



Bioindicadores para avaliação do risco potencial de transmissão da esquistossomose no açude Apipucos, Pernambuco

doi:10.4136/ambi-agua.1756

Received: 09 Sep. 2015; Accepted: 30 Nov. 2015

Rodrigo Moraes Loyo* ; Constança Simões Barbosa

Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (FIOCRUZ/CpqAM), Recife, PE, Brasil
Departamento de Parasitologia

*Autor correspondente: e-mail: rodrigoloyo@live.com,
constanca.barbosa@gmail.com

RESUMO

Em Pernambuco, a esquistossomose é endêmica na zona rural e inúmeros focos estão sendo detectados em localidades urbanas. Este artigo aferiu o risco para transmissão da esquistossomose em ambiente aquático urbano por meio de bioindicadores e biologia molecular. No Açude de Apipucos (bairro da região metropolitana do Recife) foram coletados caramujos vetores da esquistossomose em pontos com poluição fecal. Os *Biomphalaria* foram examinados por técnica molecular para detectar DNA de *S. mansoni*. Os coliformes fecais foram identificados por reação cromogênica. Os pontos de coleta foram georreferenciados e os resultados analisados com auxílio do aplicativo ArcGis. Foram coletados 77 *B. straminea*, 56 negativos e 21 positivos para *S. mansoni*. Coliformes fecais foram detectados em todas estações de coleta. O mapa de densidade Kernel mostrou o potencial do risco de transmissão da esquistossomose em ambiente aquático situado em bairro nobre da cidade.

Palavras chaves: indicadores ambientais, geoprocessamento para o ambiente, poluição, resíduos urbanos, saúde pública.

Bio-indicators for the evaluation of potential risk of schistosomiasis transmission at the Apipucos reservoir, Pernambuco State

ABSTRACT

In Pernambuco, schistosomiasis is endemic in the countryside and large numbers of foci are being detected in urban areas. This paper evaluated the risk of schistosomiasis transmission in aquatic ecosystem based on biomarkers and molecular biology techniques. At the Apipucos reservoir (neighborhood of metropolitan Recife), schistosomiasis intermediate host snails were collected in contaminated sites with fecal coliforms. The *Biomphalaria* were examined by molecular methods to detect DNA of *S. mansoni*. The fecal coliforms were identified with a chromogenic reaction. The collection stations were georeferenced and the results analyzed with the ArcGIS software package. Out of 77 *B. straminea* collected, 56 were negative and 21 positive for *S. mansoni*. Fecal coliforms were detected in all collection

stations. The Kernel density map showed the potential risk of schistosomiasis transmission in upscale neighborhood of Recife city.

Keywords: environmental indicators, GIS of the environment, municipal waste, pollution, public health.

1. INTRODUÇÃO

O açude de Apipucos é uma parte integrante da sub-bacia do rio Capibaribe, localizado na região metropolitana do Recife em Pernambuco. Seu reservatório é composto por dois espelhos d'água, sendo o menor situado a leste com cerca de 62.500 metros quadrados de área e o maior a oeste perfazendo uma área de aproximadamente 96.250 metros quadrados. O ecossistema biótico desse reservatório de água doce é formado por seres diversos, dos mais simples como cianobactérias e rotíferos planctônicos até seres mais complexos como as traíras (*Hoplias malabaricus*), tambaquis (*Colossoma macropomum*) e piabas (*Poecilia vivipara*), já a parte abiótica é muito instável por estar localizado em uma área de urbanização crescente com relatos de contaminação fecal e de outros tipos de detritos como sacolas plásticas, garrafas e pneus que estão afetando o paisagismo e a qualidade hídrica do reservatório (Burgos e Arantes, 2009).

As enterobactérias são encontradas no trato gastrointestinal humano, no reino animal, na água, solo e vegetais. Sua presença em águas contaminadas por esgotos humanos é apontada como um bioindicador de contaminação fecal. Os indicadores biológicos são específicos a certos tipos de impacto, já que inúmeras espécies são comprovadamente sensíveis a um tipo de poluente, mas tolerantes a outros. Entretanto nenhum indicador é efetivamente perfeito, levando em consideração uma série de fatores tais como classe dos corpos de água, característica da água (água doce, salina), clima (temperado, tropical) além do fator econômico (Duarte, 2011).

A esquistossomose mansônica é uma doença de veiculação hídrica, transmitida por caramujos do gênero *Biomphalaria* que são contaminados por larvas do *Schistosoma mansoni* quando pessoas infectadas pelo parasito lançam seus dejetos contendo ovos do verme em ambientes aquáticos habitados por esses moluscos. Em Pernambuco a esquistossomose é endêmica na zona rural e inúmeros focos estão sendo detectados em localidades urbanas e litorâneas deste Estado mostrando a expansão desta endemia com índices preocupantes de casos agudos da doença em indivíduos que nunca tiveram exposição ao parasita *S. mansoni* (Souza et al., 2008; Paredes et al., 2010; Gomes et al., 2012).

Levantamento malacológico realizado no ano de 2012 em coleções hídricas da cidade do Recife identificou 30 criadouros do caramujo vetor *Biomphalaria straminea* e no açude de Apipucos foram encontrados dois pontos de coleta com moluscos apresentando DNA de *S. mansoni*. Na mesma ocasião, uma busca ativa realizada entre escolares residentes no entorno destes criadouros diagnosticou 14 crianças com esquistossomose, cinco delas comprovadamente casos autóctones, sendo uma delas usuária sistemática do açude (Barbosa et al., 2013).

Algumas técnicas moleculares que permitem a detecção do DNA de *Schistosoma mansoni* nos caramujos hospedeiros vêm sendo amplamente utilizadas, possibilitando diagnosticar rapidamente e com precisão caramujos infectados pelo parasito, permitindo assim identificar ambientes aquáticos onde existe o risco de transmissão da esquistossomose (Abath et al., 2000).

Levantamento malacológico realizado no ano de 2012 em coleções hídricas da cidade do Recife identificou 30 criadouros do caramujo vetor *Biomphalaria straminea* e no açude de Apipucos foram encontrados dois pontos de coleta com moluscos apresentando DNA de *S.*

mansoni. Na mesma ocasião, uma busca ativa realizada entre escolares residentes no entorno destes criadouros diagnosticou 14 crianças com esquistossomose, cinco delas comprovadamente casos autóctones, sendo uma delas usuária sistemática do açude (Barbosa et al., 2013).

Existem poucos estudos locais que utilizam bioindicadores e técnicas moleculares para avaliar o risco de transmissão da esquistossomose em ambientes aquáticos, tendo em vista a importância histórica, ambiental e de lazer urbano do Açude de Apipucos, o presente trabalho tem como objetivo levantar indicadores biológicos (presença de moluscos vetores e de coliformes fecais) e usar técnicas de biologia molecular para detectar a presença de DNA do *S. mansoni* nos caramujos, a fim de estimar o risco ambiental de transmissão da esquistossomose para indivíduos que se expõem ao exercerem atividades de lazer aquático.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Área de estudo

O mapeamento da localidade de estudo foi realizado através da vetorização, com um equipamento de *Global Positioning System* (GPS) modelo Garmin montana 650. Abrangendo todo espaço geográfico dos limites do bairro de Apipucos, vias de acesso e a coleção hídrica formada pelo açude. Um croqui da área foi elaborado utilizando o software ArcGis 10.1 (<http://www.esri.com/software/arcgis>).

2.2. Identificação dos criadouros e coleta das amostras

A delimitação das estações de coleta no açude de Apipucos foi realizada considerando os seguintes critérios de importância epidemiológica: presença de caramujos vetores da esquistossomose, indícios de contaminação fecal, local de passagem de pedestres, de pesca e banho. No total foram demarcadas cinco estações de coleta dos moluscos vetores e dez estações de coleta de água. Três coletas de caramujo e água foram realizadas no estudo, uma em cada período climático (Seca, Chuva e Pós-chuva), considerando a influência pluviométrica sobre a densidade populacional dos caramujos *Biomphalaria* e concentração de dejetos. O tempo da coleta foi de 10 minutos em cada estação, pesquisando nas margens e nos diferentes estratos de vegetação.

2.3. Análise dos moluscos coletados

A infecção natural dos caramujos para o *S. mansoni* foi diagnosticada através da técnica clássica de exposição à luz que permite a visualização da forma infectante do parasita (cercárias) quando liberada pelo caramujo e pela identificação do DNA do parasita empregando o método molecular Nested PCR, modificado de Abath et al. (2000). No teste molecular as amostras foram divididas e analisadas por ponto de coleta, adicionado um controle de extração e reação. Foram utilizados como iniciadores externos os primers Unvfo2 e Schre19 e como iniciadores internos o Unvre6 e Schfo17.

2.4. Análise das amostras de água

As técnicas de coleta obedeceram aos procedimentos descritos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Para a detecção e quantificação de coliformes totais (CT), coliformes fecais (CF) e *Escherichia coli* foi empregado o método cromogênico com o kit Colitag™.

As amostras hídricas foram obtidas nas mesmas estações de coleta dos moluscos vetores, em recipientes estéreis de 100 ml. O reagente cromogênico foi adicionado ao frasco da água coletada, homogeneizado para posterior incubação por 24 horas a uma temperatura de 35 °C. A primeira leitura foi realizada por método direto, onde as amostras que migraram da

coloração natural para um amarelo vibrante passaram para a fase dois. A segunda leitura foi feita com auxílio de um fotodocumentador da Loccus biotecnologia™ (L-Pix) que irradiou as amostras com um feixe de luz ultravioleta para determinar a presença de *E. coli*.

2.5. Georreferenciamento dos dados

As estações de coleta de caramujo e de amostras hídricas foram georreferenciadas. Os resultados dos dados biológicos foram tratados em planilha do Microsoft Excel 2007 para construção dos mapas temáticos usando o aplicativo ArcGis 10.1. A aplicação do estimador de densidade Kernel permitiu a agregação das informações gerando um aglomerado que destaca os locais quentes (*hotspot*) nas margens do açude Apipucos, salientando as áreas com maior potencial de risco para transmissão da esquistossomose, ao quais os frequentadores do açude estão expostos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao longo da área marginal do açude, foram demarcadas cinco estações para coleta dos *Biomphalaria* e dez estações para análise da água, em locais frequentados pela população do bairro para pesca, banhos e lazer contemplativo. Nas coletas malacológicas realizadas ao longo do ano foram identificados dois criadouros e três focos de *B. straminea* no espelho d'água oeste do açude e em todas as dez estações de coleta foram detectados coliformes fecais evidenciando a existência poluição fecal disseminada nos dois espelhos d'água do açude de Apipucos – reservatório leste e oeste (Figura 1).

Nos criadouros identificados foram coletados 77 exemplares do caramujo *B. straminea* que se mostraram negativos para infecção ao *S. mansoni* pela técnica clássica de exposição à luz. Ocorreu a formação de um amplicon característico (721 pb) do DNA do *S. mansoni* nas amostras de 21 caramujos o que indica que esses exemplares albergam algum estágio do parasito e portanto, estão passíveis de transmitir a parasitose.

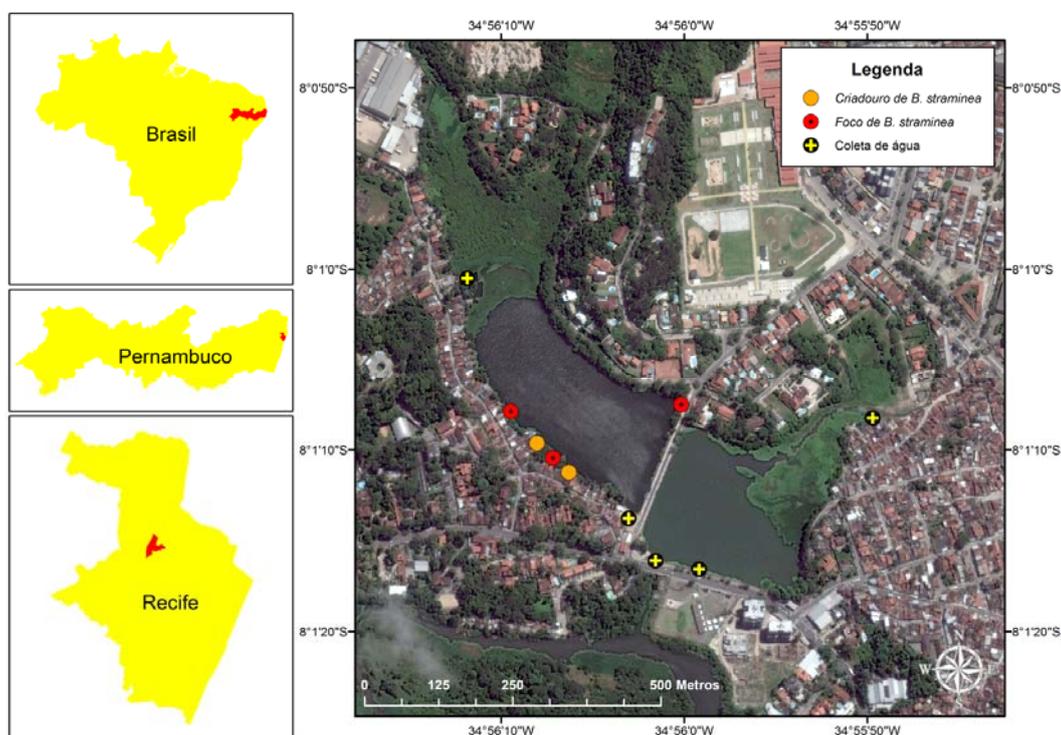


Figura 1. Açude Apipucos, região metropolitana do Recife, mostrando as dez estações de coleta georreferenciadas identificando os criadouros de *B. straminea* e potenciais focos de transmissão.

O teste utilizado para dosagem de coliformes fecais (reagente cromogênico Colitag™) tem uma sensibilidade que permite a identificação de uma unidade formadora de colônia da enterobactéria de interesse, em 100 ml da amostra hídrica. Os achados desse estudo mostram que houve reação positiva para *E. coli* com as amostras de nove locais de coleta sendo o mínimo encontrado de 240 UFC mL (Unidades Formadoras de Colônia) e pontos de coleta que passavam de 1600 UFC mL.

A análise espacial usando Kernel evidenciou as áreas com maior potencial de risco para transmissão da esquistossomose no Açude Apipucos, quando foram associados os dados: poluição fecal, presença e densidade populacional dos caramujos vetores nos pontos de coleta (Figura 2).

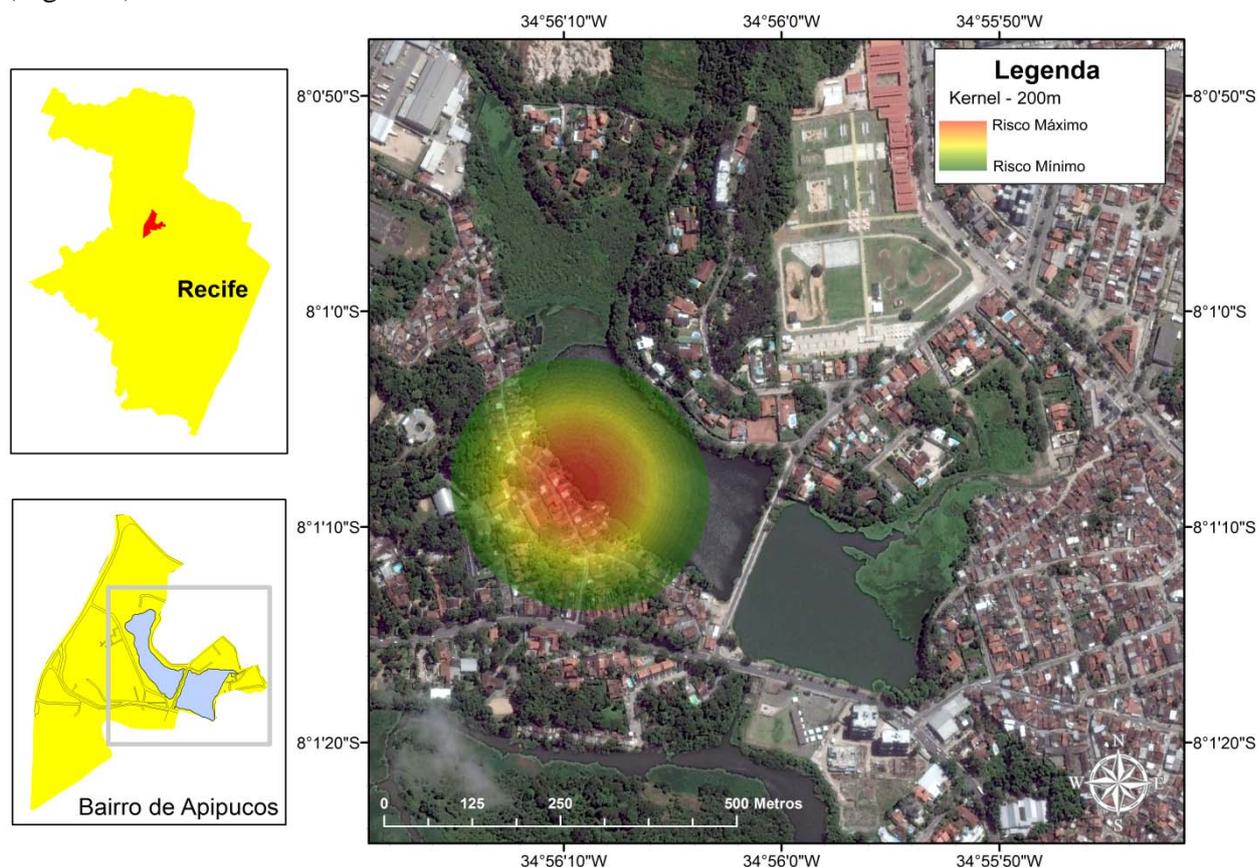


Figura 2. Mapa do Açude Apipucos mostrando a área de risco de transmissão para a esquistossomose em bairro nobre da cidade do Recife.

4. CONCLUSÃO

O presente estudo revelou pontos com indicadores biológicos de risco para a transmissão da esquistossomose no Açude de Apipucos que, apesar de localizado em bairro nobre do Recife, tem 81% de residências sem sistema de esgotamento sanitário (Recife, 2015), condição que propicia a ocorrência de ambientes aquáticos insalubres. A cidade possui inúmeros criadouros do caramujo vetor da esquistossomose (Barbosa et al., 2013), mas ainda não se tem registro de vetores que eliminam as cercárias infectantes do parasito. Os achados desta pesquisa apontam potenciais riscos ambientais e biológicos para o estabelecimento do ciclo de transmissão do *S. mansoni* em Recife, o que demanda atuação urgente das autoridades de saúde no que se refere a medidas educativas e ao tratamento dos resíduos despejados pelas comunidades nos reservatórios dulciaquícolas desta cidade.

5. REFERÊNCIAS

- ABATH, F. G. et al. Characterization of Sm13, a tegumental antigen of *Schistosoma mansoni*. **Parasitology research**, v. 86, n. 9, p. 745-52, 2000. <http://dx.doi.org/10.1007/PL00008562>
- BARBOSA, C. S. et al. Casos autoctones de esquistossomose mansonica em crianças de Recife, PE. **Revista de Saúde Pública**, v. 47, p. 684-690, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/rsp.v47i4.76600>
- BURGOS, K.; ARANTES, E. **Açude de Apipucos: história e ecologia**. Recife: CEPE, 2009.
- DUARTE, P. B. **Microrganismos indicadores de poluição fecal em recursos hídricos**. 2011. 52p. Monografia (Especialização em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.
- GOMES, E. C. S. et al. Schistosomiasis transmission and environmental change: a spatio-temporal analysis in Porto de Galinhas, Pernambuco - Brazil. **International Journal of Health Geographics**, v. 11, p. 51, 2012.
- PAREDES, H. et al. Spatial pattern, water use and risk levels associated with the transmission of schistosomiasis on the north coast of Pernambuco, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 26, n. 5, p. 1013-1023, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2010000500023>
- RECIFE. Secretaria do Planejamento. **Plano diretor do Recife: diagnóstico: a dinâmica físico-territorial**. 2015. Disponível em: http://www.recife.pe.gov.br/pr/secplanejamento/planodiretor/diagnostico_ii.html. Acesso em: 18 jan. 2015.
- SOUZA, M. A. A. et al. Criadouros de *Biomphalaria*, temporários e permanentes, em Jaboatão dos Guararapes, PE. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 3, p. 252-256, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822008000300006>