



IMPACTO DE RAIOS ULTRAVIOLETA NA DISTRIBUIÇÃO DE *Escherichia coli* E *Enterococcus* sp. EM SEDIMENTOS DE PRAIAS DE PONTAL DO PARANÁ, PARANÁ, BRASIL

MARIA LUIZA DOSSI CHEMIM; HEDDA ELISABETH KOLM; FERNANDA KASUMI
ISHII

RESUMO

Os oceanos e as zonas costeiras representam ambientes de enorme importância para diversas comunidades. Apesar dessas inúmeras importâncias, os problemas ambientais vêm se agravando a todo momento. O lançamento de esgotos sanitários é um dos tipos mais comuns de poluição oceânica, seja por meio de contribuições de cursos d'água ou por meio de emissários submarinos, a emissão destes efluentes causam diversos problemas ambientais e de saúde pública. Nem sempre a contaminação por esgotos sanitários é perceptível pela visão ou olfato. Sendo assim, são necessárias análises laboratoriais para avaliação das condições de qualidade sanitária. Para estas análises, são utilizados microrganismos indicadores, como a *Escherichia coli* (*E. coli*) e *Enterococcus* sp. Foi objetivo do presente estudo, avaliar se os raios ultravioletas do sol interferem na quantidade de coliformes totais, *E. coli* e *Enterococcus* sp. em sedimentos (até a profundidade de 10 cm) coletados na região entre-maré, de duas praias do município de Pontal do Paraná: Pontal do Sul e Ipanema. As amostras foram coletadas no inverno de 2021 e no verão de 2022, e levadas ao laboratório para a quantificação dos organismos a partir do cultivo Enterolert e Colilert. A partir dos resultados, com os baixos valores de *Enterococcus* sp. obtidos nas camadas superficiais de sedimento, tanto no verão quanto no inverno, foi possível comprovar a hipótese inicial de que raios ultravioletas são capazes de interferirem na distribuição de microrganismos indicadores de poluição, através de camadas de sedimento. Concluindo, as grandes diferenças observadas entre os resultados dos parâmetros analisados nas praias, indicam que para diferentes praias é necessário diferentes legislações, e para as próximas pesquisas, sugere-se que os estudos sejam realizados em maiores profundidades, para a observação de possíveis maiores diferenças entre os resultados.

Palavras-chave: Coliformes; Qualidade sanitária; Microbiologia marinha.

1 INTRODUÇÃO

Os oceanos e as zonas costeiras são ambientes de enorme importância para diversas populações, refletindo desde questões ambientais, econômicas, até questões de lazer. Apesar das inúmeras importâncias oceânicas existentes, algumas situações constantemente afetam a qualidade das atividades marinhas (NEVES; MUEHE, 2008). Por ser utilizado das mais diversas formas, e com o aumento populacional e industrial e o consequente aumento na quantidade de resíduos depositados nos sedimentos dos oceanos, os problemas ambientais vêm se agravando a todo momento, sendo as atividades antrópicas responsáveis pelas maiores ações prejudiciais (VIEIRA, 2000).

O lançamento de esgotos sanitários é um dos tipos mais comuns de poluição dos oceanos (MACHADO et. al., 2018). A emissão destes efluentes causam diversos problemas ambientais e de saúde pública. Segundo a Trata Brasil, em 2020, o esgoto não tratado representava 5,3

milhões de piscinas olímpicas despejadas na natureza, por ano. Em números mais exatos, isso significa que 10 bilhões, 625 milhões e 580 mil litros de efluentes não são tratados, chegando, assim, nos rios, mares e oceanos.

Nem sempre a contaminação por esgotos sanitários é perceptível pela visão ou olfato. Sendo assim, são necessárias análises laboratoriais para avaliação das condições de qualidade. Para estas análises, podem ser utilizados parâmetros biológicos como microrganismos indicadores, sendo a *Escherichia coli* (*E. coli*) e o *Enterococcus* sp. regulamentados pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).

Apesar da importância do monitoramento das praias, a legislação brasileira somente prevê valores de coliformes para a água, não levando em consideração os sedimentos das regiões praias. Para sedimentos, apesar de intensas buscas bibliográficas, foi encontrada somente uma normativa que estabelece a qualidade dos mesmos: a legislação municipal (Resolução da Secretaria do Município do Meio Ambiente – SMAC Nº468/10) para o Município do Rio de Janeiro.

Entretanto, os coliformes possuem uma tendência de se associar majoritariamente ao sedimento marinho, quando comparados à água do mar (VIEIRA, 2000). Apesar desta informação ser comprovada, existe uma precariedade de estudos da qualidade sanitária de sedimentos, bem como quais são os fatores que influenciam a sua distribuição (ANDRAUS, PIMENTEL, DIONÍSIO; 2013).

Estudos, como o de Skórczewski, et al. (2012), relata o potencial de associação das bactérias ao sedimento, visto que ele fornece nutrientes, e boas estruturas para abrigo. Tais estruturas são importantes para a proteção das bactérias, devido ao fato de auxiliarem na diminuição da penetração dos raios ultravioleta, provenientes do sol, tanto no solo, como nos corpos destes microrganismos (SKÓRCZEWSKI, et al. 2012). Segundo Muela, García-Bringas, Arana (2000), dentre os estresses aos quais as bactérias, quando no ambiente, são submetidas, a influência da radiação solar é a mais importante para sua sobrevivência. Os raios ultravioleta atingem e alteram o seu código genético, sendo o principal efeito, a desaceleração das funções metabólicas que afetam principalmente a capacidade de formação de colônias, ocasionando a morte destes seres (SINTON, FINLAY, LYNCH, 1999; BARBOSA, 2016).

Portanto, foi objetivo do presente estudo, avaliar se os raios ultravioletas do sol interferem na quantidade de *Escherichia coli* e *Enterococcus* sp. em sedimentos (até a profundidade de 10 cm) coletados na região entre maré, nos balneários de Pontal do Sul e Ipanema, ambos do município de Pontal do Paraná.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Área de Estudo

O litoral do Paraná, localizado no sul do Brasil, possui 90 quilômetros de extensão e é dividido em sete municípios (Guaraqueçaba, Antonina, Morretes, Guaratuba, Paranaguá, Matinhos e Pontal do Paraná). Nas duas extremidades do arco praias paranaense existem duas grandes baías, o Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) e a Baía de Guaratuba, que distribuem constantemente grande aporte de sedimentos para a região (ALVES; LAMOUR, 2011).

Dentre os balneários pertencentes ao município de Pontal do Paraná, foram escolhidos, para este trabalho, o de Ipanema e o de Pontal do Sul, visto que os dois recebem uma grande quantidade de turistas no verão, e suas praias apresentam diferentes características. Ipanema está localizada entre Praia de Leste e Pontal do Sul. É um balneário com praia exposta, recebendo grande ação direta das ondas. Pontal do Sul é o último balneário do município, e se encontra ao sul do Complexo Estuarino de Paranaguá. É protegida pela ação direta das ondas, devido às ilhas do Mel e da Galheta em sua frente.

2.2 Metodologia

As amostras de sedimento foram coletadas no inverno de 2021 e verão de 2022, em triplicata, na região entre-marés, em finais de vazante ou baixa-mares de sizígia, em dias sem chuva. Os horários foram escolhidos de acordo com as tábuas de marés da Barra de Paranaguá – Canal da Galheta.

Para tanto, foram utilizados corers de material de PVC, com 12 cm de altura, e semi recortados a cada 2 cm. Tais corers foram ajustados e afundados no sedimento. Após a coleta, foram transportados ao laboratório para as análises. No campo foi medido ainda, a intensidade da luz solar e a temperatura do sedimento superficial, e coletadas amostras de água intersticial para análises de salinidade e pH.

Cada amostra recebeu um nome específico de acordo com local, estação e profundidade em que foram coletados. As amostras coletadas em Pontal do Sul receberam a letra “P”, enquanto as de Ipanema receberam a letra “I”. A coleta no inverno recebeu a letra “I”, e a do verão, a letra “V”. Quanto à profundidade, as amostras foram separadas em “A”, “B”, “C”, “D” e “E”, onde a letra “A” é a camada mais superficial, e a letra “E” a mais profunda (Exemplo: I-PA, coleta realizada no inverno, em Pontal do Sul, na superfície do sedimento).

No laboratório, todas as amostras de sedimento foram divididas, e cada alíquota foi acondicionada em placa de Petri de vidro. Em seguida, cada uma das amostras de sedimento foi dividida para as devidas finalidades. De cada alíquota de sedimento foram feitas análises de granulometria, matéria orgânica, carbonato de cálcio, coliformes totais, *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp, e peso seco.

O tamanho dos grãos foram obtidos através do processo de peneiramento.

Para a obtenção do peso seco, foi retirada uma sub-amostra de 5 cm³, acondicionada em placa de Petri previamente pesada, pesado novamente e mantido em estufa por 72 horas em temperatura de 60°C para secagem do material. Em seguida, as amostras foram novamente pesadas, para a obtenção do valor do sedimento seco com a placa de Petri em gramas e, por diferença de peso, foi calculado o peso seco da amostra em gramas e em centímetros cúbicos.

Foram utilizadas parcelas de aproximadamente 10 g de sedimentos secos para as análises de matéria orgânica e carbonato de cálcio (CaCO₃). Estas parcelas foram pesadas, depois levadas em copos de Becker de 50 ml a exaustores, para serem submetidos ao ataque químico com ácido clorídrico (HCl) a 10% para os carbonatos, e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 30 vols. para matéria orgânica. Após o ataque, as amostras permaneceram duas horas em descanso. Depois, foram passadas em papel filtro 21mm previamente pesados, e levados para a secagem em uma estufa a 60°C, para que, através da comparação dos pesos secos das amostras antes e depois das reações químicas, fosse obtida a quantificação destes teores, como descrito por Gross (1971), e adaptado para tal estudo. Finalmente, todos os resultados foram calculados em centímetros cúbicos.

Para as análises de coliformes totais, *E. coli* e *Enterococcus* sp., em sedimento, foram separadas duas sub-amostras de 15 cm³ cada, acondicionadas em dois Erlenmeyers de 250 mL previamente pesados e autoclavados. Os Erlenmeyers foram pesados novamente com o sedimento, e a cada um, adicionados 135 mL de água destilada autoclavada. Os frascos foram agitados, e mantidos em repouso por 10 minutos para a decantação do sedimento, seguindo a metodologia descrita por Santos; Kolm; Sautter (2008), adaptado para o presente estudo.

Após este processo, 100 mL do líquido sobrenadante foram transferidos para outros dois Erlenmeyer, também de 250 mL e, em um foi adicionado um flaconete de meio de cultivo Colilert para crescimento de coliformes totais e *E. coli* e no outro um flaconete de Enterolert para *Enterococcus* sp. O conteúdo foi vertido em cartelas que foram seladas e levadas a estufas a 36°C por 18 horas e 41°C, por 24 horas, respectivamente.

Para a obtenção do número mais provável (NMP) de coliformes totais, *Escherichia coli*

da quantidade de matéria orgânica, pode ser um indicativo do consumo da mesma pelos micro-organismos.

Como citado anteriormente, as amostras V-ID e V-IE, coletadas no verão de Ipanema, tiveram altos resultados de *Enterococcus* sp. Além da possibilidade de maiores efeitos de raios ultravioleta nas bactérias, em camadas mais superficiais, este resultado também pode estar associado a maior quantidade de areias grossas encontradas nos mesmos pontos. Segundo Skórczewski, et al. (2012), que estudaram a abundância e distribuição de bactérias indicadoras fecais na areia da praia recreativa no sul do Mar Báltico, as estruturas sedimentares são importantes para a proteção das bactérias, devido ao fato de auxiliarem na diminuição da penetração dos raios ultravioleta, provenientes do sol, tanto no solo, como nos corpos destes micro-organismos. A areia grossa encontrada no local, pode ter diminuído a proteção destes seres, e de certa forma, contribuído então, com a penetração dos raios ultravioleta nas camadas superiores, afetando a distribuição das bactérias no sedimento.

Os coliformes totais tiveram uma relação positiva com o ponto I-PA coletado no inverno em Pontal. Esta foi a amostra em que, nesta praia, foram encontrados os maiores coliformes totais. Entretanto, os maiores valores destes micro-organismos, considerando-se as duas praias, foram encontrados na praia de Ipanema, no verão.

Os resultados de *Enterococcus* sp. também foram encontrados em maiores quantidades no verão, já os resultados de *Escherichia coli* foram maiores na coleta realizada no inverno. Resultados semelhantes foram observados por Miquelante (2007), que estudou sedimentos coletados na região entre-marés da Ilha do Mel. Estas informações poderiam ser explicadas devido às baixas temperaturas reduzirem a velocidade metabólica de bactérias, induzindo a dormência das mesmas (DEFLAUN; MAYER, 1983). Além disso, nos meses de verão ocorre um aumento da população litorânea. Dados apresentados pelo Bem Paraná (2017), relatam a quadruplicação da população na alta temporada do litoral paranaense, o que poderia explicar o aumento das bactérias na coleta realizada no verão.

De uma forma geral, a quantidade de coliformes totais e *Enterococcus* sp. foram maiores na praia de Ipanema, quando comparada a praia de Pontal do Sul. Não necessariamente estes organismos estão associados à poluição humana (YOUN-JOO; KAMPBELL; BREIDENBACH, 2002; SACRAMENTO, 2015), porém, possivelmente, a praia de Ipanema está em condições mais poluídas que Pontal do Sul. Uma das possíveis justificativas para maiores quantidades destas bactérias na praia de Ipanema, pode estar associada à Estação de Tratamento de Esgoto, da Sanepar, localizada neste balneário.

Os resultados coletados em Ipanema, nas amostras de coliformes totais, V-IB e V-IC, coletadas no verão, e as amostras de *Enterococcus* sp., V-ID e V-IE, também coletadas no verão, foram fundamentais para esta pesquisa. Tais resultados corroboram com a hipótese inicial de maiores quantidades de bactérias em camadas mais inferiores de sedimento, devido ao maior contato dos raios UV em camadas mais superficiais.

4 CONCLUSÃO

A partir do presente estudo, foi possível analisar os diferentes compartimentos e processos costeiros que podem ou não, afetar a distribuição de bactérias indicadoras de poluição no sedimento marinho. Os dados de coliformes totais e *Enterococcus* sp. comprovaram a hipótese inicial de que raios ultravioletas são capazes de interferirem na distribuição destes micro-organismos nas camadas de sedimento.

A diferença entre os resultados observados em cada praia indica a necessidade da avaliação de diferentes parâmetros, para a criação de uma legislação de qualidade sanitária de sedimentos. Ainda, as grandes diferenças entre tais parâmetros, também indicam que praias diferentes necessitam de legislações diferentes.

Por fim, para as próximas pesquisas, sugere-se que os estudos sejam realizados em

maiores profundidades, para a observação de possíveis maiores diferenças entre a quantidade de coliformes em sedimentos superficiais e mais profundos.

REFERÊNCIAS

ALVES, L. C.; LAMOUR, M. R. Tendências de transporte sedimentar ao longo das praias do município de Pontal do Paraná (PR): Dados preliminares. **XVII Congresso da Associação Brasileira de Estudos do Quaternário – ABEQUA**. 2011.

ANDRAUS, S., PIMENTEL, I. C., DIONÍSIO, J. A. Microbiological monitoring of seawater and sand of beaches Matinhos, Caiobá e Guaratuba-PR, Brazil. **Estudos de Biologia**. v. 36, p. 43-55, 2013.

BARBOSA, A. de O. **Uso da radiação ultravioleta como técnica avançada de tratamento de água**. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso submetido à Coordenação do Curso de Engenharia Civil, Universidade Federal da Paraíba, Paraíba. 2016.

BEM PARANÁ. **Notícias**. 2017. <https://www.bemparana.com.br/noticias/parana/populacao-do-litoral-do-paranaquadruplica-na-temporada-de-verao/>. Acesso em 29 de agosto de 2022.

DEFLAUN, M.; MAYER, L. M. Relationships between bacteria and grain surfaces in intertidal sediments. **Limnology and Oceanography**. nº 5, v. 28, p. 873-881. 1983.

GROSS, M. G. 1971. **Carbon determination**. In: Carver, R E. ed. Procedures in sedimentary petrology. New York, Wiley-Interscience. p.38-46.

MACHADO, A.; LOURENÇO, G.; HAMMES, T.; PARISI, M. Anemia falciforme: aspectos clínicos e epidemiológicos. **XXIII Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão**. Cruz Alta. 2018.

MIQUELANTE, F. A. **Distribuição espaço-temporal de bactérias heterotróficas totais, coliformes totais e Escherichia coli em sedimentos superficiais da região entremarés da Ilha do Mel, Paraná (BR)**. 79 f. Monografia - Curso de graduação de Oceanografia, Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná. 2007.

MUELA, A.; GARCÍA-BRINGAS, J. M.; ARANA; BARCINA. The Effect of Simulated Solar Radiation on Escherichia coli: The Relative Roles of UV-B, UV-A, and Photosynthetically Active Radiation. **Microbial Ecology**. v. 39, p. 65–71. 2000.

NEVES, C. F.; MUEHE, D. Vulnerabilidade, impactos e adaptação a mudanças do clima: a zona costeira. **Parcerias Estratégicas Brasília**, DF. n. 27. 2008.

SACRAMENTO, A. G. **Caracterização molecular de Enterococcus spp. resistentes à vancomicina em amostras clínicas, ambientes aquáticos e alimentos**. 122 f. Tese de doutorado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Farmácia, Área de Análises Clínicas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2015.

SANTOS, P. R. N.; KOLM, H. E.; SAUTTER, K. D. Bactérias em sedimentos da região entre-marés da Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**. v. 12, n. 1, p. 9-17, 2008.

SINTON, L. W.; FINLAY R. K.; LYNCH, P. A. Sunlight Inactivation of Fecal Bacteriophages and Bacteria in Sewage-Polluted Seawater. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 65, n. 8, p. 3605-3613. 1999.

TYSON, R. V. **Sedimentary Organic Matter: Organic facies and palynofacies**. Londres, Reino Unido: Chapman & Hall. 1995. 615p.

VIEIRA, R. H. S. dos F. Poluição microbiológica de algumas praias brasileiras. **Arquivos de Ciências do Mar**. v. 33, n. 1-2, p. 77-84. 2000.

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**, v. 69, n. 9, p. 5555-5562, 2003.

YOUN-JOO, KAMPBELL D. H.; BREIDENBACH, G. P. Escherichia coli and total coliforms in water and sediments at lake marinas. **Environmental Pollution**. v. 120, n. 3, p. 771-778. 2002.