

ANÁLISE DE COLIFORMES EM ÁGUA DE RIOS E POÇOS EM CURITIBANOS.

ROSÁ, F.P.¹; RIBEIRO, G. F.²; CAMARGO, L. G.¹; DE OLIVEIRA, A. B. R.¹; CRUZ, S.P.¹

¹Universidade Federal de Santa Catarina; ² Universidade Estadual de Londrina

RESUMO

A água é um recurso essencial para a vida terrestre. Entretanto, este recurso tão valioso pode atuar como um veículo de diversos microrganismos, como coliformes fecais, que são capazes de causar grandes prejuízos à saúde humana e animal, quando se encontra em condições precárias de saneamento. Isso é bem verificado principalmente em comunidades rurais, que não são abrangidas pelas redes de abastecimento de água tratada e esgoto. O presente trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica de rios e poços em Curitiba (SC) de amostras procedentes do Rio Marombas, Rio Correntes, Rio Canoas e Rio Pessegueirinho, bem como, poços adjacentes aos mesmos, na primavera de 2021 e verão de 2022. Para as amostras provenientes de rios, as maiores concentrações de coliformes foram observadas no Rio Pessegueirinho em ambas as análises, com $1.100\ 100\text{mL}^{-1}$. Para as amostras oriundas de poços, os maiores valores foram encontrados nos poços adjacentes aos rios Canoas e Pessegueirinho, com até $>16,0\ 100\text{mL}^{-1}$. Com os resultados, evidencia-se alto grau de contaminação por coliformes fecais nessas águas, o que representa riscos para a saúde dos consumidores.

Palavras-chave: Microrganismos patogênicos, *E.coli*; Coliformes fecais; Recursos hídricos.

INTRODUÇÃO

A qualidade da água é o fator mais importante para garantir a saúde pública. Quando este recurso encontra-se em condições sanitárias precárias, o mesmo atua como um veículo na disseminação de diversos microrganismos patogênicos em proporções pandêmicas, como a bactéria *Vibrio cholerae*, agente etiológico da cólera, além de outros, como por exemplo *Escherichia coli*, *Salmonella enterica (typhi)*, *Pseudomonas aeruginosa*, o Vírus da Hepatite A, *Giardia intestinalis* e o *Schistosoma* (MADIGAN *et al.*, 2021).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (2019), a nível mundial, estima-se que pelo menos 2 bilhões de pessoas utilizam água contaminada por fezes para fins de consumo, e que a falta de água potável, de saneamento básico e da higiene das mãos seja responsável por cerca de 829 mil mortes por diarreia a cada ano. Posto isso, ressalta-se a importância do saneamento de recursos hídricos, e do monitoramento da qualidade microbiológica da água. Para tanto, são utilizados como microrganismos indicadores aqueles que estejam presentes em abundância no trato intestinal de humanos e animais. Estes microrganismos são denominados coliformes, e incluem os seguintes gêneros de bactérias: *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Escherichia* (MADIGAN *et al.*, 2021).

Os coliformes são bacilos Gram-negativos, não formadores de esporos, anaeróbicos facultativos, que fermentam a lactose produzindo gás a 35 °C de temperatura, por 48 horas. Estes normalmente não causam grandes prejuízos à saúde, mas sua presença na água é um indício de contaminação por fezes, uma vez que habitam o ambiente intestinal. Entretanto, a contaminação fecal dos recursos hídricos é responsável pela disseminação de patógenos de ciclo fecal-oral. Porém, o habitat dos coliformes totais não é estritamente entérico, e para confirmação da presença de fezes em uma amostra, é necessário fazer a pesquisa de coliformes fecais ou termotolerantes (MADIGAN *et al.*, 2021; TORTORA *et al.*, 2021).

A principal representante dos coliformes termotolerantes é a *Escherichia coli*, que habita somente o trato intestinal de animais homeotérmicos. Este grupo de microrganismos recebe a denominação de termotolerante pois os mesmos são capazes de fermentar manitol e lactose a 44,5 °C de temperatura em 24 horas, produzindo gás e ácido (MADIGAN *et al.*, 2021; TORTORA *et al.*, 2021).

Nesse sentido, a contaminação dos corpos d'água por bactérias está diretamente ligada à disseminação de microrganismos resistentes a antibióticos. Diversos estudos têm demonstrado a presença desses microrganismos nos mais diversos ambientes e ecossistemas naturais, diferente do que se acreditava nas últimas décadas, que os mesmos estariam restritos a ambientes hospitalares, onde o uso de antimicrobianos é mais frequente (FUNASA, 2013; MADIGAN *et al.*, 2021).

A disseminação da resistência antimicrobiana é um fenômeno mundial e é responsável por milhares de mortes todos os anos, visto que a infecção por bactérias resistentes possui maior gravidade, demora mais para ser completamente eliminada e piora o prognóstico geral dos pacientes. Quando estas bactérias estão presentes na água, podem ser ingeridas por humanos e animais se não receber o tratamento adequado (WHO, 2017; TORTORA *et al.*, 2021).

Com base no exposto, demonstra-se a necessidade de realizar o monitoramento da qualidade de recursos hídricos de rios e poços na região, como a ocorrência de coliformes fecais, uma vez que não são contemplados pelas redes de abastecimento de água tratada e de coleta de esgoto, para fins de potabilidade, irrigação entre outros usos nestas áreas, pois são fontes alternativas às comunidades.

MATERIAIS E MÉTODOS

A área de estudo conta com rios e poços adjacentes no município de Curitiba, localizado no interior de Santa Catarina, na Mesorregião Serrana, essa região está inserida na sub-bacia hidrográfica do Rio Canoas, situado a 987 metros de altitude, com área da unidade territorial de 434,865 m² (IBGE, 2022).

Os locais que integram este estudo pertencem ao curso de rios que abastecem diversas cidades do Planalto Catarinense, sendo eles: Marombas, Correntes, Canoas e Pessegueirinho. Na Tabela 1 os pontos de amostragem estão georreferenciadas, e as respectivas coordenadas

geográficas (latitude e longitude) que foram obtidas a partir de GPS (Global Positioning System) durante as coletas. Há quatro pontos de coleta, sendo um em cada rio e de poços anexos aos mesmos.

Tabela 1 – Coordenadas geográficas dos pontos de coleta de água em Curitiba, SC.

Ponto	Latitude (S)	Longitude (O)	Local correspondente
1	27°11'1.94"	50°36'41.20"	Rio Marombas
2	27°12'28.20"	50°32'31.90"	Poço adjacente ao Rio Marombas
3	27°10'23.41"	50°44'19.30"	Rio Correntes
4	27° 8'7.40"	50°42'2.76"	Poço adjacente ao Rio Correntes
5	27°27'40.31"	50°37'3.12"	Rio Canoas
6	27°27'46.23"	50°37'8.36"	Poço adjacente ao Rio Canoas
7	27°16'18.93"	50°34'30.36"	Rio Pessegueirinho
8	27°16'26.60"	50°34'35.80"	Poço adjacente ao Rio Pessegueirinho

Fonte: Elaborada pelo autor (2022).

Foram realizadas duas coletas, sendo uma no mês de novembro de 2021 (correspondendo a primavera), e outra no mês de fevereiro de 2022 (correspondendo ao verão). Em cada ponto, foi realizada a coleta de três sub-amostras de cerca de 100mL de água. As amostras foram armazenadas em frascos de vidro graduado que foram submetidos a esterilização em autoclave a 121°C, contendo duas gotas de Tioissulfato de Sódio a 10%. Após coletada as amostras, as mesmas foram mantidas refrigeradas em caixa de isopor contendo gelo rígido, até a chegada ao laboratório. As amostras foram processadas no mesmo dia da coleta. Imediatamente após a chegada no laboratório, as amostras foram inoculadas em Caldo Lactosad, contendo um tubo de Durhan invertido no interior, de acordo com a técnica de tubos múltiplos para análises de coliformes. Essa etapa corresponde ao teste presuntivo.

Para as amostras oriundas de rios foram utilizadas três séries de três tubos, com as seguintes determinações: na primeira série havia 10mL de caldo lactosado em dupla concentração em cada tubo, onde foram inoculados 1mL de amostra, obtendo uma diluição 1:1. Na segunda série, composta por 10mL de caldo lactosado em concentração simples, foi inoculado 1mL de amostra, com diluição 1:10. Por fim, na última série contendo também 10mL de caldo lactosado, porém em concentração simples, foi inoculado apenas 0,1mL de amostra, obtendo por fim uma diluição 1:100 (APHA, 2012).

Para as amostras oriundas de poços, foram inoculados 10mL de amostra em cinco tubos, cada um contendo 10mL de caldo lactosado em concentração simples, resultando em 1:1 de diluição (FUNASA, 2013). Todos os tubos foram identificados e então incubados em estufa bacteriológica, a 35°C por um período de 48h.

Após o período de 48h os tubos foram retirados da estufa para a leitura dos resultados. Para a determinação dos resultados positivos, o parâmetro adotado foi a presença de crescimento bacteriano, observado pela turvação do caldo, associada a presença de bolha de gás no interior do tubo de Durhan, indicando fermentação da lactose pelo microrganismo cultivado.

Os tubos que apresentaram resultados positivo nessa etapa foram reservados para seguir para a realização do teste de coliformes fecais. Nelo, o procedimento escolhido consistiu em homogeneizar a suspensão bacteriana obtida nos tubos com resultado positivo no teste anterior, com o auxílio de uma alça de platina previamente flambada em uma chama de lamparina e resfriada. Foi realizado então o repique transferindo uma alíquota do conteúdo para tubos de ensaio contendo 5mL de caldo EC, que é um meio específico para o crescimento de *E. coli*, contendo um tubo de Durhan invertido em seu interior (ANVISA, 2004). Após realizado o repique, os tubos foram levados à estufa bacteriológica por 24h a 44,5°C. Posteriormente ao intervalo de incubação, os tubos foram retirados da estufa para a interpretação dos resultados. A metodologia utilizada para determinar os resultados de coliformes fecais foi a mesma utilizada no teste presuntivo.

A partir da Técnica de Tubos Múltiplos, com base no número de tubos com resultado positivo no teste de coliformes fecais, o número de coliformes foi estimado a cada 100 mL de amostra utilizando-se o Número Mais Provável (N.M.P. 100 mL⁻¹). Para amostras oriundas de poços, utilizou-se a tabela para resultados positivos quando 5 porções de 10 mL são examinadas, com limite de confiança de 95%, disponível no Manual Prático de Análise de Água (FUNASA, 2013). Já para as amostras procedentes de rios, utilizou-se a tabela para séries de 3 tubos com inóculos de 10 mL, 1 mL e 0,1 mL, e respectivos intervalos de confiança de 95%, disponível no *Bacteriological Analytical Manual* (BLODGETT, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a análise de primavera, os valores médios de coliformes fecais nas amostras provenientes de rios variaram de 191 a >1.100 100mL⁻¹, enquanto para poços estes variaram de < 2,2 até > 16,0 · 100mL⁻¹ (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores médios de coliformes fecais em águas de rios e poços provenientes de 8 locais distintos. Dados obtidos em novembro de 2021, Curitiba, SC.

Pontos (rios)	Média de coliformes fecais (N.M.P. 100 mL ⁻¹)	Pontos (poços)	Média de coliformes fecais (N.M.P. 100 mL ⁻¹)
1	886,66	2	<2,2
3	57,33	4	<2,2
5	191	6	>16,0
7	>1.100	8	>16,0

Fonte: Elaborada pelo autor (2022).

Para a análise de verão, os valores médios de coliformes fecais nas amostras provenientes de rios variaram de 733 a $> 1.100 \text{ 100 mL}^{-1}$, enquanto para poços estes variaram de 5,1 até $>16,0 \text{ 100mL}^{-1}$ (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores médios de coliformes fecais em águas de rios e poços provenientes de 8 locais distintos. Dados obtidos em fevereiro de 2022, Curitiba, SC.

Pontos (rios)	Média de coliformes fecais (N.M.P. 100 mL^{-1})	Pontos (poços)	Média de coliformes fecais (N.M.P. 100 mL^{-1})
1	830	2	5,1
3	733,33	4	$>16,0$
5	745,33	6	$>16,0$
7	>1.100	8	$>16,0$

Fonte: Elaborada pelo autor (2022).

Os maiores valores de *E. coli* foram observados nas amostras oriundas do Rio Marombas e do Rio Pessegueirinho em ambas análises, eles revelam o grande aporte de matéria fecal nos rios, a exemplo do observado em outras localidades do país. Um estudo realizado por RIBEIRO *et al.* (2021), onde foi realizada análise da qualidade microbiológica de água de rios da região de Curitiba confirmou contaminação com altos valores de coliformes fecais no Rio Pessegueirinho. A qualidade da água do rio é afetada pela liberação de efluentes industriais no corpo hídrico, e, portanto, a área rural do município deve ter monitoramento no esgotamento sanitário, visto que a concentração de coliformes é maior do que a permitida (CONAMA, 2005).

Storto *et al.* (2021), avaliou a dinâmica sazonal da contaminação microbiana na água no Parque Ecológico do Tietê, em São Paulo, entre os meses de janeiro a dezembro de 2019. Entre janeiro a novembro foram observadas as maiores concentrações de *E. coli* nas amostras da lagoa principal do parque e na área de recreação, correspondendo a 300 e 400 UFC 100 mL^{-1} , respectivamente. Estes valores revelam uma pobre condição sanitária das fontes abrangidas no presente estudo. Um outro estudo realizado por Da Silva *et al.* (2017), também no Parque Ecológico do Tietê, observa-se que houve presença de 100% de coliformes fecais, sendo 75% de contaminação por *E. coli* entre os meses de outubro de 2012 a janeiro de 2013, o que ocorre devido a alta concentração de esgoto não tratado presentes no Rio Tietê.

Para análises provenientes de água de poço, foi observado que em ambas as análises, o poço adjacente do Rio Marombas possui menor presença de *E. coli*, enquanto os poços referentes aos Rios Pessegueirinho e Canoas possuem maiores valores em ambas. Para a análise de verão, o poço do rio Correntes também encontra-se com os valores máximos para coliformes. Dados prévios já ressaltaram a contaminação frequente em poços da região, conforme observado por Sant’Helena *et al.* (2019). Nesse estudo foi avaliada a qualidade microbiológica

de águas de poços na cidade de Curitiba, e foram encontrados coliformes fecais em 5 das amostras analisadas (n=20), sendo essas águas são consideradas impróprias para consumo humano segundo a Portaria MS 2914/2011. O percentual de amostras positivas para coliformes foi alto, ou seja, várias residências acabam ingerindo água contaminada, pois muitas vezes esses poços não recebem tratamento adequado, o que é comum também em outras regiões do país.. Autores; como Colet *et al.* (2021) também verificaram presença de coliformes fecais em águas de poço, em municípios do noroeste do Rio Grande do Sul. Foram analisados 40 poços, sendo de duas modalidades, e em média 80% dos poços apresentaram contaminação por coliformes fecais. Os dados encontrados por esses autores estão abaixo do observado no presente estudo, onde foi detectado a presença de *E. coli* em 50% dos poços na análise do mês de novembro de 2021 e em 100% dos poços analisados no mês de fevereiro de 2022. Os dados demonstram a precariedade das condições sanitárias em que se encontram os recursos hídricos na região de Curitiba.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos revelaram altos níveis de contaminação por coliformes totais e termotolerantes, o que torna a maioria das amostras imprópria para consumo humano, conforme a Resolução CONAMA N° 357/2005, fazendo com que a população que utiliza da água oriunda das fontes estudadas estejam vulneráveis a doenças de veiculação hídrica.

REFERÊNCIAS

APHA, 2012. Standard methods for the examination of water and wastewater, 22nd edition. Washington: American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Environment Federation (WEF), 2012.

ANVISA. Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos: Módulo IV. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004. 64 p. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosauade/manuais/microbiologia/mod_4_2004.pdf. Acesso em: 28 mar. 2022.

BLODGETT, R. BAM Appendix 2: Most Probable Number From Serial Dilutions. *In*: U. S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological Analytical Manual (BAM)**. 8. ed. [s.l.]: FDA, 1998. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-appendix-2-most-probable-number-serial-dilutions#tables>. Acesso em: 28 mar. 2022

COLET, C.; PIEPER, M.; KAUFMANN, J. V.; SCHWAMBACH, K.; PLETSCHE, M. Qualidade microbiológica e perfil de sensibilidade a antimicrobianos em águas de poços artesanais em um município do noroeste do Rio Grande do Sul. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, [s.l.], v. 26, n. 4, p. 683-690, jul.-ago., 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/esa/a/LnNF5nbRqyqwwBTfXcL9B>. Acesso em: 31 mar. 2022

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA N° 357, de 17 de março de 2005. Disponível em: <http://www.mpf.mp.br/atuacao-tematica/ccr4/dados-da-atuacao/projetos/qualidade-da-agua/legislacao/resolucoes/resolucao-conama-no-357-de-17-de-marco-de-2005/view>. Acesso em: 31 mar. 2022.

DA SILVA, Daniela Graziane Oliveira et al. A qualidade da água do Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, Brasil e a comunidade de aves aquáticas. **Revista Ciência, Tecnologia & Ambiente**, v. 7, n. 1, p. 28-35, 2018.

FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE. Manual Prático de Análise de Água. 4. ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2013. 150 p. Disponível em: http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/manual_pratico_de_analise_de_agua_2.pdf. Acesso em: 28 mar. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE PESQUISA E ESTATÍSTICA. Curitibaanos. In: IBGE | Cidades | Santa Catarina | Curitibaanos | Panorama [Internet]. 2022. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sc/curitibaanos/panorama>. Acesso em: 28 mar. 2022.

MADIGAN, M. T. *et al.* **Brock Biology of Microorganisms**. 16. ed. [s.l.]: Pearson Education, 2021.

RIBEIRO, G.F; PROENÇA, J.E.; ANGELO, N.M.M; DA CRUZ, S.P. Análise preliminar da qualidade da água de rios em Curitibaanos, SC. **Revista Interdisciplinar de Estudos em Saúde**. v.10, n.1, p. 65-74, 2021.

SANT'HELENA, A.; PERRONE, P.R.; RIBEIRO, G.F.; DA CRUZ, S.P.; DE OLIVEIRA, H.M.; KRAMES, J.G. Análise microbiológica da água em Curitibaanos – SC e sua ligação com fatores sócio-ambientais. **Revista Interdisciplinar de Estudos em Saúde**. v.9, n.2, p. 15-20, 2019.

STORTO, D. *et al.* Seasonal Dynamics of Microbial Contamination and Antibiotic Resistance in the Water at the Tietê Ecological Park, Brazil. **Water Air Soil Pollut**, [s.l.] v. 232, n. 257, p. 1-18, jun. 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11270-021-05207-y>. Acesso em: 30 mar. 2022.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiology: an introduction**. 13. ed. [s.l.]: Pearson Education, 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals**. Geneva: World Health Organization, 2017. 68 p. Disponível em: https://www.who.int/foodsafety/publications/cia_guidelines/en/. Acesso em: 28 mar. 2022