

# Microbiology as an indicator of environmental health of Ilha Comprida lagoons- SP

Edison Barbieri\*

Fátima Lisboa Collaço\*\*

Sônia Assami Doi\*\*\*

Ana Julia Fernandes Cardoso de Oliveira\*\*\*

Karina Fernandes Oliveira Rezende\*\*\*\*

507

## Abstract

With an area of 150 Km<sup>2</sup>, the municipality of Ilha Comprida has limited sources of freshwater, sediments and nutrients. However, the sanitary aspects, aiming at Public Health, should be evaluated by determining the densities and the distribution of fecal pollution indicators, mainly bacteria from the group of thermotolerant coliforms. Thus, the objective of this work was to analyze the seasonal variations in the densities of thermotolerant coliforms in the lagoons of the municipality of Ilha Comprida (SP). For that, water samples were collected, in the period between 2014 and 2016, in lagoons of 13 localities (Juruvaúva, City Mar Sul, City Mar Norte, São Januário, Jardim Portugal, Atlântico, Icaraí, Adriana Sul, Adriana Norte, Porto Velho 2, Xandú, Jardim da Barra, Laguna Ponta da Praia) located in the municipality of Ilha Comprida (SP). The results showed that 21.90% of the samples were above the limit established by CONAMA. High densities of bacteria were found in the Icaraí lagoon. The highest averages of thermotolerant coliform densities were recorded in summer and spring. It is concluded that the seasonal variation interferes with the density of thermotolerant coliforms.

**Keywords:** Thermotolerant Coliforms. Public Health. Pollution. Water Quality.

## INTRODUCTION

The municipality of Ilha Comprida has an area of 150 Km<sup>2</sup>, associated with the Cananéia- Iguape- Ilha Comprida estuary, providing a limited supply of freshwater, sediments and nutrients<sup>1</sup>. It is one of the most important wetlands of the Brazilian coast in terms of biodiversity and natural productivity, recognized nationally and internationally as the third most productive ecosystem of the South Atlantic, due to its environmental characteristics being very well preserved<sup>2</sup>. In terms of Public Health, the sanitary aspects should be focused, studying the densities and distribution of fecal pollution indicators, being more commonly used the coliform group, especially the group of fecal or thermotolerant coliforms<sup>3,4,5,6</sup>.

The "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater" defines the coliform group as all bacteria facultative aerobic or anaerobic, gram-negative, not sporulated, rod-shaped, that ferment lactose with gas formation within 48 h at 35°C. This group includes organisms that differ in their biochemical, serological and habitat characteristics.

They can be classified into: *Escherichia*, *Aerobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* and other genera that almost never appear in feces as the *Serratia*. The bacteria *Escherichia coli* are the only species in the group of thermotolerant coliforms whose exclusive habitat is the intestines of warm-blooded animals<sup>7</sup>.

General aspects of the influence on

DOI: 10.15343/0104-7809.201740A507520

\*Instituto de Pesca - APTA - SAA/SP, Cananéia, SP, Brasil.

\*\*Prefeitura Municipal da Ilha Comprida, Departamento de Desenvolvimento Sustentável, Ilha Comprida, SP, Brasil.

\*\*\* Instituto de Biociências, UNESP, Campos de Rio Claro. Rio Claro, São Paulo, SP, Brasil.

\*\*\*\*Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

E-mail: edisonbarbieri@yahoo.com.br

the survival of fecal bacteria in aquatic environments were discussed by Hughes<sup>8</sup> and Craig et al.<sup>9</sup>. These authors reported that microorganisms, once released into the water, their survival is determined by combinations of physical and biological factors such as the action of ultraviolet radiation, predation, lack of nutrients, temperature, salinity and oxygen levels. According to CETESB<sup>10</sup>, the presence of coliforms in the water is influenced by tidal conditions, occurrence of rains and tourist influx during the seasons.

According to GAUTHIER<sup>11</sup>, the risk of contamination of water bodies by *E. coli* and in extension, by pathogenic enterobacteria to humans, is much more pronounced in warm waters rich in organic matter.

In works such as Kolm and Andretta<sup>12</sup>, Barbieri et al.<sup>13</sup>, Moreira et al.<sup>14</sup> analyzed the correlation of physical, chemical and biological factors with the concentrations of the bacteria in the aquatic environment. Kolm and Andretta<sup>12</sup> verified that heterotrophic aerobic bacteria and total and *E. coli* values were influenced by tide of the spring, mainly after periods of heavy rains, in the State of Paraná, Brazil.

Barbieri et al.<sup>13</sup> observed that the rainfall index presented a high and positive correlation for the microorganisms analyzed in Cananéia, Brazil. In addition, Moreira et al.<sup>14</sup> noticed, on the beach of Jabaquara (Paraty, Brazil), that the greater the increase of fecal pollution in the aquatic environment, and consequently the greater contamination in the bivalves, had interaction with the variation of the tides, salinity and population increase resulting from the summer vacation period.

However, it was hypothesized that in the summer period the concentrations of thermotolerant coliforms would be higher as a result of the higher rainfall and population increase in the season period, in addition, higher concentrations of these microorganisms were predicted in regions that result in higher effluent output of the greater proximity of the city.

Therefore, this work had the objective of analyzing the seasonal variations on the densities of thermotolerant coliforms in the lagoons of the municipality of Ilha Comprida (SP).

## MATERIAL AND METHODS

Samples of lagoon freshwater were collected, in the period between 2014 and 2016, at 13 localities situated in Ilha Comprida municipality (SP). The water was collected in the lagoon known as Juruvaúva, City Mar Sul, City Mar Norte, São Januário, Jardim Portugal, Atlântico, Icaraí, Adriana Sul, Adriana Norte, Porto Velho 2, Xandú, Jardim da Barra, Laguna Ponta da Praia. The coordinates of which were registered by means of GPS (Global Positioning System) and water transparency were measured by a Secchi disc (Table 1).

The water samples were collected at depths of 15 to 30 cm, below the surface, with flask facing the current direction<sup>4</sup>. Neutralized borosilicate glass vials, previously autoclaved, were used and then the samples were stored in refrigerated isothermal carton for transport. The methodology used for sampling complied with the norms described by Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater and the analytical method used to determine the most probable number of coliforms was the Multiple Tubing Technique<sup>4</sup>.

The samples were analyzed in two stages, the first being the presumptive test and then the confirmatory test. The first step was to verify if the samples presented contamination by coliforms. For this, the samples were diluted according to APHA<sup>4</sup> with 5 replicates for each dilution, in addition to the control tubes, in order to identify possible false-positive results.

Were inoculated (at 35 °C for 24-48 h) 10 mL of the samples in Lactosate Broth sodium sulphate in double concentration, 1 mL and 0.1 mL of the samples in single concentration. The tubes that presented gas production and acidified (yellowish staining) were considered positive and the culture was used to perform confirmatory tests.

The second stage consisted of the determination of thermotolerant coliforms of each sample. For thermotolerant coliforms, the samples were incubated in EC (medium specific to *Escherichia coli* used as indicator of pathogenic enteric bacteria) for a range of 18 to 22 h at 44.5 °C, where, over again, gas production was verified. The results of thermotolerant coliforms densities were expressed as Most Probable

Number per 100 mL (MPN 100 mL<sup>-1</sup>).

The data were assessed in light of the averages and standard deviations obtained by an ANOVA analysis after the verification of the normal distributions (Shapiro-Wilk

statistical test) and Levene's test was used for homogeneity of variance (homocedasticity). The Assistat 7.6 beta (2013) statistical program was used to interpret the data. Differences were considered significant when P<0.05.

**Table 1** – Collection points indicating the name of the lagoon, collected, in the period between 2014 and 2016, at 13 localities situated in Ilha Comprida municipality georeference, area (ha), transparency (m) and depth (m).

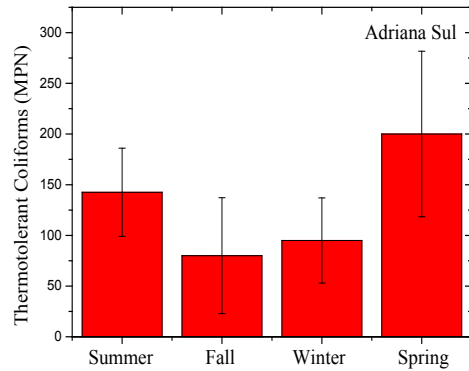
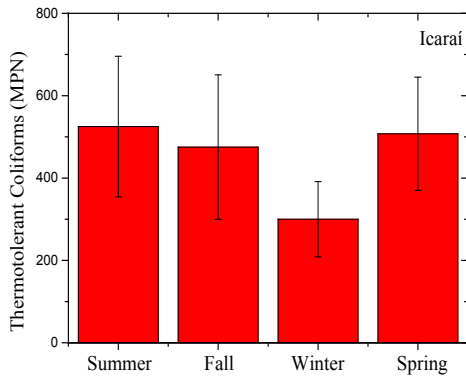
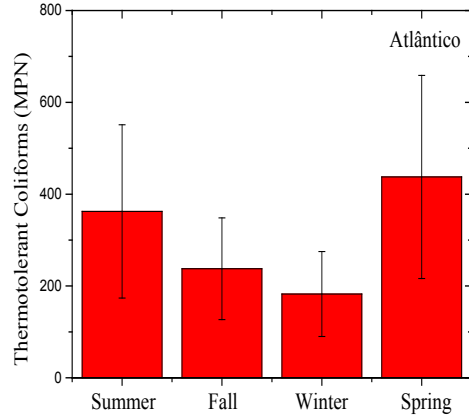
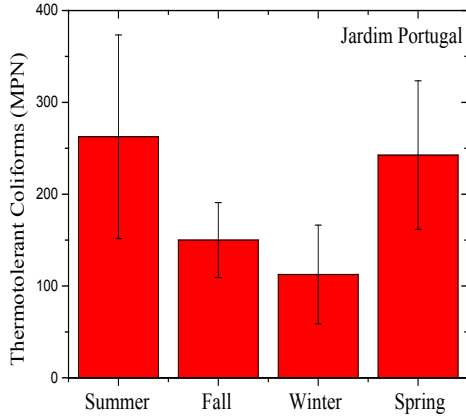
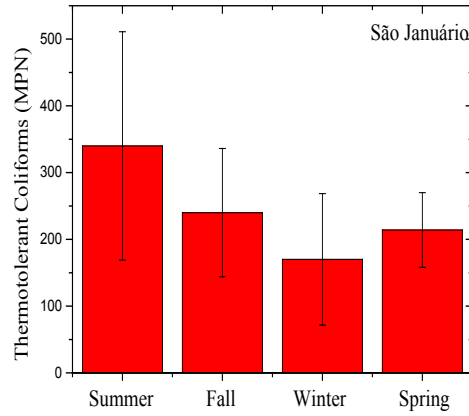
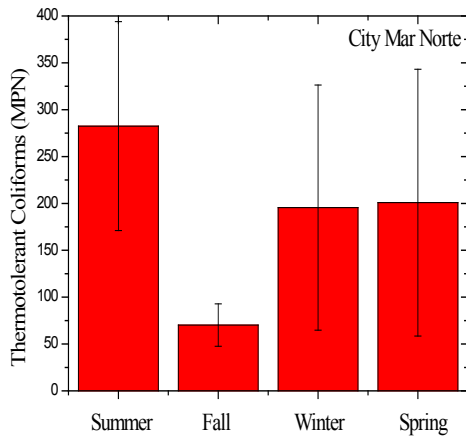
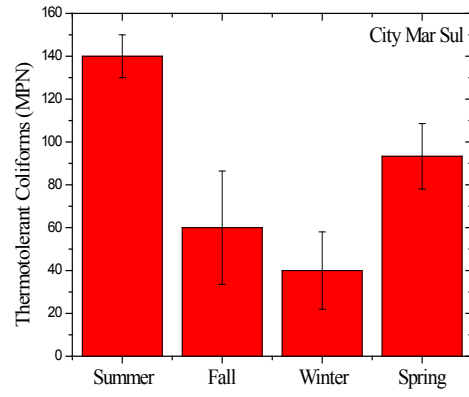
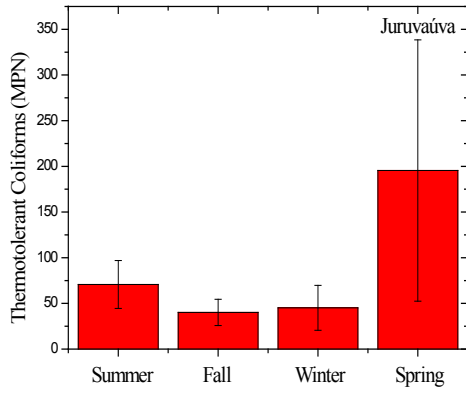
Lagoon	Georeference	Area (ha)	Transparency (m)	Depth (m)
Juruvaúva	24°56'48.92" 47°49'5.55"	0.08	0.6	2.0
City Mar Sul	24°47'37.98" 47°38'20.74"	0.5	0.9	3.6
City Mar Norte	24°47'33.74" 47°38'14.73"	0.43	0.8	4.0
São Januário	24°47'29.62" 47°37'12.93"	1.24	1.0	1.6
Jardim Portugal	24°46'27.05" 47°36'38.82"	0.36	0.4	3.1
Atlântico	24°45'15.93" 47°34'13.48"	2.3	0.8	1.4
Icaraí	24°44'8.05" 47°32'18.34"	0.52	0.4	1.4
Adriana Sul	24°43'57.13" 47°32'1.34"	0.84	0.8	2.6
Adriana Norte	24°43'49.37" 47°31'50.15"	0.25	0.6	3.0
Porto Velho 2	24°43'38.64" 47°31'29.92"	0.47	0.6	1.0
Xandú	24°43'30.61" 47°31'10.98"	0.12	-	-
Jardim da Barra	24°43'20.30" 47°31'10.99"	1.42	0.8	1.0
Laguna Ponta da Praia	24°46'30.30" 47°32'10.54"	7.7	-	-

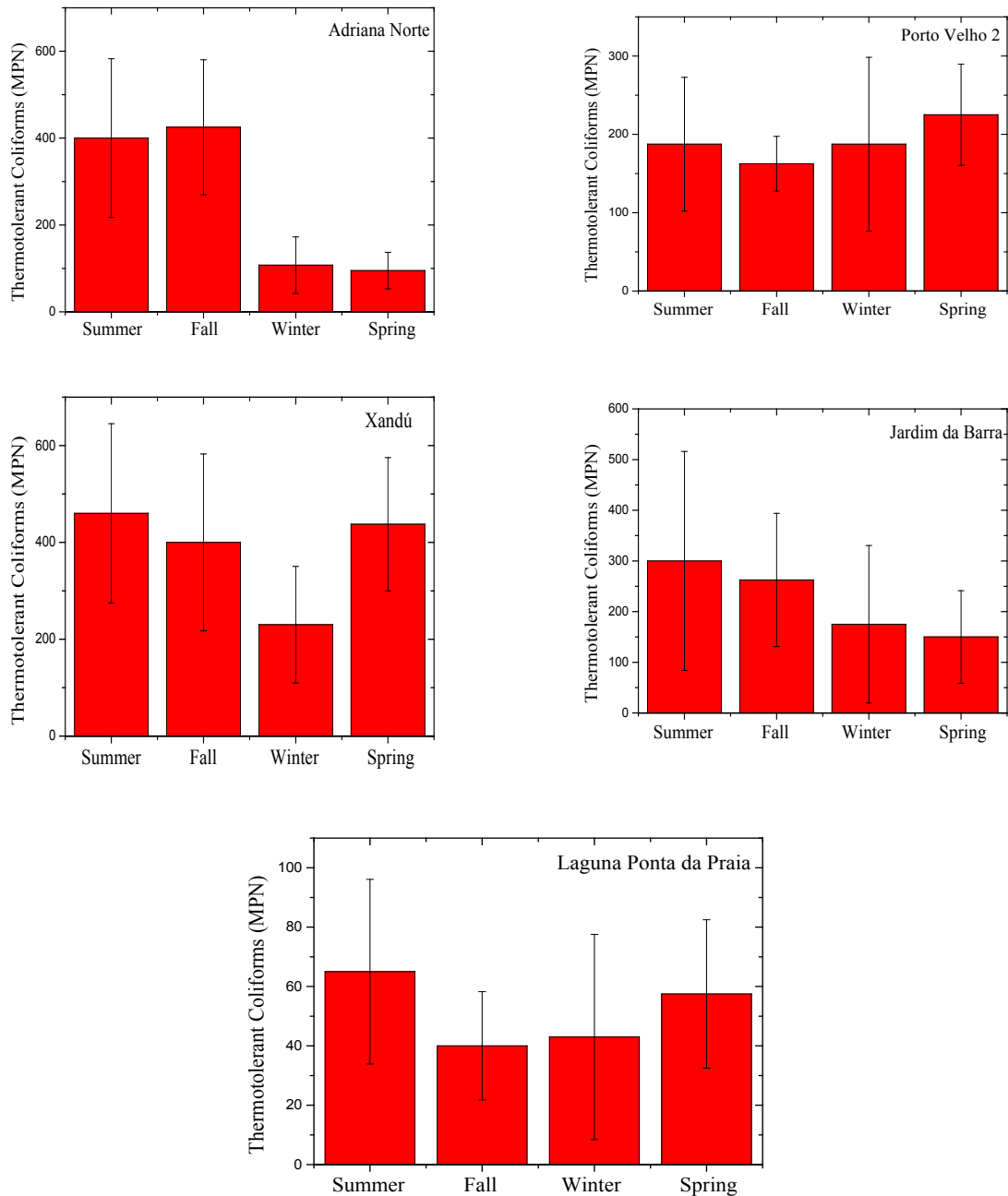
## RESULTS

The results showed that 21.90% of the samples were above the limit established by CONAMA. The Icaraí lagoon was the location with the highest densities of thermotolerant coliforms throughout the year, followed by the Xandú location. In contrast, the location with

the lowest densities during the year was Laguna Ponta da Praia (Figure 1).

In relation to the seasonal variation, the summer and spring months were the periods with the highest most probable number (MPN) of thermotolerant coliforms (Figure 1).





**Figure 1** – Averages (S.D.) of the most probable number (MPN) of thermotolerant coliforms in relation to the seasonal variation, in the 13 collection sites in Ilha Comprida - SP.

## DISCUSSION

Most probable number of thermotolerant coliforms correlated with seasonal changes has been described by several authors. In studies with oysters, Mendes et al.<sup>15</sup> observed seasonal differences in regions of greater Recife (PE). Similarly, Doi et al.<sup>6</sup> observed that in oyster

tissues the highest averages occurred in months the fall, due to their characteristic of being a bioaccumulating and filtering animal.

However, in the same study the authors observed that the highest concentrations of coliforms in the city of Cananéia (SP) occurred

in months the summer<sup>6</sup>. Ristori et al.<sup>16</sup> also correlated fecal coliforms with seasonal variations, noting also higher concentrations in the summer months in studies on the south coast of Brazil.

Both articles corroborate the present work, in which the highest concentrations of thermotolerant coliforms were observed in summer in 69.23% of the collection points.

Many studies have correlated this increase in MPN of coliforms in the summer with the highest rainfall index<sup>6,13,16</sup>, since this forcing has the capacity to carry sewage and solid waste for watercourses<sup>17,18,19</sup>.

This correlation can be interpreted to estimate the contribution of wastewater, rainwater, groundwater or sewage (reflected) reservoirs reflected in certain types of samples<sup>20</sup>.

In addition, the increase of the tourist population in the summer season may contribute to the higher concentrations of coliforms, since they indicate a high level of contamination by effluents released in the water without treatment, caused by the influx of tourists and large pluviometric volumes that increases the flow of sewage generated at that time<sup>16</sup>.

The coliform densities found in the lagoons were lower than those found in the polluted water, thus corroborating the results of the studies of Vieira et al.<sup>18</sup>, which indicated greater contamination in the water in different seasons.

## CONCLUSION

Although the general mean value of thermotolerant coliforms is within the criteria established by the legislation in force, some locations present high coliform densities.

The high values of coliforms found, in this work, in Icaraí lagoon may be the result of the proximity of the city with its outflow of effluents, considered to be the main cause of the contamination of the water. In addition, Ramos et al.<sup>21</sup>, analyzing the amount of coliforms in some points of the South Bay of Santa Catarina, found that the collection points with higher values are regions that do not allow efficient water circulation, which makes it difficult to dilute the waste (when evictions occur).

It was ascertained that all the densities of thermotolerant coliforms detected during this study were within the limits established by CONAMA<sup>7</sup>, though it was discovered that in some periods of the year the levels of these bacteria were very high. The density of microorganisms in lagoon indicates the level of contamination at the moment of collection, but it varies from one lagoon to another and it also depends on the environmental and meteorological conditions as well as on the general activity of the organism<sup>12,22</sup>.

The continuous monitoring of the microbiological quality of the freshwater used to recreation is necessary, because the importance of the health public in this lagoons. Different results have been described by Vieira et al.<sup>18</sup>, in that they discovered that the contamination of the freshwater of the river Pacoti - CE was greater in winter.

It is also concluded that the seasonal variation interferes with the density of thermotolerant coliforms.

## REFERENCES

1. Barcellos RL, Berbel GBB, Braga ES, Furtado VV. Distribuição e características do fósforo sedimentar no Sistema Estuarino Lagunar de Cananéia-Iguape, Estado de São Paulo, Brasil. *Geochimica Brasiliensi* 2005; 19(1): 22-36.
2. UNESCO- United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization. World Network of Biosphere Reserves. Santa Catarina: The MAB Program; 2005.
3. Almeida RMA, Hussar GJ, Peres MR, Ferriani-Junior AL. Qualidade microbiológica do Córrego "Ribeirão dos Porcos" no município de Espírito Santo do Pinhal - São Paulo. *Revista Engenharia Ambiental* 2004; 1(1): 51-56.
4. APHA- American Public Health Association. Standard Methods for the examination of water and wastewater. New York: American Public Health Association; 2005.
5. Doi SA, Barbieri E, Marques HLA. Densidade colimétrica das áreas de extrativismo de ostras em relação aos fatores ambientais em



- Cananeia (SP). Engenharia Sanitária e Ambiental 2014; 19(2): 165-171.
6. Doi SA, Oliveira AJFC, Barbieri E. Determinação de coliformes na água e no tecido mole das ostras extraídas em Cananéia, São Paulo, Brasil. Engenharia Sanitária e Ambiental (Online) 2015; 20(1): 111-118.
  7. CONAMA- Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº357, do dia 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil; 2005.
  8. Hughes KA. Influence of seasonal environmental variables on the distribution of presumptive fecal coliforms around a research station in Antarctica. Applied Environmental Microbiology 2003; 69(8): 4884-4891.
  9. Craig DL, Fallowfield HJ, Cromar NJ. Use of microcosms to determine persistence of *Escherichia coli* in recreational coastal water and sediment and validation with in situ measurements. Journal and Applied Microbiology 2004; 96(5): 922-930.
  10. CETESB- Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Qualidade das praias litorâneas no estado de São Paulo 2013. São Paulo: CETESB; 2014.
  11. Gauthier MJ, Flatau GN, Clement RL, Munro PM. Sensitivity of *Escherichia coli* cells to seawater closely depends on their growth stage. The Journal of Applied Bacteriology 1992; 73(3): 257-262.
  12. Kolm HE, Andretta L. Bacterioplankton in different tides of the Perequê tidal creek, Pontal do Sul, Paraná, Brazil. Brazilian Journal of Microbiology 2003; 34(2): 97-103.
  13. Barbieri E, Bondioli AC, Woiciechowski E, Zapotoski SMK. Microbiology quality of the oysters cultivation water marketed in Cananeia-SP, Brazil. O Mundo da Saúde 2012; 36(4): 541-547.
  14. Moreira AS, Leao MVP, Santos SSF, Jorge AOC, Silva CRG. Qualidade sanitária da água e de bivalves *Lophotolus* (Lamarck, 1818) na praia do Jabaquara, Paraty, RJ. Revista Biociências 2011; 17(1): 66-71.
  15. Mendes ES, Mendes PP, Lopes CAM, Coelho MIS, Souza JCR, Cruz MCS, Assis AS. Sazonalidade dos microrganismos em ostras consumidas na grande Recife, PE. Revista Higiene Alimentar 2004; 18(116/117): 79-87.
  16. Ristori CA, Iaria ST, Gelli DS, Rivera ING. Pathogenic bacteria associated with oysters (*Crassostrea brasiliana*) and estuarine water along the south coast of Brazil. International Journal of Environmental Health Research 2007; 17(4): 259-269.
  17. Ballesteros, ER, Barbieri, E, Pinto, AB, Oliveira, RS, Oliveira, AJFC. Qualidade microbiológica de ostras (*Crassostrea* sp) e de águas coletadas em cultivos e em bancos naturais de Cananéia. Boletim do Instituto de Pesca 2016; 42(1): 134-144.
  18. Vieira RHFS, Atayde MA, Carvalho EMR, Carvalho FCT, Fonteles-Filho AA. Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do rio Pacoti (Eusebio, Estado de Ceara): Isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science 2008; 45(3): 180-189.
  19. Miquelante FA, Kolm HE. Indicadores microbiológicos de poluição fecal na desembocadura da Gamboa Olho d'Água, Paraná: subsídio para o monitoramento da balneabilidade do Brasil. Biology Health Science 2011; 17(1): 21-35.
  20. Oliveira BSS, Cunha AC. Correlação entre qualidade da água e variabilidade da precipitação no sul do Estado do Amapá. Revista Ambiente e Água 2014; 9(2): 261-275.
  21. Ramos RJ, Pereira MA, Miotto LA, Faria LFB, Silveira-Junior N, Vieira CRW. Microrganismos indicadores de qualidade higiênico-sanitária em ostras (*Crassostrea gigas*) e águas salinas de fazendas marinhas localizadas na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, Brasil. Revista do Instituto Adolfo Lutz 2010; 69(1): 29-37.
  22. Madoux-Humery AS, Dorner S, Sauvé S, Aboufadel K, Galarnau M, Servais P, Prévost M. Temporal variability of combined sewer overflow contaminants: Evaluation of wastewater micropollutants as tracers of fecal contamination. Water Research 2013; 47(13): 4370-4382.
  23. Martinez DI, Oliveira AJFC. Faecal bacteria in *Perna perna* (Linnaeus, 1758) (Mollusca: Bivalvia) for biomonitoring coastal waters and seafood quality. Brazilian Journal of Oceanography 2010; 58(3): 29-35.
  24. Mignani L, Barbieri E, Marques H L A., Oliveira A J F C. Coliform density in oyster culture waters and its relationship with environmental factors. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2013; 48(8): 833-840.

# Microbiologia como indicador da saúde ambiental das lagoas de Ilha Comprida - SP

Edison Barbieri\*

Fátima Lisboa Collaço\*\*

Sônia Assami Doi\*\*\*

Ana Julia Fernandes Cardoso de Oliveira\*\*\*\*

Karina Fernandes Oliveira Rezende\*\*\*\*

514

## Resumo

Com uma área de 150 km<sup>2</sup>, o município de Ilha Comprida tem fontes limitadas de água doce, sedimentos e nutrientes. No entanto, os aspectos sanitários, que visam a Saúde Pública, devem ser avaliados determinando as densidades e a distribuição de indicadores de poluição fecal, principalmente bactérias do grupo de coliformes termotolerantes. Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar as variações sazonais nas densidades de coliformes termotolerantes nas lagoas do município de Ilha Comprida (SP). Para isso, foram coletadas amostras de água, no período entre 2014 e 2016, em lagoas de 13 localidades (Juruvaúva, Cidade do Mar do Sul, Cidade do Mar do Norte, São Januário, Jardim Portugal, Atlântico, Icaraí, Adriana Sul, Adriana Norte, Porto Velho 2, Xandú, Jardim da Barra, Laguna Ponta da Praia), localizada no município de Ilha Comprida (SP). Os resultados mostraram que 21,90% das amostras estavam acima do limite estabelecido pelo CONAMA. Foram encontradas altas densidades de bactérias na lagoa de Icaraí. As médias mais elevadas das densidades de coliformes termotolerantes foram registradas no verão e na primavera. Conclui-se que a variação sazonal interfere com a densidade de coliformes termotolerantes.

**Palavras-chave:** Coliformes Termotolerantes. Saúde Pública. Poluição. Qualidade da Água.

## INTRODUÇÃO

O município de Ilha Comprida tem uma área de 150 Km<sup>2</sup>, associada ao estuário de Cananéia-Iguape-Ilha Comprida, fornecendo um suprimento limitado de água doce, sedimentos e nutrientes<sup>1</sup>. É uma das zonas húmidas mais importantes da costa brasileira em termos de biodiversidade e produtividade natural, reconhecida a nível nacional e internacional como o terceiro ecossistema mais produtivo do Atlântico Sul, devido as suas características ambientais bem preservadas<sup>2</sup>.

Em termos de saúde pública, os aspectos sanitários devem ser focados em estudar as densidades e distribuição de indicadores de poluição fecal, sendo mais comumente usado o grupo coliforme; especialmente o grupo de

coliformes fecais ou termotolerantes<sup>3,4,5,6</sup>.

Os *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Métodos Padrão para o Exame de Água e Águas Residuais) definem o grupo coliforme como todas as bactérias facultativas aeróbicas ou anaeróbicas, gram-negativas, em forma de bastonete, não esporuladas, que fermentam lactose com formação de gás dentro de 48 horas a 35°C. Este grupo inclui organismos que se diferem em suas características bioquímicas, serológicas e de habitat.

Eles podem ser classificados em: *Escherichia*, *Aerobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e outros gêneros que quase nunca aparecem em fezes como a *Serratia*. A bactéria *Escherichia coli*

DOI: 10.15343/0104-7809.201740A507520

\*Instituto de Pesca - APTA - SAA/SP, Cananéia, SP, Brasil.

\*\*Prefeitura Municipal da Ilha Comprida, Departamento de Desenvolvimento Sustentável, Ilha Comprida, SP, Brasil.

\*\*\* Instituto de Biociências, UNESP, Campos de Rio Claro, São Paulo, SP, Brasil.

\*\*\*\*Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

E-mail: edisonbarbieri@yahoo.com.br



é a única espécie no grupo de coliformes termotolerantes cujo habitat exclusivo é o intestino de animais de sangue quente<sup>7</sup>.

Aspectos gerais da influência na sobrevivência das bactérias fecais em ambientes aquáticos foram discutidos por Hughes<sup>8</sup> e Craig et al.<sup>9</sup>. Esses autores relataram que a sobrevivência dos microorganismos, uma vez liberados para a água, é determinado por combinações de fatores físicos e biológicos como a ação da radiação ultravioleta, predação, falta de nutrientes, temperatura, salinidade e níveis de oxigênio. De acordo com *Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental* (CETESB)<sup>10</sup>, a presença de coliformes na água é influenciada por condições de maré, ocorrência de chuvas e influxo turístico durante as estações.

De acordo com GAUTHIER<sup>11</sup>, o risco de contaminação de corpos de água por *E. coli* e em extensão, por enterobactérias patogênicas para humanos, é muito mais pronunciado em águas quentes e ricas em matéria orgânica.

Em trabalhos realizados por Kolm e Andretta<sup>12</sup>, Barbieri et al.<sup>13</sup>, Moreira et al.<sup>14</sup>, analisaram a correlação de fatores físicos, químicos e biológicos com as concentrações das bactérias no meio aquático. Kolm e Andretta<sup>12</sup> verificaram que os valores das bactérias aeróbicas heterotróficas e do total e da *E. coli* foram influenciados pela maré da primavera, principalmente após períodos de fortes chuvas, no estado do Paraná, Brasil.

Barbieri et al.<sup>13</sup> observaram que o índice de precipitação apresentou correlação alta e positiva para os microrganismos analisados em Cananéia, Brasil. Além disso, Moreira et al.<sup>14</sup> constataram, na praia de Jabaquara (Paraty, Brasil), que o aumento da poluição fecal no meio aquático, e conseqüentemente maior contaminação nos bivalves, interagiu com a variação da maré, salinidade e o aumento da população, resultante do período de férias do verão.

No entanto, foi hipotetizado que, no período de verão, as concentrações de coliformes termotolerantes seriam maiores como resultado da maior precipitação e aumento da população no período da estação. Além disso, as maiores concentrações desses microrganismos foram previstas em regiões que resultam em maior produção de efluentes de maior proximidade

com a cidade.

Portanto, este trabalho teve como objetivo analisar as variações sazonais das densidades de coliformes termotolerantes nas lagoas do município de Ilha Comprida (SP).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras de água doce da lagoa foram coletadas, no período entre 2014 e 2016, em 13 localidades situadas no município de Ilha Comprida (SP). A água foi coletada nas lagoas conhecidas como Juruvaúva, Cidade Mar Sul, Cidade Mar Norte, São Januário, Jardim Portugal, Atlântico, Icaraí, Adriana Sul, Adriana Norte, Porto Velho 2, Xandú, Jardim da Barra, Laguna Ponta da Praia. As coordenadas das quais foram registradas por meio do GPS (Sistema de Posicionamento Global), e as transparências das águas foram medidas por um disco Secchi (Tabela 1).

As amostras de água foram coletadas em profundidades de 15 a 30 cm, abaixo da superfície, com o frasco voltado para a direção da corrente<sup>4</sup>. Foram utilizados frascos de vidro de borossilicato neutralizados, previamente autoclavados, e as amostras foram armazenadas em um caixa isotérmico refrigerado para transporte. A metodologia utilizada para amostragem obedece às normas descritas pelos Métodos Padrão para o Exame de Água e Águas Residuais, e o método analítico utilizado para determinar o número mais provável de coliformes (MPN) foi a Técnica de Tubagem Múltipla<sup>4</sup>.

As amostras foram analisadas em duas etapas, sendo o primeiro o teste presumido e depois o teste confirmatório. O primeiro passo foi verificar se as amostras apresentavam contaminação por coliformes. Para isso, as amostras foram diluídas de acordo com a American Public Health Association (APHA)<sup>4</sup> com 5 repetições para cada diluição, além dos tubos de controle, para identificar possíveis resultados falso-positivos. Foram inoculados (a 35 °C durante 24-48 h), 10mL das amostras em caldo de lauril sulfato de sódio em concentração dupla, 1mL e 0,1mL das amostras em concentração única. Os tubos que apresentaram produção de gás e

foram acidificadas (coloração amarelada) foram considerados positivos e a cultura foi utilizada para realizar testes de confirmação.

A segunda etapa consistiu na determinação de coliformes termotolerantes de cada amostra. Para coliformes termotolerantes, as amostras foram incubadas em EC (meio específico para *Escherichia coli* usado como indicador de bactérias entéricas patogênicas) para uma faixa de 18 a 22 h a 44,5°C, onde, novamente, a produção de gás foi verificada. Os resultados

das densidades de coliformes termotolerantes foram expressos como o número mais provável por 100 mL (MPN 100 mL-1).

Utilizou-se ANOVA para a análise estatística do dados após a verificação das distribuições normais (teste estatístico de Shapiro-Wilk) e o teste de Levene foi utilizado para homogeneidade de variância (homocedasticidade). O programa estatístico Assisat 7.6 beta (2013) foi usado para interpretar os dados. As diferenças foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ .

**Tabela 1** – Pontos de coleta no período entre 2014 e 2016, em 13 localidades situadas no município de Ilha Comprida (SP), indicando o nome da lagoa, georeferência, área (ha), transparência (m) e profundidade (m).

Lagoa	Georeferência	Área (há)	Transparência (m)	Profundidade (m)
Juruvaúva	24°56'48.92" 47°49'5.55"	0,08	0,6	2,0
City Mar Sul	24°47'37.98" 47°38'20.74"	0,5	0,9	3,6
City Mar Norte	24°47'33.74" 47°38'14.73"	0,43	0,8	4,0
São Januário	24°47'29.62" 47°37'12.93"	1,24	1,0	1,6
Jardim Portugal	24°46'27.05" 47°36'38.82"	0,36	0,4	3,1
Atlântico	24°45'15.93" 47°34'13.48"	2,3	0,8	1,4
Icaraí	24°44'8.05" 47°32'18.34"	0,52	0,4	1,4
Adriana Sul	24°43'57.13" 47°32'1.34"	0,84	0,8	2,6
Adriana Norte	24°43'49.37" 47°31'50.15"	0,25	0,6	3,0
Porto Velho 2	24°43'38.64" 47°31'29.92"	0,47	0,6	1,0
Xandú	24°43'30.61" 47°31'10.98"	0,12	-	-
Jardim da Barra	24°43'20.30" 47°31'10.99"	1,42	0,8	1,0
Laguna Ponta da Praia	24°46'30.30" 47°32'10.54"	7,7	-	-

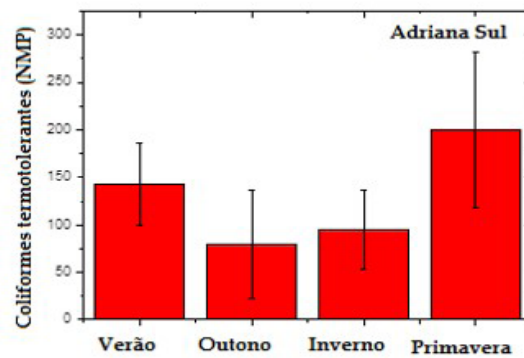
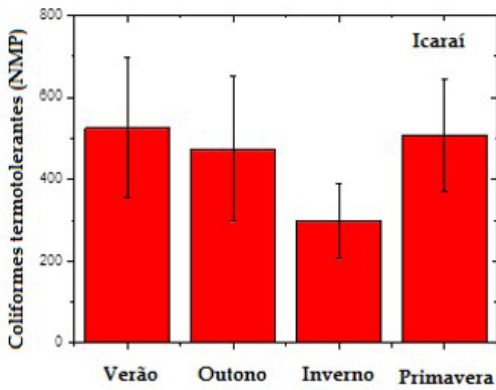
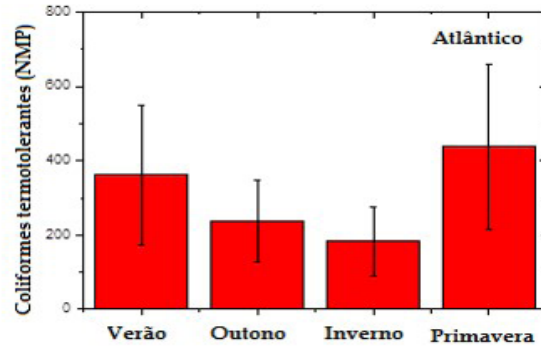
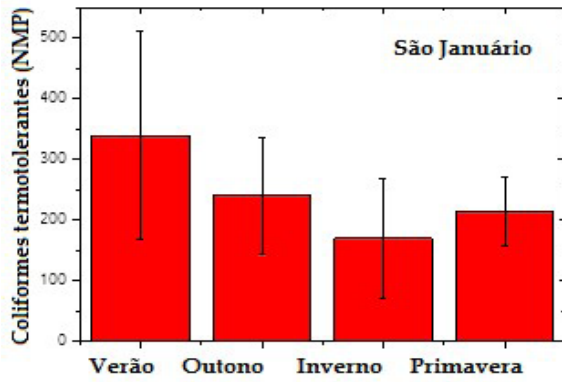
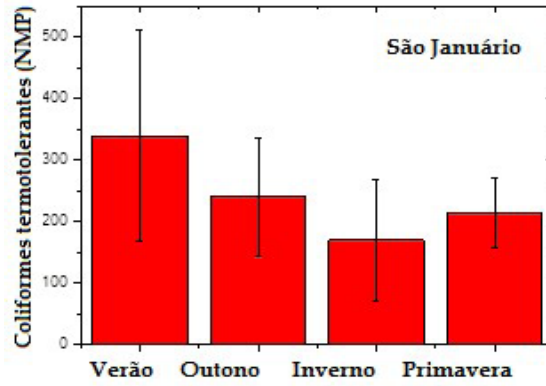
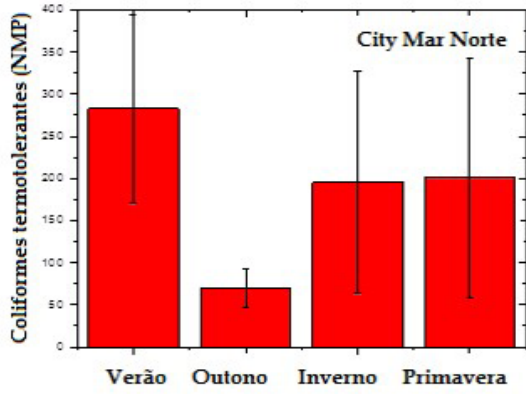
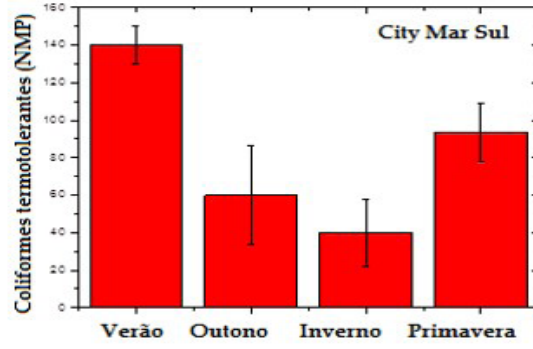
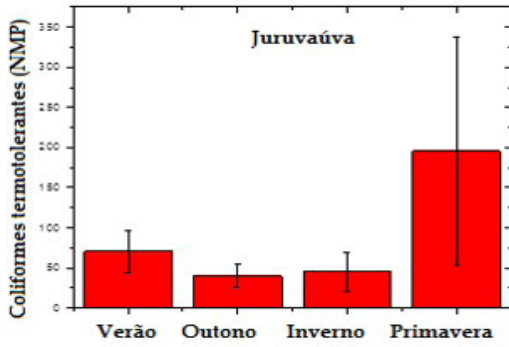
## RESULTADOS

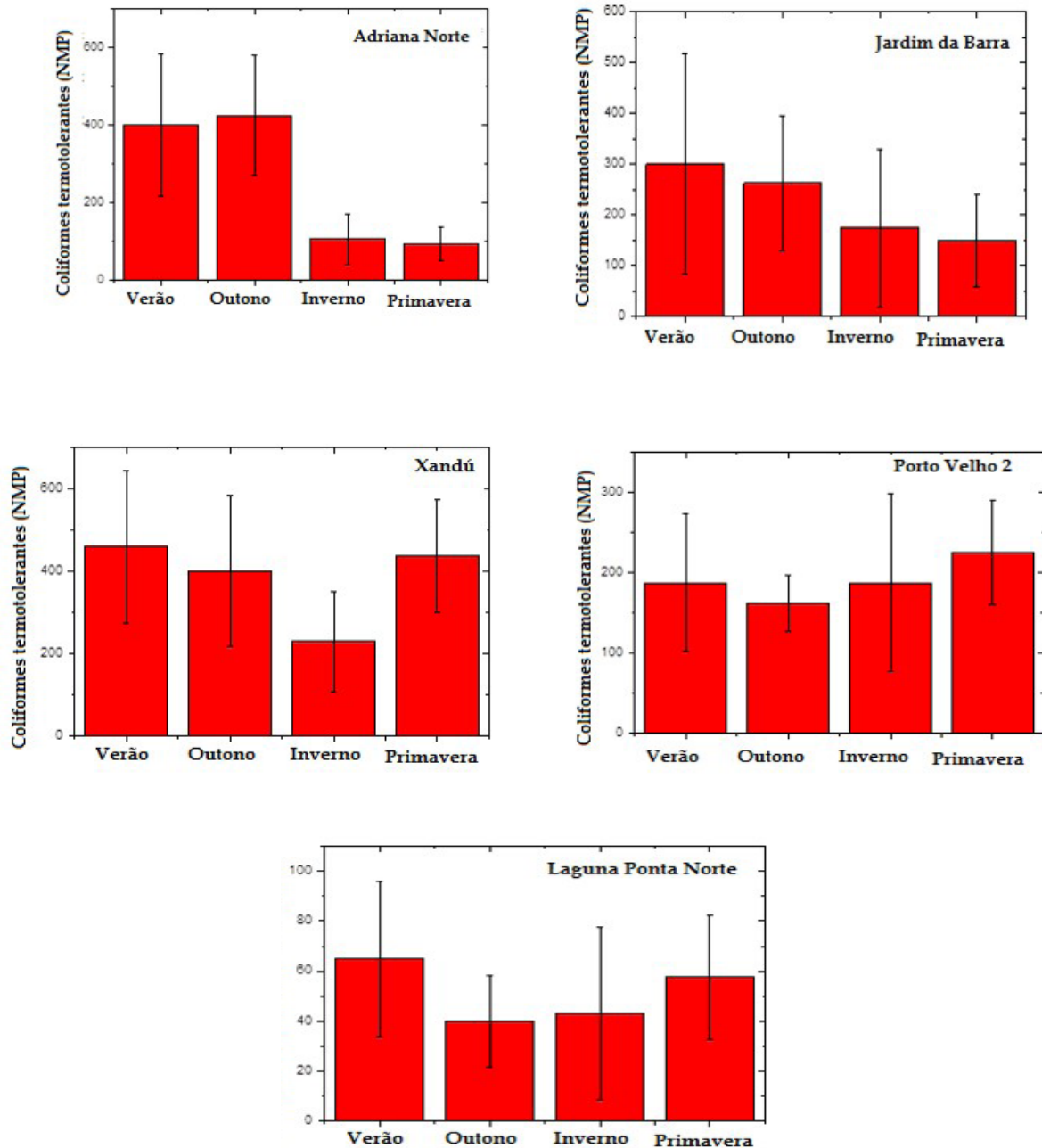
Os resultados mostraram que 21,90% das amostras estavam acima do limite estabelecido pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).

A lagoa de Icaraí foi o local com maior densidade de coliformes termotolerantes ao longo do ano, seguido pelo local de Xandú. Em

contraste, a localização com menor densidade durante o ano foi Laguna Ponta da Praia (Figura 1).

Em relação à variação sazonal, os meses de verão e primavera foram os períodos com o número mais provável (NMP) mais alto de coliformes termotolerantes (Figura 1).





**Figura 1** – Médias (S.D.) do número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes em relação à variação sazonal, nos 13 locais de coleta da Ilha Comprida – SP, in the period between 2014 and 2016.

## DISCUSSÃO

O número mais provável de coliformes termotolerantes correlacionados com mudanças sazonais foi descrito por vários autores. Em estudos com ostras, Mendes et al.<sup>15</sup> observaram diferenças sazonais nas regiões metropolitanas de Recife (PE). Da mesma forma, Doi et al.<sup>6</sup>

observaram que, nos tecidos de ostra, as médias mais elevadas ocorreram em meses de outono, devido à sua característica de ser um animal bioacumulador e filtrante.

No entanto, no mesmo estudo, os autores observaram que as maiores concentrações

de coliformes na cidade de Cananéia (SP) ocorreram nos meses de verão<sup>6</sup>. Ristori et al.<sup>16</sup> também correlacionaram coliformes fecais com variações sazonais, e também observaram maiores concentrações nos meses de verão em estudos na costa sul do Brasil.

Ambos os artigos corroboram com o presente trabalho, no qual as maiores concentrações de coliformes termotolerantes foram observadas no verão em 69,23% dos pontos de coleta. Muitos estudos correlacionaram este aumento na NMP de coliformes no verão com o maior índice de precipitação<sup>6,13,16</sup>, uma vez que essa força tem capacidade para transportar esgoto e resíduos sólidos para cursos de água<sup>17,18,19</sup>.

Esta correlação pode ser interpretada para estimar a contribuição das águas residuais, águas pluviais, águas subterrâneas ou reservatórios de esgoto refletidas em certos tipos de amostras<sup>20</sup>.

Além disso, o aumento da população de turistas na temporada de verão pode contribuir para as maiores concentrações de coliformes, pois indicam um alto nível de contaminação por efluentes liberados na água sem tratamento, causados pelo influxo de turistas e grandes volumes pluviométricos que aumentam o fluxo de esgoto gerado naquele momento<sup>16</sup>.

As densidades de coliformes encontradas nas águas das lagoas foram inferiores às encontradas na água de corpos hídricos poluídos, corroborando os resultados dos estudos de Vieira et al.<sup>18</sup>, que indicaram maior

contaminação da água em diferentes estações.

Os altos valores de coliformes encontrados neste trabalho, na lagoa de Icaraí podem ser o resultado da proximidade da cidade com sua saída de efluentes, considerada a principal causa da contaminação da água. Além disso, Ramos et al.<sup>21</sup>, analisando a quantidade de coliformes em alguns pontos da Baía do Sul de Santa Catarina, descobriram que os pontos de coleta com valores mais elevados são regiões que não permitem circulação eficiente de água, o que torna difícil diluir o desperdício (quando ocorrem despejos).

Verificou-se que todas as densidades de coliformes termotolerantes detectados durante este estudo estavam dentro dos limites estabelecidos pelo CONAMA<sup>7</sup>; embora tenha sido descoberto que em alguns períodos do ano os níveis dessas bactérias eram muito altos. A densidade de microorganismos na lagoa indica o nível de contaminação no momento da coleta, mas varia de uma lagoa para outra e também depende das condições ambientais e meteorológicas, bem como da atividade geral do organismo<sup>12,22</sup>.

É necessário o monitoramento contínuo da qualidade microbiológica da água doce utilizada para recreação, devido à importância da saúde pública nessas lagoas. Diferentes resultados foram descritos por Vieira et al.<sup>18</sup>, na medida em que descobriram que a contaminação da água doce do rio Pacoti - CE era maior no inverno.

## CONCLUSÃO

Embora o valor médio geral dos coliformes termotolerantes esteja dentro dos critérios estabelecidos pela legislação em vigor, alguns locais apresentam altas densidades de

coliformes.

Conclui-se também que a variação sazonal interfere com a densidade de coliformes termotolerantes.

## REFERÊNCIAS

1. Barcellos RL, Berbel GBB, Braga ES, Furtado VV. Distribuição e características do fósforo sedimentar no Sistema Estuarino Lagunar de Cananéia-Iguape, Estado de São Paulo, Brasil. *Geochimica Brasiliensi* 2005; 19(1): 22-36.
2. UNESCO- United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization. World Network of Biosphere Reserves. Santa Catarina: The MAB Program; 2005.
3. Almeida RMA, Hussar GJ, Peres MR, Ferriani-Junior AL. Qualidade microbiológica do Córrego "Ribeirão dos Porcos" no município de Espírito Santo do Pinhal – São Paulo. *Revista Engenharia Ambiental* 2004; 1(1): 51-56.
4. APHA- American Public Health Association. Standard Methods for the examination of water and wastewater. New York: American Public Health Association; 2005.
5. Doi SA, Barbieri E, Marques HLA. Densidade colimétrica das áreas de extrativismo de ostras em relação aos fatores ambientais em



- Cananea (SP). Engenharia Sanitária e Ambiental 2014; 19(2): 165-171.
6. Doi SA, Oliveira AJFC, Barbieri E. Determinação de coliformes na água e no tecido mole das ostras extraídas em Cananéia, São Paulo, Brasil. Engenharia Sanitária e Ambiental (Online) 2015; 20(1): 111-118.
  7. CONAMA- Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº357, do dia 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil; 2005.
  8. Hughes KA. Influence of seasonal environmental variables on the distribution of presumptive fecal coliforms around a research station in Antarctica. Applied Environmental Microbiology 2003; 69(8): 4884-4891.
  9. Craig DL, Fallowfield HJ, Cromar NJ. Use of microcosms to determine persistence of Escherichia coli in recreational coastal water and sediment and validation with in situ measurements. Journal and Applied Microbiology 2004; 96(5): 922-930.
  10. CETESB- Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Qualidade das praias litorâneas no estado de São Paulo 2013. São Paulo: CETESB; 2014.
  11. Gauthier MJ, Flatau GN, Clement RL, Munro PM. Sensitivity of Escherichia coli cells to seawater closely depends on their growth stage. The Journal of Applied Bacteriology 1992; 73(3): 257-262.
  12. Kolm HE, Andretta L. Bacterioplankton in different tides of the Perequê tidal creek, Pontal do Sul, Paraná, Brazil. Brazilian Journal of Microbiology 2003; 34(2): 97-103.
  13. Barbieri E, Bondioli AC, Woiciechovski E, Zapotoski SMK. Microbiology quality of the oysters cultivation water marketed in Cananea-SP, Brazil. O Mundo da Saúde 2012; 36(4): 541-547.
  14. Moreira AS, Leao MVP, Santos SSF, Jorge AOC, Silva CRG. Qualidade sanitária da água e de bivalves Iphigenia brasiliensis (Lamarck, 1818) na praia do Jabaquara, Paraty, RJ. Revista Biociências 2011; 17(1): 66-71.
  15. Mendes ES, Mendes PP, Lopes CAM, Coelho MIS, Souza JCR, Cruz MCS, Assis AS. Sazonalidade dos microrganismos em ostras consumidas na grande Recife, PE. Revista Higiene Alimentar 2004; 18(116/117): 79-87.
  16. Ristori CA, Iaria ST, Gelli DS, Rivera ING. Pathogenic bacteria associated with oysters (Crassostrea brasiliana) and estuarine water along the south coast of Brazil. International Journal of Environmental Health Research 2007; 17(4): 259-269.
  17. Ballesteros, ER, Barbieri, E, Pinto, AB, Oliveira, RS, Oliveira, AJFC. Qualidade microbiológica de ostras (Crassostrea sp) e de águas coletadas em cultivos e em bancos naturais de Cananéia. Boletim do Instituto de Pesca 2016; 42(1): 134-144.
  18. Vieira RHSF, Atayde MA, Carvalho EMR, Carvalho FCT, Fonteles-Filho AA. Contaminação fecal da ostra Crassostrea rhizophorae e da água de cultivo do estuário do rio Pacoti (Eusebio, Estado de Ceara): Isolamento e identificação de Escherichia coli e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science 2008; 45(3): 180-189.
  19. Miquelante FA, Kolm HE. Indicadores microbiológicos de poluição fecal na desembocadura da Gamboa Olho d'Água, Paraná: subsídio para o monitoramento da balneabilidade do Brasil. Biology Health Science 2011; 17(1): 21-35.
  20. Oliveira BSS, Cunha AC. Correlação entre qualidade da água e variabilidade da precipitação no sul do Estado do Amapá. Revista Ambiente e Água 2014; 9(2): 261-275.
  21. Ramos RJ, Pereira MA, Miotto LA, Faria LFB, Silveira-Junior N, Vieira CRW. Microrganismos indicadores de qualidade higiênico-sanitária em ostras (Crassostrea gigas) e águas salinas de fazendas marinhas localizadas na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, Brasil. Revista do Instituto Adolfo Lutz 2010; 69(1): 29-37.
  22. Madoux-Humery AS, Dorner S, Sauvé S, Aboulfadl K, Galarneau M, Servais P, Prévost M. Temporal variability of combined sewer overflow contaminants: Evaluation of wastewater micropollutants as tracers of fecal contamination. Water Research 2013; 47(13): 4370-4382.
  23. Martínez DI, Oliveira AJFC. Faecal bacteria in Perna perna (Linnaeus, 1758) (Mollusca: Bivalvia) for biomonitoring coastal waters and seafood quality. Brazilian Journal of Oceanography 2010; 58(3): 29-35.
  24. Mignani L, Barbieri E, Marques H L A., Oliveira A J F C. Coliform density in oyster culture waters and its relationship with environmental factors. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2013; 48(8): 833-840.