados os resultados de resistência e susceptibilidade à antimicrobianos de cepas de *E.coli* isoladas na areia. Verificou-se multirresistência aos antimicrobianos nas cepas de isoladas *E.coli* nas praias Porto Novo, Centro, Indaiá, Cocanha e Tabatinga. Cepas de *Escherichia coli* diarreiogênicas podem causar infecções entéricas em humanos e incluem seis categorias diferentes de acordo com fatores de virulência. A exposição humana à água contaminada constitui um importante mecanismo para a transmissão de patógenos gastrointestinais (OLIVEIRA et al., 2012).

**Tabela 3:** Susceptibilidade (S), susceptibilidade intermediária (I), resistência (R) e índice de resistência múltipla (IRMA) a diferentes classes de antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli*, isoladas de areia de praias do município de Caraguatatuba /SP.

Amostras	A M I	A T M	A M P	C F C	C F Z	C F L	C F L X	C F O	C F O Z	C A P M	C R O	C I P	C L I	C L I	E R I	T E T	IRMA
<b>Prainha</b>	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	I	I	S	S	S	R	0,18
<b>Porto Novo</b>	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	I	S	R	0,25
<b>Martins de Sá</b>	S	S	S	S	R	S	I	S	R	S	S	S	I	I	S	R	0,18
<b>Centro</b>	R	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	0,25
<b>Indaiá</b>	S	S	S	S	R	S	I	R	I	S	S	S	R	R	R	R	0,37
<b>Cocanha</b>	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	0,37
<b>Tabatinga</b>	S	S	S	R	S	R	R	S	S	I	I	S	S	S	S	R	0,25

AMI=amicacina, ATM= aztreonam, AMP+ ampicilina, CFC= Cefaclor, CFZ= Cefazolina, CFL= cefalotina, CTX= cefotaxime, CFO= ceftaxime, CAZ= ceftazidima, CPM= cefepime, CRO= ceftriaxona, CIP= ciprofloxacina, CLI= clindamicina, ERI= eritromicina, TET= tetraciclina.

Inúmeros fatores podem ser envolvidos para o surgimento de cepas resistentes no ambiente, tais como saneamento insuficiente, uso indiscriminado de antibióticos e falta de sistemas de esgotos bem geridos (Ozgumus *et al.*, 2008). Coliformes termotolerantes resistentes aos antibióticos canamicina, ácido nalidíxico, tetraciclina e trimetoprim têm sido isoladas de duas amostras de fezes de seres humanos e água potável tratada na Índia (Pathak e Gopal, 2008). *E. coli* com altos níveis de resistência à ampicilina, trimetoprim / sulfamethoxazole, gentamicina e tetraciclina foram isolados de fontes de água potável na Jordânia (Shehabi *et al.*, 2006). Na presente pesquisa foram isoladas cepas de *E.coli* multirresistentes a diferentes antibióticos como apresentados na Tabela 2 (SHEHABI, ODEH; FAYYAD 2008).

Velonakis *et al.*, (2014), salientam a necessidade de estudos epidemiológicos em praias com poluição e correlacionar com as bactérias indicadoras fecais (FIB). A ausência das FIB nem sempre exclui a presença de outros micro-organismos patogênicos em amostras de água do mar. No entanto, há possibilidade de alguns desses micro-organismos provocarem infecções para usuários da praia e a real extensão da sua ameaça à saúde pública permanece desconhecida

Por outro lado, a sobrevivência de alguns destes micro-organismos na areia, tais como *E. coli*, enterococos e fungos, independentemente da presença de uma fonte de poluentes, bem como a capacidade de suas células para proliferar, causam dúvidas a respeito da sua utilização como FIB (Sato *et al.*, 2005, VALDEZ e GROSELLI, 2012; Andraus *et al.*, 2014). Assim, novos indicadores microbianos poderiam ser adotados no futuro para melhorar a identificação e monitoramento da contaminação das areias. Entre outras características, esses indicadores não devem ser capazes de se multiplicar no ambiente natural, eles deveriam ser encontrados em pequenas concentrações em ambientes intactos e em concentrações elevadas nas águas residuais.

As cepas de *Salmonella* isoladas em amostras de areia das praias Centro e Cocanha apresentaram multirresistência aos antibióticos (IRMA, de 0,43 e 0,37, tabela 4), enquanto que as isoladas na praia Porto Novo foram resistentes a amicacina (AMC), a ampicilina (AMP) e a cefalotina (CFL). A ampla resistência a antibióticos em cepas *Salmonella* está relacionada com o uso crescente de antimicrobianos utilizados no tratamento das doenças causadas por esta bactéria (PETKOV; COLLINS-EMERSON; 2010).

**Tabela 4:** Susceptibilidade (S), susceptibilidade intermediária (I), resistência (R) e índice de resistência múltipla (IRMA) a diferentes classes de antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli*, isoladas de areia de praias do município de Caraguatatuba /SP.

Amostras	A M I	A T M	A M P	C F C	C F Z	C F L	C T X	C F O	C A Z	C P M	C R O	C I P	C L I	C E R	E R I	T E T	IRMA
Porto Novo	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0,18
Centro	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	S	S	R	S	S	0,43
Cocanha	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	0,37

AMI=amicacina, ATM= astreonam, AMP+ ampicilina, CFC= cefaclor, CFZ= Cefazolina, CFL= cefalotina, CTX= cefotaxime, CFO= cefotaxima, CAZ= ceftazidima, CPM= cefepime, CRO= cefriaxona, CIP= ciprofloxacina, CLI= clindamicina, ERI= eritromicina, TET= tetraciclina.

Estudos realizados por Weir et al (2008) evidenciaram que tratamentos sub inibitórios com tetraciclina podiam ser associados com o aparecimento de multirresistência em *S. typhimurium* DT104. Helms (2002), relatou que foi observada uma relação entre infecção por *S. typhimurium* resistentes a ampicilina, cloranfenicol, estreptomicina, sulfonamida e tetraciclina e o índice de mortalidade

em humanos, gerando assim um problema a saúde pública. No presente trabalho a presença de *Salmonella* multirresistente em areia de praias é uma questão preocupante, pois a praia do Centro, pelo fácil acesso, é uma área altamente frequentada pela população local e os turistas.

Na tabela 5 estão apresentados os resultados de resistência aos antibióticos das cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. Constatou-se multirresistência em todas as cepas, sendo que o menor IRMA correspondeu ao isolado da praia Tabatinga (0,37) e o maior ao isolado da praia Tabatinga. Esta espécie bacteriana é extremamente resistente a muitos antimicrobianos e, conseqüentemente, torna-se predominante quando bactérias mais sensíveis da microbiota normal são suprimidas (GUPTA, 2011; RATJEN, 2010).

**Tabela 5:** Susceptibilidade (S), susceptibilidade intermediária (I), resistência (R) e índice de resistência múltipla (IRMA) a diferentes classes de antimicrobianos de cepas de *Salmonella sp.*, isoladas de areia de praias do município de Caraguatatuba/SP.

AMOSTRAS	A	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	E	T	IRMA
	M	T	M	F	F	F	F	F	A	P	R	I	L	L	R	E	
	I	M	P	C	Z	L	X	O	Z	M	O	P	I	O	I	T	
Porto Novo	R	R	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	I	S	R	0,43
Martins de Sá	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	S	R	0,75
Centro	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	0,75
Indaiá	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	0,43
Cocanha	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	0,93
Tabatinga	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	0,37

AMI=amicacina, ATM= aztreonam, AMP+ ampicilina, CFC= cefaclor, CFZ= Cefazolina, CFL= cefalotina, CTX= cefotaxime, CFO= cefoxitina, CAZ= ceftazidima, CPM= cefepime, CRO= ceftriaxona, CIP= ciprofloxacina, CLI= clindamicina, ERI= eritromicina, TET= tetraciclina.

O presente estudo demonstra a necessidade de programas de monitoramento para areias de praias visto que os resultados apontam para uma má qualidade. Além disso, informações quantitativas sobre a concentração de patógenos no ambiente permitem uma reflexão para o caso de saúde pública, sendo um ponto de partida para determinar ações que possam amenizar ou sanar os problemas apontados.

## 5 CONCLUSÕES

Foram detectados coliformes totais e termotolerantes e *Escherichia coli* na areia de todas as praias avaliadas do Município de Caraguatatuba/SP. Concentrações elevadas foram detectadas nas praias Porto Novo, Centro, Martins de Sá, Indaiá e Cocanha.

Foi detectada presença de *Salmonella* na areia das praias Porto Novo, Centro e Cocanha. Nas praias Porto Novo, Cocanha, Centro, Indaiá, Martins de Sá e Tabatinga foram isoladas cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

As cepas de *E.coli*, *Salmonella* e *P. aeruginosa*, na sua maioria apresentaram multirresistência aos antibióticos.

## REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, S. A.; ELMANAMA, A. A.; FAHD, M. I.; AFIFI, S. Microbiological Beach Sand Quality in the Gaza Strip in Comparison to Seawater. **Polish Journal of Environmental Studies**, v.14, n.6, p.841-850, 2005.
- ALM EW, BURKE J, SPAIN A. Fecal indicator bacteria are abundant in wet sand at freshwater beaches. *Water Research*, v-37, n-16, p:3978–3982, 2003.
- BARBEDO, L.S.; SGARBI, D.B.G. Candidíase. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**. v- 22, n-1, p:22-38, 2010.
- 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** v.102, p.1372-1381, 2007.
- BONILLA, T.D., NOWOSIELSKI, K., CUVELIER, M., 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**. V-54, n-9, p.1472–1482, 2007.
- BRASIL. Resolução CONAMA n.20, de 18 de junho de 1986. Estabelece a Resolução CONAMA n. 003, de 5 de julho de 1984. Diário **Oficial da União**, Brasília, DF, 30 jul. 1986.
- BROOKS, G.F. et al. **Microbiologia Médica** de Jawetz, Melnick e Adelberg. 25ª ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda, 2012. 251p.
- CARDOSO-DE-OLIVEIRA, A.J.F.; PINHATA, J.M.W. Antimicrobial resistance and species composition of *Enterococcus* spp. isolated from waters and sands of marine recreational beaches in Southeastern Brazil. **Water Research**, v. 42: p. 2242–2250, 2008.

CETESB. Coliformes Termotolerantes. 2008. Disponível em:  
<[http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/agua/aguassuperficiais/aguasinteriores/variaveis/aguas/variaveis\\_microbiologicas/coliformes\\_termotolerantes.pdf](http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/agua/aguassuperficiais/aguasinteriores/variaveis/aguas/variaveis_microbiologicas/coliformes_termotolerantes.pdf)>.  
Acesso em 19/05/2015.

CONAMA. Resoluções - Ministério do Meio Ambiente/2000. Disponível em:  
<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res00/res27400.html>. Acesso em:  
20/05/2015.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Publication M100-S23 Suggested Grouping of US-FDA Approved Antimicrobial Agents That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Non fastidious Organisms by Clinical Laboratories, 2013.

DE ROSSI, T.; MARCELL ALYSSON BATISTI LOZOVYOY, M.A.B.; SILVA, R.S.; FERNANDES, E.V.; GERALDINO, T.H.; COSTA, I.C.; SARIDAKIS, H.O; WATANABE, M.A.E.; FELIPE, I. Interações entre *Candida albicans* e Hospedeiro. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 32, n. 1, p. 15-28, 2011. DOI: 10.5433/1679-0367.2011v32n1p15.

EATON, A.D.; FRANSON, M. A. H. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21<sup>nd</sup> ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005, 1200p

ELMANAMA, A. A., FAHD, M. I., AFIFI, S., ABDALLAH, S., BAHR, S. Microbiological beach sand quality in Gaza Strip in comparison to seawater quality. **Environmental Research**, v.99, n.1, p.1-10, 2005.

EFSTRATIOU, M. A. Managing coastal bathing water quality: the contribution of microbiology and epidemiology. **Marine Pollution Bulletin**. v: 42, n:6, p:425:432, 2001.

FARIA, E.C., PESSOA JÚNIOR, V.P., DE-MARIA-MOREIRA, N.L., AMORIM, D.S., GOMES, A.P., CAPONE, D. Como diagnosticar e tratar micoses pulmonares. **Revista Brasileira de Medicina**; v:61, n:8, p:511-528; 2004.

FOCACCIA, R. V. **Tratado de Infectologia**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2005. p. 984-989.

FOXMAN B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. **American Journal of Medical**, v: 113(Suppl 1A):5S-13, 2002.

GARCIA, D. P.; DUARTE, D.A. Epidemiological profile outbreaks of foodborne illness occurred in Brazil. REAS, **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, 2014. V.6 (1), p. 545-554. Disponível em:  
[http://acervosaud.dominiotemporario.com/doc/artigo\\_040.pdf](http://acervosaud.dominiotemporario.com/doc/artigo_040.pdf).

GUPTA, N., LIMBAGO, B.M., PATEL, J.B., KALLEN, A.J. Carbapenem- resistant *Enterobacteriaceae*: epidemiology and prevention. *Clinical Infectious Diseases*. v:53, n:1, p:60-67, 2011. doi: 10.1093/cid/cir202.

HAGE, C. A.; GOLDMAN, M.; WHEAT, L. J. Mucosal and invasive fungal infections in HIV/AIDS. **European Journal of Medical Research**, v. 7, n. 5, p. 236–241, 2002.

HALLIDAY, E., MCLELLAN, S.L.; AMARAL-ZETTLER, L.A.; MITCHELL L. Comparison of bacterial communities in sands and water at beaches with bacterial water quality violations. **Plos One**, v.9, n. 3, p., 2014.

HELMS, M.; VASTRUP, P.; GERNER-SMIDT, P. MOLBACK, K. Excess mortality associated with antimicrobial drug-resistant *Salmonella* Typhimurium. **Emerging Infectious Diseases** 8, 490-495, 2002. Disponível em [http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/8/5/01-0267\\_article.htm](http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/8/5/01-0267_article.htm).

ISHII, S., HANSEN, D.L., HICKS, R.E. et al. Beach sand and sediments are temporal sinks and sources of *Escherichia coli* in Lake Superior. *Environmental of Science and Technology*.v;41, n:7, p:2203–2209. 2007.

JAWETZ, E. **Microbiologia Médica**. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 2005, 753p. JAY, J. **Microbiologia de Alimentos**. 6ª Ed. Porto Alegre. ArtMed, 2005.

KINZELMAN, J., MCLELLAN, S.L., DANIELS, A.D., et al. Non-point source pollution: determination of replication versus persistence of *Escherichia coli* in surface water and sediments with correlation of levels to readily measurable environmental parameters. **Journal of Water and Health**.v;2, n:2, p:103–114, 2004.

KRUMPERMAN; P.H. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. **Applied Environmental Microbiology**, v. 46, p.165-170, 1983.

MARTINS, E.A.; GUERRER L.V.; CUNHA K.C. et al. Onicomiose: estudo clínico, epidemiológico e micológico no município de São José do Rio Preto. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v: 40, n:5, p:596-598, 2007.

MENEZES, E.; SILVA, C.H.P.; NEUFELD, P.M. **Candidíase**. In: Bacteriologia e Micologia para o laboratório clínico. 8 rd ed. São Paulo: Ed. Revinter, 2006. p. 387-390.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; KOBAYASHI, G. S. et al. **Microbiologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, 207 p.

NASCIMENTO MS, BERCHIERI JRA, BARBOSA MD, ZANCAN FT, ALMEIDA WAF. Comparação de meios de enriquecimento e de plaqueamento utilizados na pesquisa de *Salmonella* em carcaças de frango e fezes de aves. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v: 2, p: 85-91, 2000.

NOBLE, R.T., LEE, I.M., SHIFF, K.C. Inactivation of indicator microorganisms from various sources of faecal contamination in seawater and freshwater. **Journal of Applied Microbiology**, v.96, n.3, p.464-472, 2004.

OLIVEIRA, F.A.; NOGUEIRA, K.S. Resistência a Fluoroquinolonas em *Escherichia coli* isoladas em cultura de urina. **Revista Brasileira de Análises. Clínicas**, v:43, n:2 p:152-154, 2011.

OLIVEIRA, K.W.; GOMES, F.C.O.; BENKO, G.; PIMENTA, R.S.; MAGALHÃES, P.P.; MENDES, E.N.; MORAIS, P.B. Antimicrobial resistance profiles of diarrheagenic *Escherichia coli* strains isolated from bathing waters of the Lajeado reservoir in Tocantins, Brazil. **Revista Ambiente & Água**, v. 7, n.2, p.30-41, 2012.

OZGUMUS, O. B.; CELIK-SEVIM, E.; ALPAY-KARAOGLU, S.; SANDALLI, C.; SEVIM, A. Molecular characterization of antibiotic resistant *Escherichia coli* strains isolated from tap and spring waters in a coastal region in Turkey. **Journal of Microbiology**, v. 45, n. 5, p.379-387, 2007.

PATHAK, S. P.; GOPAL, K. Prevalence of bacterial contamination with antibiotic-resistant and enterotoxigenic fecal coliforms in treated drinking water. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, Philadelphia, v. 71, n. 7, p. 427-433, 2008. <http://dx.doi.org/10.1080/15287390701838796>

PINTO A.B; OLIVEIRA A.J.F.C. **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, 2011.

PETKOV, D.; COLLINS-EMERSON, J.; FRENCH, N. Characterisation of *Salmonella*. MAF (Ministry of Agriculture and Forestry) Technical Paper No: 2011/67.

Disponível em

<http://www.biosecurity.govt.nz/files/publications/technicalpapers/characterisation-of-salmonella.pdf>.

PRESTES, E. B. **Avaliação da eficiência do ozônio como sanitizante em hortaliças minimamente processadas**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2007. 135p. Disponível em [http://www.fea.unicamp.br/alimentarium/ver\\_documento.php?did=367](http://www.fea.unicamp.br/alimentarium/ver_documento.php?did=367)

RATJEN, F. et al. Treatment of early *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with cystic fibrosis: **the ELITE trial**. *Thorax*; v. 65, p.286-291. Disponível em <http://thorax.bmj.com/content/65/4/286.full.pdf+html>.

REGO, J. C. V; **Qualidade Sanitária de Água e Areia de Praias da Baía de Guanabara**, *Ambiência - Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais*, 2010.

SANTOS, F.L.; SANTOS, B.I.A.M.L.; XAVIER, D.E. Determinação da produção de metalo- $\beta$ -lactamases em amostras de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v:38, n:4, p:291-6, 2002.

SATO, M.I.Z., BARI, M.D., LAMPARELLI, C.C., TRUZZI, A.C., COELHO, M.C.L.S., HACHICH, E.M. Sanitary quality of sands from marine recreational beaches of São Paulo. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.36, n.4, p.321-326, 2005

SHEHABI, A. A.; ODEH, J. F.; FAYYAD, M. Characterization of antimicrobial resistance and class 1 integrons found in *Escherichia coli* isolates from human stools and drinking water sources in Jordan. **Journal of Chemotherapy**, Florence, v. 18, n. 5, p.468-472, 2006.

SHIBATA, T. SOLO-GABIELE, H.M. Quantitative Microbial Risk Assessment of Human Illness from Exposure to Marine Beach Sand. **Environmental Science & Technology**, v.46, p. 2799–2805, 2012.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4ª ed. São Paulo: Varela, 2010. 624p.

SILVA, J.L.M.; DOIMO, G.; FARIA D.P. Uso de ondas de alta frequência no tratamento de onicomicose-comunicação preliminar de três casos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v: 86, n:3, p:598-600, 2011.

STEWART, J.R, GAST, R.J., FUJIOKA, R.S., SOLO-GABRIELE, H.M., MESCHKE, J.S., AMARAL-ZETTLER, L.A. The coastal environment and human health: microbial indicators, pathogens, sentinels and reservoirs. **Environmental Health**; v.7 (Supple 2): S3, 2008.

SOUZA, L.; BARRETO, S.; SANTANA, W.J; COUTINHO, H. D. M.; TRINDADE, K.M.; PINHEIRO, P. R.E. Fatores de virulência da *Pseudomonas aeruginosa* / Virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica*, v:4, n:1, p:6-10, 2006.

TORTORA, G J. FUNKE, B.R. CASE, C.L. **Microbiologia**. Porto Alegre: ArtMed, 2012, 894p.

TRABULSI, L.R; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu, 2008,760p.

VALDEZ, R. H.; GROSBELLI, P. P. **Análise microbiológica de areias de praças públicas da cidade de Palmas (PR)**. *Ambiência - Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais*, 2012.

VASCONCELLOS, F.C.; IGANCI, J.R.V.; RIBEIRO, G.A. Qualidade microbiológica da água do Rio São Lourenço, São Lourenço do Sul, Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico.**, v.73, n.2, p.177-181, 2006.

VELONAKIS, E.; DIMITRIADI, D; PAPADOGIANNAKIS, E.; VATOPOULOS, A. Present status of effect of microorganisms from sand beach on public health. **Journal of Coastal Life Medicine**, v. 2, n.9, p. 746-756, 2014.

WANKE B, LAZÉRA MS, NUCCI M. Fungal infections in the immunocompromised host. *Memorias Instituto Oswaldo Cruz.*; v: 95(Suppl.1), p:153-158, 2000.

WEIR, E.K.; MARTIN, L. C.; POPPE, C.; COOMBES, B.K.;BOERLIN, P. Subinhibitory concentrations of tetracycline affect virulence gene expression in a multi-resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium DT104. **Microbes and Infection** 10, 901-907, 2008. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1286457908001408>.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Regional Office for Europe. Development of WHO Guidelines for Safe Recreational Water Environments. WHO,2003. Disponível em: <http://www.euro.who.int/document/e58484.pdf>.  
Acesso em 5/3/2015.

YAMAHARA KM, WALTERS SP, BOEHM AB. Growth of enterococci in unaltered, unseeded beach sands subjected to tidal wetting. **Applied of Environmental Microbiology**.v.75, n.6, p.1517–1524, 2009.

ZANARDI, D.; NUNES, D.H.; PACHECO, A.D.S. et al. Avaliação dos métodos diagnósticos para onicomicose. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 83(2):119-24, 2008.

**ANEXO I – Solicitação para autorização de pesquisa.****Solicitação para autorização de Pesquisa de Mestrado**

Eu Amanda Nunes Tenório, RG: 42.422.271-7, funcionária da Prefeitura Municipal de Caraguatatuba, no cargo de PEB II Ed Física, matrícula 17.027, bolsista de Mestrado em Ciências Ambientais pela Secretaria Municipal de Educação na instituição de Ensino Unicastelo. Venho por meio desta, solicitar a autorização da Secretaria de Turismo e (ou) Meio Ambiente a executar a Pesquisa de campo, os dados obtidos serão utilizados na redação da Dissertação de Mestrado em Ciências Ambientais orientado pela professora Dra. Dora Inês Kozusny-Andreani. Assim a pesquisa acontecerá nas praias de Caraguatatuba, tendo como objetivo 7 praias da Cidade, onde o objetivo do citado trabalho segue em anexo assim como o cronograma das coletas para análise dos dados e as praias em questão.

Caraguatatuba, 27 de Fevereiro de 2015.

Profa Dra. Dora Inês Kozusny-Andreani

Secretário de Turismo

Secretário de Meio Ambiente

Mestranda em Ciências Ambientais: Amanda Nunes Tenório