

QUALIDADE DA ÁGUA E SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* ISOLADAS DO RIO CAPIVARI DE JAGUARIAÍVA - PR E DAS NASCENTES DA FLONA DE PIRAÍ DO SUL - PR

Vívian Martins dos Santos¹

Sabrina Vitória Lodi Rodrigues²

Karina Ferreira de Barros³

Danielle Hiromi Nakagawa⁴

Saúde Ambiental

RESUMO

A bactéria *Escherichia coli* faz parte de um grupo de bactérias conhecida como Coliformes e pode ser considerada indicador de contaminação fecal por ter como habitat principal o intestino de animais de sangue quente. Ao longo de lagos, rio ou nascente pode haver cargas de efluentes e estes podem ocasionar a resistência a antibióticos dos microrganismos presentes. Sabendo disso, este trabalho tem como objetivo analisar a qualidade microbiológica da água e analisar o perfil de sensibilidade antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli*. Para isso, foram coletadas amostras das nascentes da Flona de Piraí do Sul e do Rio Capivari de Jaguariaíva em dois meses sucessivos, em seguida foi utilizado a técnica do Número Mais Provável, para realizar teste confirmativo para coliformes totais e termotolerantes. O isolamento de colônias de *Escherichia coli* foi realizado em meio de cultura diferencial e confirmados pelo método de coloração de Gram e teste de identificação bioquímica com sistema Bacitray, posteriormente foram testados quanto a sensibilidade antimicrobiana frente a antibióticos. Os resultados apresentaram positivos para coliformes, sendo encontrado *Escherichia coli* nas amostras do Rio Capivari nos dois meses, e nas nascentes apenas no primeiro mês. Todas bactérias isoladas não apresentaram resistência aos antibióticos testados, porém, algumas apresentaram perfil intermediário. Com estes resultados conclui-se que possivelmente houve excretas de humanos e/ou animais nas nascentes e no Rio Capivari, e a bactérias analisada até o presente momento não tem resistência aos antibióticos testados.

Palavras-chave: Coliformes totais; Coliformes termotolerantes; Antibióticos.

INTRODUÇÃO

A preservação da qualidade das águas é de grande importância e necessita de atenção por parte das autoridades sanitárias, pois a sua contaminação por excretas de origem humana e animal podem torná-las um veículo de transmissão de patógenos. E o monitoramento da qualidade da água do rio pode servir para fornecer dados de comparação das melhorias implantadas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

A detecção de agentes patogênicos pode ser feita de forma indireta através de microrganismos indicadores, que se referem a um tipo de microrganismo cuja presença na água é evidência de que ela está poluída com material fecal de origem humana ou de outros

¹Alunado Curso Técnico em Biotecnologia – Instituto Federal do Paraná – Campus Jaguariaíva, vivian03kovalhuk@gmail.com

²Alunado Curso Técnico em Biotecnologia – Instituto Federal do Paraná – Campus Jaguariaíva, sabrinavl16@gmail.com

³Analista Ambiental – ICMBio – Floresta Nacional de Piraí do Sul, Karina.barros@icmbio.gov.br

⁴Prof. Me. – Instituto Federal do Paraná – Campus Jaguariaíva, danielle.nakagawa@ifpr.edu.br

animais de sangue quente (PELCZAR, 1996). Microrganismos reconhecidos como indicadores de material fecal são os coliformes termotolerantes dentre eles em específico a bactéria *Escherichia coli*.

O Parque Linear do Rio Capivari é um projeto ambiental de recuperação do rio Capivari, com extensa área verde, no centro da cidade, sendo considerado como um dos principais cartões postais de Jaguariaíva. (PREFEITURA MUNICIPAL DE JAGUARIAÍVA, 2017). A Floresta Nacional (FLONA) de Piraí do Sul é uma Unidade de Conservação de Uso Sustentável localizada no município de Piraí do Sul-PR dentro dos domínios da Mata Atlântica. A rede de drenagem da área da Flona de Piraí do Sul é caracterizada por cursos de água com largura inferior a dois metros, sendo que duas nascentes são utilizadas para abastecimento interno e de parte da população do entorno (ICMBIO, 2016).

Diante disso, este trabalho tem como objetivo analisar a qualidade microbiológica da água do Rio Capivari da cidade de Jaguariaíva - PR e das nascentes da Floresta Nacional de Piraí do Sul - PR e analisar o perfil de sensibilidade antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli*.

METODOLOGIA

As coletas das amostras foram realizadas nos meses de maio e junho de 2018 nas nascentes da Floresta Nacional de Piraí do Sul - PR e no Rio Capivari da cidade de Jaguariaíva - PR, para isto foram utilizados frascos assépticos a fim de garantir que não haveria contaminação por agentes externos. As coletas foram realizadas em dois meses sucessivos com intervalo de trinta dias. As amostras foram direcionadas ao laboratório de ciências do Instituto Federal do Paraná - Campus Jaguariaíva para iniciar a análise quantitativa de coliformes. Para análise de coliformes totais (CT) e termotolerantes (CTT) foi utilizada a Técnica do Número Mais Provável – NMP (Silva et al. 2007).

Para a confirmação de *Escherichia coli* foi retirada uma alçada dos tubos de E.C. e transferidas para placas com meio Levine Eosina Azul de Metileno (L-EMB), sendo este um meio seletivo para *Escherichia coli*. As bactérias isoladas foram caracterizadas quanto às características morfotintoriais e as bactérias gram-negativas foram submetidas ao teste de identificação bioquímica (Bactray), seguindo as Instruções de Uso (Laborclin, 2015).

Após o resultado positivo para *Escherichia coli*, foi realizada a escala 0,5 MC Farland, onde com Swab estéril foi semeado da suspensão bacteriana para a placa com Ágar Mueller Hinton de forma suave e em todas as direções na placa e em seguida, seguiu-se a metodologia

descrita por Kirby-Bauer (Laborclin, 2011). Para este teste foram utilizados sete discos de antibióticos: amicacina (AMI) 30 μ g, ampicilina (AMP) 10 μ g, cloranfenicol (CLO) 30 μ g, estreptomicina (EST) 10 μ g, neomicina (NEO) 30 μ g, nitrofurantoina (NIT) 300 μ g e tetraciclina (TET) 30 μ g.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão representados os resultados do NMP de CT e CTT dos meses analisados, onde podemos observar que houve uma queda no NMP de ambas amostras, exceto na amostra da Nascente 1 que houve um aumento de CTT.

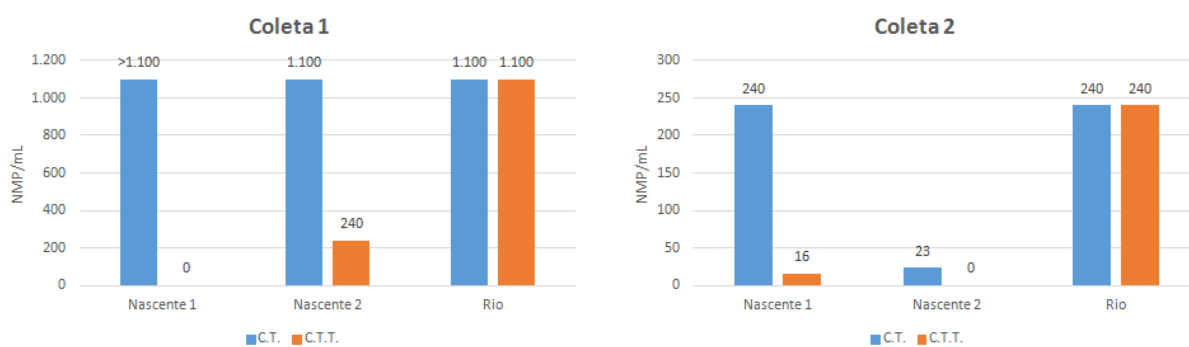


Figura 1. Quantidade de coliformes totais e termotolerantes das amostras de água nas duas coletas realizadas.
 Fonte: Autoria própria.

Observou-se que nas duas análises realizadas foram encontrados CT nas amostras de água, o que é esperado, uma vez que os microrganismos deste grupo, segundo Von Sperling (2005), podem ser encontrados, tanto em amostras de água quanto em solos. Assim como nos trabalhos de Daneluz (2015) e Valia (2002) que também encontraram a presença de CT em suas análises em amostras de água de nascentes e poços rasos.

Em relação a análise de CTT, observou que houve presença na Nascente 2 na primeira análise e na segunda na Nascente 1 e, no Rio Capivari, foi verificado nas duas análises. Os microrganismos deste grupo podem indicar a contaminação de origem fecal, porém, não dá esta garantia, pois é possível existir CTT de vida livre (VON SPERLING, 2005).

Segundo Von Sperling (2005) a bactéria que nos dá garantia de contaminação exclusivamente fecal é a bactéria *Escherichia coli* (principal bactéria do grupo coliformes). No presente trabalho foram encontrados esta espécie em amostras da Nascente 2 e na amostra do Rio Capivari no primeiro mês, enquanto na segunda análise foi isolado apenas na amostra do Rio Capivari, o que pode indicar que ao longo do curso do rio a contaminação fecal de origem desconhecida tem sido contínua. Sendo que nas nascentes a *Escherichia coli* não foram encontradas nas duas análises, o que pode indicar uma contaminação pontual por fezes de

algum animal, visto que as nascentes são situadas dentro de uma Unidade de Conservação protegida por Lei o que dificulta a contaminação das nascentes por esgotos domésticos e efluentes industriais.

Ao todo foram isoladas cinco cepas de *Escherichia colie* estes apresentaram perfil de sensibilidade antimicrobiana sensível ou intermediário aos antibióticos analisados conforme descrito no Quadro 1.

	Isolado	AMI (30µg)	AMP (10µg)	CLO (5µg)	EST (10µg)	NEO (30µg)	TET (30µg)
Cepa 1	Rio Capivari	S	S	S	S	S	S
Cepa 2	Rio Capivari	S	S	S	S	S	S
Cepa 3	Rio Capivari	S	S	S	S	I	S
Cepa 4	Nascente - FLONA	S	S	S	S	S	S
Cepa 5	Nascente - FLONA	S	S	S	S	S	S

Quadro 1. Perfil de sensibilidade antimicrobiana dos isolados de *Escherichia coli* frente aos antibióticos testados (S: sensível; I: intermediário; R: resistente). Fonte: Autoria própria.

Segundo Fuentefria (2008), os rios são os principais receptores de poluentes como esgoto de origem tanto doméstico e industrial quanto hospitalar, podendo aumentar a quantidade de presença de antibióticos neste meio e consequentemente ocasionar a resistência bacteriana. Porém, não se observou neste trabalho a resistência a antibióticos das cepas isoladas. O que difere do trabalho de Vasconcelos (2010) que verificou que em 36,4% dos isolados de *Escherichia coli* do açude apresentaram resistência a pelo menos um antibiótico testado. Assim como no trabalho de Martinhago (2008) onde todos os de água superficial e subterrânea apresentaram resistência a pelo menos um antibiótico. Já no trabalho de Canal (2010) observou-se que 16.5% dos isolados de uma lagoa foram considerados multirresistentes.

CONCLUSÕES

Através dos resultados, pode-se concluir que há presença de coliformes nas amostras das nascentes da FLONA de Piraí do Sul e do Rio Capivari, sendo que o rioapresentou contaminação por *Escherichia colinas* duas análises realizadas. Verificou-se que pelos isolados e antibióticos testados neste trabalho não se observou que o Rio Capivari oferece ambiente com risco potencial de transmissão de gene de resistência, pois nenhuma cepa apresentou resistência aos antibióticos.

REFERÊNCIAS

- CANAL, N. Caracterização de resistência a antimicrobianos e diversidade genética em *Escherichia coli* isoladas de amostras de água da Lagoa dos Patos, RS. Porto Alegre, 2010.
- DANELUZ, D.; TESSARO, D. Padrão físico-químico e microbiológico da água de nascentes e poços rasos de propriedades rurais da região sudoeste do Paraná. São Paulo, 2015.
- FUENTEFRIA, D. B. et al. *Pseudomonasaeruginosa*: disseminação de resistência antimicrobiana em efluente hospitalar e água superficial. Porto Alegre, 2008.
- GRIZA, F. T.; ORTIZ, K. S.; GEREMIAS, D.; THIESEN, F. V. Avaliação da contaminação por organofosforados em águas superficiais no município de Rondinha – Rio Grande do Sul. Quím. Nova. v. 31, n. 7, p. 1631-1635, 2008.
- ICMBIO. Diagnóstico Socioambiental da Floresta Nacional de Piraí do Sul. Plano de Manejo - Vol.1. Piraí do Sul, 2016.
- LABORCLIN. Manual para Antibiograma. Difusão em disco (Kirby& Bauer). Disponível em: <http://www.interlabdist.com.br/dados/noticias/pdf_190.pdf> Acesso em 11 de jul. 2018.
- MARTINHAGO, M. W. et al. Avaliação do Perfil de Suscetibilidade das Cepas de *Escherichia coli* Isoladas da Água do Lago Municipal de Cascavel, Paraná. Porto Alegre, 2008.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
- PELCZAR, M. J. Microbiologia: conceitos e aplicações. 2. ed. São Paulo: MAKRON books, v. 2, 1996.
- PREFEITURA MUNICIPAL DE JAGUARIAÍVA. Parque Linear do Rio Capivari. Disponível em: <<http://www.jaguariaiva.pr.gov.br/index.php/secretarias-e-orgaos/industria-com-e-turismo/turismo/pontos-turisticos/637-parque-linear-do-rio-capivari>>. Acesso em: 11 jul. 2018.
- SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. de A. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 3 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007.
- SILVEIRA, G.P. et al. Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. Quimica Nova. Florianópolis, 2006.
- VALIAS, A. P. G.S. Avaliação da qualidade microbiológica de águas de poços rasos e de nascentes de propriedades rurais do município de São João da Boa Vista - São Paulo. Umuarama, 2002.
- VASCONCELOS, F.R. et al. Perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas do Açude Santa Anastácio, Ceará, Brasil. São Paulo, 2010.
- VON SPERLING, M. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 3. ed. Belo Horizonte: SEGRAC, v. 1, 2005.