

AVALIAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO POR *Escherichia coli* EM AMOSTRAS DE ÁGUA DE LAGOA

Vitor Irineu Oliveira⁽¹⁾

Estudante de Graduação do Curso de Tecnologia em Gestão Ambiental da Universidade Federal de Viçosa- *Campus Florestal*.

Giovanna Ruiz Martins⁽²⁾

Estudante de Graduação do Curso de Tecnologia em Gestão Ambiental da Universidade Federal de Viçosa- *Campus Florestal*.

Sibele Augusta Ferreira Leite⁽³⁾

Mestre em Engenharia Química. Professora e Coordenadora do Curso de Tecnologia em Gestão Ambiental da Universidade Federal de Viçosa- *Campus Florestal*

Brenno Santos Leite⁽⁴⁾

Mestre em Engenharia Química. Professor do Curso de Química da Universidade Federal de Viçosa- *Campus Florestal*.

Endereço⁽¹⁾: Universidade Federal de Viçosa – *Campus Florestal*, Rodovia LMG 818, km 06, Florestal/MG, CEP 35.690-000. Fone: (31) 3536-3300. e-mail: vitor.irineu@ufv.br

RESUMO

A contaminação da água pode acontecer pela presença de substâncias químicas ou de microorganismos patogênicos. Entre os microorganismos, destacam-se as bactérias do grupo coliforme, que normalmente estão presentes em grandes quantidades no trato intestinal de seres humanos e outros animais. A principal representante desse grupo é a bactéria *Escherichia coli*. A presença destas bactérias associada à má disposição dos Resíduos de Serviço de Saúde (RSS) pode acarretar o desenvolvimento de colônias resistentes a agentes antimicrobianos. Desta forma, este trabalho avaliou as condições de duas lagoas próximas ao aterro controlado de Florestal, onde são dispostos os RSS, mediante análises físico-químicas e microbiológicas. As análises foram direcionadas para determinar a existência de *E. coli* e, em seguida, realizar os testes de resistência desta bactéria a agentes antimicrobianos. A partir da verificação *in loco* e das análises, observou-se que as lagoas possuem características propícias ao desenvolvimento de bactérias e que, embora os resultados de coliformes totais tenham sido positivos, não foi detectada a presença de *E. coli*. Devido ao resultado negativo, não foi possível realizar os testes de avaliação de resistência desta bactéria aos agentes antimicrobianos.

PALAVRAS-CHAVE: *Escherichia coli*, Antimicrobianos, RSS, Risco Ambiental.

INTRODUÇÃO

A água é uma fonte comum potencial de doenças infecciosas, podendo ser também uma fonte de intoxicações induzidas por compostos químicos. A água com aparência transparente e limpa é suscetível a contaminação por microorganismos patogênicos, representando, assim, uma série de ameaças à saúde pública e ao meio ambiente. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 80% das doenças relatadas em países em desenvolvimento tem como veículo de transmissão a água de má qualidade (SILVA, 2007).

A contaminação das águas superficiais e subterrâneas por substâncias oriundas de depósitos de resíduos é um dos maiores problemas enfrentados, quando avaliada a questão, podendo comprometer a potabilidade destas fontes por longo período (tempo). Quando vegetais são irrigados com água contaminada por chorume ou despejo de resíduos também poderão causar problemas de saúde ao homem, assim como, a exposição humana ocorre por ingestão direta de água ou consumo de animais e vegetais aquáticos originados de corpo d'água superficiais contaminados

Esta contaminação pode acontecer por substâncias químicas ou presença de microorganismos. Entre os microorganismos, destacam-se as bactérias do grupo coliforme, que normalmente estão presentes em grandes

quantidades no trato intestinal de seres humanos e outros animais, sendo detectado, é um indicativo da contaminação fecal.

Os coliformes são definidos como bactérias bacilares, Gram-negativas, aeróbias facultativas e não formadoras de esporos, que fermentam a lactose produzindo gás, no decorrer de um período de 48 horas, a 36 °C. Essa definição operacional do grupo dos coliformes inclui microrganismos não relacionados (MADIGAM, *et al.*, 2010). O principal representante desse grupo de bactérias é denominado *Escherichia coli*, também conhecida popularmente como *E. coli*. Por ser uma bactéria de fácil isolamento e identificação em água e por ter seu período de sobrevivência semelhante ao dos agentes patogênicos mais comuns na flora intestinal, ela é considerada um excelente indicador de contaminação fecal.

A presença destas bactérias associada à má disposição dos Resíduos de Serviço de Saúde (RSS) pode acarretar o desenvolvimento de colônias de bactérias resistentes a agentes antimicrobianos. Segundo Michael *et. al* (1997), as bactérias resistentes são capazes de produzir quantidades suficientes de uma enzima que destrói ou modifica a estrutura de antimicrobianos e, também, podem possuir outros tipos de enzimas, ribossomos ou outros componentes celulares que elevam sua resistência aos efeitos dos medicamentos. Com isso, as bactérias sobrevivem e proliferam, desta forma, torna-se interessante avaliar o impacto ambiental causado pela má disposição do RSS, em especial, os medicamentos fora do prazo de validade (vencidos), mediante a análise microbiológica da presença de contaminação de bactérias do grupo coliforme, resistentes a agentes antimicrobianos.

Diante do exposto, o presente trabalho objetiva avaliar a presença de contaminação por bactérias do grupo coliforme presentes em amostras de água retiradas de lagoas localizadas próximas ao aterro controlado da cidade de Florestal/MG, para em seguida, investigar a presença de *E. coli* e avaliar a resistência desta bactéria a agentes antimicrobianos. A escolha das lagoas deve-se à topografia da região onde está localizado o aterro controlado. A localização do aterro é em um nível altimétrico mais elevado em relação às duas lagoas e propicia o escoamento superficial da água contaminada. Portanto, a lagoa pode estar contaminada por resíduos sólidos e líquidos provenientes desse aterro. Vale ressaltar que no aterro da cidade não existe coleta de chorume e a disposição final dos RSS é incorreta, o que pode potencializar os danos ao meio ambiente e à sociedade.

METODOLOGIA

O trabalho foi dividido em quatro principais etapas, conforme sequência representada na Figura 1. Estas etapas serão descritas a seguir:

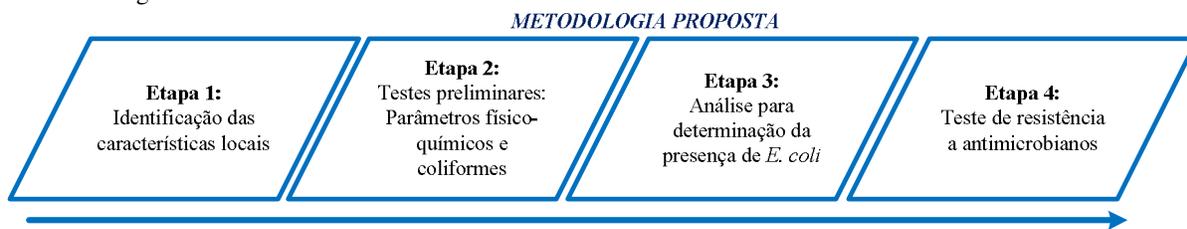


Figura 1: Etapas para o desenvolvimento do trabalho.

Etapa 1: Identificação das características locais

Consistiu na realização de visitas técnicas na região do aterro controlado e entrevistas com os responsáveis pelo aterro.

Etapa 2: Testes preliminares: parâmetros físico-químicos e coliformes

Amostragem

O plano de amostragem foi realizado conforme o Guia de Coleta e Preservação de Amostras de Água da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB). De acordo com o plano, para efetuar a coleta, o amostrador deve utilizar equipamentos de proteção individual como jaleco, luvas de borracha e botas PVC. A coleta deve ser realizada com frascos de vidro devidamente esterilizados e, posteriormente, acondicionados em caixas térmicas, que proporcionam refrigeração a 4°C. As amostragens foram realizadas durante o mês de setembro de 2011 e foram destinadas para análises físico-químicas e microbiológicas.

Análises físico-químicas e microbiológicas

As análises físico-químicas foram realizadas para determinar a qualidade da água, sendo avaliados três parâmetros distintos: pH, turbidez e condutividade elétrica. As análises microbiológicas visando à determinação de coliformes totais foram realizadas seguindo o método de Número Mais Provável (NMP), em Caldo Lactose-Bile Verde Brilhante (*Himedia*) com incubação em estufa, por 24 horas, em temperatura de 36 °C.

Os testes para coliformes totais foram realizados em três baterias e cada amostra analisada em triplicata, com as seguintes diluições: 10,0; 1,0 e 0,1mL. A confirmação do teste presuntivo indica a presença de coliformes, o que possibilita a posterior análise de presença de bactérias *E.coli* (MACÊDO, 2003). A Figura 2 apresenta um esquema representativo da análise de coliformes totais, conforme o método de NMP.

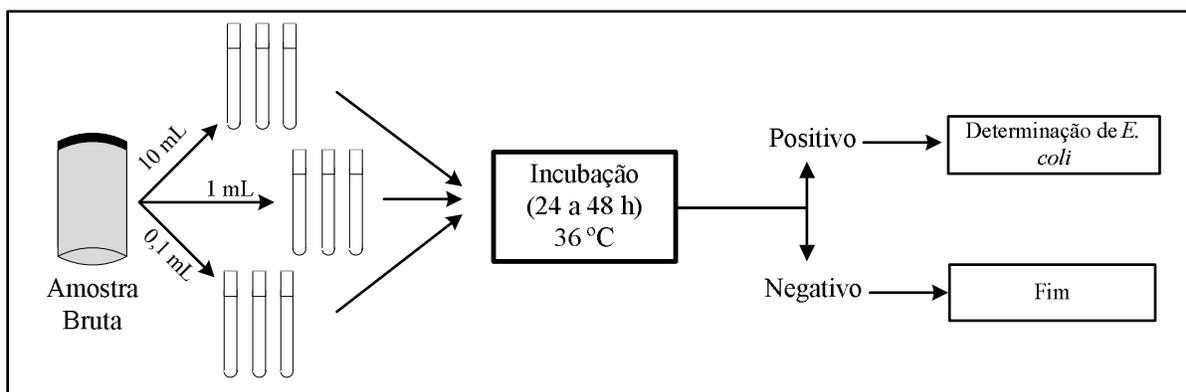


Figura 2: Representação do teste para determinação de coliformes totais conforme o método de Número Mais Provável (NMP).

Etapa 3: Análise para determinar a presença de *E.coli*

O procedimento para identificação de *E. coli* foi realizado pelo Método de Membrana Filtrante (MF), devido a sua maior precisão em relação a outros métodos convencionais. Os testes foram realizados utilizando Caldo m-Endo (*Himedia*), incubação em estufa a $44,5 \pm 0,2$ °C por 24 horas (MACÊDO, 2003).

Etapa 4: Resistência a um antimicrobiano

Segundo a norma global consensual do NCCLS (2003), em conjunto com a ANVISA e a Organização Pan-Americana de Saúde, a metodologia de determinação de resistência a um antimicrobiano, consiste na realização de um antibiograma, cujas etapas são: escolher o antimicrobiano mais apropriado para o tratamento da *E. coli*; avaliar a resistência da bactéria ao antimicrobiano escolhido, em função de uma concentração mínima inibitória, e comparar os resultados a uma amostra controle.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Identificação das características locais

O aterro controlado de Florestal/MG, está localizado em um nível altimétrico mais elevado em relação às duas lagoas, o que facilita o escoamento superficial da água contaminada proveniente do aterro (Figura 3). Com base nessa informação, foram definidos os pontos de amostragem. O primeiro ponto (Lagoa 1), uma lagoa pequena que recebe o escoamento direto do aterro e o segundo ponto (Lagoa 2), uma lagoa maior que recebe, escoamento direto e indireto, proveniente da Lagoa 1. Na Figura 4, é observada a presença de animais de sangue quente, próximos as lagoas, os quais podem eliminar fezes contaminadas com bactérias patogênicas e, conseqüentemente, contaminar o meio aquático.



Figura 3: Escoamento de chorume do aterro.



Figura 4: Animais de sangue quente próximos às lagoas.

Testes preliminares: parâmetros físico-químicos e coliformes

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos mediante as análises físico-químicas.

Tabela 1: Comparação dos resultados obtidos por análises físico-químicas com os padrões da CONAMA 357/05.

Parâmetros FQ.	CONAMA 357/05 (Classe 2)	Amostra 1 (Lagoa 1)		Amostra 2 (Lagoa 2)	
		A	B	A	B
pH	6,0 a 9,0	7,12	7,08	8,03	8,0
Turbidez (UT)	< 100	106	104	23,0	18,0
Condutividade Elétrica (µS/cm)	Não Aplicável	728,9	730,7	66,0	64,9

A partir dos dados obtidos comparados ao disposto pela Resolução CONAMA Nº 357, de 17 de março de 2005, verificou-se que os valores de pH, das duas amostras, estão dentro da faixa aceitável para padrões das águas doces de Classe 2. Os valores de pH próximos da neutralidade favorecem o crescimento de bactérias coliformes. A Amostra 1 apresentou elevadas concentrações de turbidez e condutividade elétrica. A elevada turbidez indica uma maior concentração de matéria orgânica suspensa ou dissolvida, facilitando o crescimento de microrganismos. A condutividade elétrica é um indicativo de substâncias iônicas dissolvidas na água, como nutrientes e cátions metálicos. Em adicional, foi realizada a análise sensorial das amostras, observando que a Amostra 1 apresentou coloração esverdeada, desenvolvimento de espuma e odor desagradável, já a Amostra 2 apresentou coloração amarelo pálido sem odor desagradável, desta forma, indicando um maior grau de poluição da Amostra 1.

O resultado do teste presuntivo, de coliformes totais, foi positivo, pois ocorreu a geração de gás em todos os tubos de Durhan. A determinação de coliformes totais, nos limites de confiança de 95%, foi de 2400 NMP/100mL, nas Amostras 1 e Amostra 2. O resultado positivo possibilitou a execução da próxima etapa, que consistiu na determinação da presença de *E.coli*, conforme ilustrado na Figura 2.

Etapa 3: Análise para determinar a presença de *E.coli*

Na determinação de *E. coli* pelo Método de Membrana Filtrante (MF), não foi observado o desenvolvimento considerável de colônias de *E. coli* nas Placas de Petri. Para confirmação do resultado, o teste foi novamente realizado, o qual persistiu o resultado negativo.

Alguns dos possíveis fatores que influenciaram no resultado, podem ser: as coletas realizadas às margens das lagoas e a dificuldade de acesso a pontos interiores das mesmas; o curto espaço de tempo entre as amostragens, não sendo possível avaliar a influência do regime hidrológico no resultado; o longo período de estiagem que pode ter contribuído para a diminuição da concentração de microrganismos, devido ao menor escoamento superficial da água contaminada por resíduos e fezes de animais de sangue quente.

Como o resultado do teste MF para determinação de *E. coli* foi negativo, não foi possível realizar os testes de avaliação de resistência de *E. coli* aos agentes antimicrobianos.



CONCLUSÃO

Ainda que não tenha sido possível a identificação da bactéria nas amostras de água, é de grande relevância avaliar a relação da incorreta disposição dos RSS com a promoção de bactérias resistentes a antimicrobianos, já que tal resistência pode acarretar grandes riscos à saúde pública.

Embora, esta relação não tenha sido detectada, o correto gerenciamento dos RSS deve ser executado seguindo as legislações vigentes. A legislação proposta pela ANVISA, por exemplo, em sua Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 306, de 7 de Dezembro de 2004, aplica medidas corretivas referente ao gerenciamento dos RSS. Com isso, o setor público garantirá melhoria na qualidade de vida da população, evitando transtornos com fiscalizações e possíveis multas, além de proteger o solo e a água de contaminação proveniente da disposição incorreta deste tipo de resíduo.

O trabalho exposto possibilita continuidade da pesquisa, focando na realização de amostragens em mais pontos durante um período maior de coleta, para detectar a ocorrência de *E. coli* (resistente) ou a utilização de outras metodologias para a análise direta da ocorrência de substâncias químicas provenientes de medicamentos mal dispostos, responsáveis pela contaminação da água.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MACÊDO, J. A. B. Métodos Laboratoriais de Análises Físico-químicas e Microbiológicas. 2. ed. Belo Horizonte. 2003.
2. Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA). Resolução n. 357, 17 de março de 2005. Estabelece normas e padrões para qualidade das águas, lançamentos de efluentes nos corpos receptores e dá outras providências.
3. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução n. 306, 7 de Dezembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.
4. NCCLS, Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada - 8 ed, 2003.