

---

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO LAGO JABOTI**

**MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF JABOTI LAKE**

Beatriz Jarenko Schubert<sup>1</sup>  
Udson Mikalouski<sup>2</sup>

**RESUMO**

A água é um elemento muito importante para a vida na Terra, devido a isso é essencial o cuidado com a qualidade em que a utilizamos, é necessário ser feito análises microbiológicas, pois pode haver diversos tipos de bactérias como a *E.coli*. Neste estudo foi realizado análise da água do Lago Jaboti, Apucarana-PR, para identificar *Escherichia coli*, com base na metodologia do livro Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, foi detectado coliformes totais e termotolerantes em todos os pontos coletados, alguns pontos não foi possível quantificar os microrganismos, mas confirmou a presença de coliformes. Foi obtido um resultado positivo para *E.coli* em três pontos analisados. Também foi verificado a resistência da bactéria para alguns antibióticos, no teste de 24±2h foi observado resistência em Ampicilina (AMP) 33,33%; Tetraciclina (TET) 66,66%, no teste de 48±2h não houve alteração e o restante dos antibióticos não apresentaram resistência. Na lipase o resultado foi negativo, pois não apresentou crescimento de halo em nenhuma das amostras.

32

**Palavras-chave:** *E. coli*. Qualidade da água. Contaminação.

**ABSTRACT**

Water is a very important element for life on Earth, because it is essential to care with the quality in which we use it, it is necessary to be done microbiological analyzes, because there can be several types of bacteria such as *E. coli*. In order to identify *Escherichia coli*, based on the methodology of the Manual of Methods of Microbiological Analysis of Foods and Water, total water and thermotolerant coliforms were detected in all points collected, some of which were collected in the Jaboti Lake, Apucarana-PR. It was not possible to quantify the microorganisms but confirmed the presence of coliforms. A positive result was obtained for *E.coli* at three analyzed points. The resistance of the bacteria to some antibiotics was also verified; in the 24 ± 2h test, resistance in Ampicillin (AMP) was observed 33.33%; Tetracycline (TET) 66.66%, in the 48 ± 2h test there was no change and the rest of the antibiotics did not present resistance. In the lipase the result was negative, as it did not present halo growth in any of the samples.

**Keywords:** *E. coli*. Water quality. Contamination.

---

<sup>1</sup> Graduanda do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da FAP – Faculdade de Apucarana – PR. E-mail: beatrizschubert21@gmail.com

<sup>2</sup> Docente do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da FAP – Faculdade de Apucarana – PR. Mestre em Eng. Ambiental. Coordenador do curso de Pós-Graduação em Meio ambiente e recursos hídricos da FAP – Faculdade de Apucarana. E-mail: udson@biologo.bio.br

## 1 INTRODUÇÃO

A água é um elemento essencial para a vida na Terra, e ocupa a maior parte do nosso planeta, com um total aproximado de 75%, sendo que 3% é água doce, sendo que 2% dessa, encontram-se nas geleiras e 1% nos rios (PEREIRA, 2016).

No Brasil localiza-se 11,6% da água doce do planeta, e se distribui de forma irregular por suas regiões (SANTOS, 2014). Na Região Sudeste se encontra 6% dos recursos hídricos, na Região Norte 68%, Região Centro-Oeste 15,7%, a Região Nordeste com apenas 3,3% dos recursos hídricos e na Região Sul com 15,5% dos mesmos recursos (SANTOS, 2014).

O ser humano utiliza a água para uso pessoal, econômico, social, dentre outros, e por isso a qualidade da água é essencial, por ser um recurso significativo para o desenvolvimento regional, rios e lagos estão sendo afetados por esta invasão desenfreada da bacia hidrográfica, causando alterações físicas, químicas e biológicas nestes ambientes aquáticos (SOUZA, 2014). Em lagos isto pode ocorrer devido ao fato de receptar alguns rios e córregos, também rejeitos domésticos e industriais, assoreamentos entre outros (AZEVEDO, 2016).

Durante utilização desses ambientes aquáticos para fins recreativos, os indivíduos presentes, podem vir ou não a ingerir essa água, podendo causar sérios riscos a saúde e podendo levar até a morte, já foi visto que 80% das doenças de países desenvolvidos são causados por contaminação em água (VIEIRA, 2017; AZEVEDO, 2016).

Esses locais podem se tornar propagadores de diversos microrganismos como bactérias patogênicas (FARIA, 2016; PAULA, 2013). Alguns exemplos dessas bactérias são a *Salmonella*, *Acinetobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e também alguns tipos de vírus (FERREIRA, 2015).

### 1.1 *Escherichia coli*

Entre muitos tipos de contaminação desses ambientes aquáticos, há a contaminação de bactérias do grupo coliformes totais e fecais, que são usados como bioindicadores de poluição em água (SOUZA, 1983; OLIVEIRA, 2015). Uma das bactérias usadas como indicador é a *Escherichia coli* (CHAVES, 2015).

Devido à contaminação desses recursos hídricos, muitos estudos e pesquisas são feitos para a detecção de bactérias patogênicas, contudo há falta de um controle e fiscalização desses recursos hídricos, sendo assim muitos rios e lagos que são utilizados para lazer ficam sem

receber os devidos cuidados como análises para identificação destes tipos de microrganismos (OLIVEIRA, 2015).

A *E. coli* é uma bactéria que sua mutabilidade facilita a adaptação do meio, ela fermenta lactose e manitol com a produção de ácido e gás, sua forma é de bastonete, Gram negativo, se localiza no intestino de animais de sangue quente e principalmente no trato digestivo do homem, mas também são bastante resistentes fora do corpo (LIMA, 2017; OLIVEIRA, 2015).

Existem 6 tipos de *E. coli* que são *E. Coli* enteropatogênica (EPEC), *E. Coli* enterohemorrágica ou produtora de verotoxinas (EHEC ou VTEC), *E. Coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. Coli* enteroagregativa (EAEC), *E. Coli* enteroinvasiva (EIEC) e *E. Coli* de difusão aderente (DAEC) (VOLKWEIS, 2015). Dentre seus sintomas estão a febre, vômito, dores abdominais e até hemorragia (VOLKWEIS, 2015). Sua transmissão pode ser feita pela água, alimentos ou também por contato com pessoas ou animais que já estão contaminados (SILVEIRA 2013).

A análise microbiológica de ambientes aquáticos é muito importante para manter um controle de microrganismos, a fim de conscientizar as pessoas sobre os riscos desses locais, evitando as doenças propagadas por eles. Além de conscientizar as pessoas a contribuírem com esses locais amenizando sua poluição, como não jogar lixo nesses rios, por exemplo, e também um controle dos animais que habitam esses locais.

Este trabalho tem como objetivo identificar a ocorrência de *Escherichia coli* no Lago Jaboti em Apucarana-PR.

## **2 METODOLOGIA**

### **2.1 Local**

O Lago Jaboti, local em que o estudo foi realizado, encontra-se em uma área urbana de Apucarana, que se localiza no centro-norte do estado do Paraná. O lago possui uma área de 150 mil metros quadrados, com volume da água aproximado de 757 mil metros cúbicos. É abastecido pelos rios: Ribeirão Barra Nova, Córrego Jaboti e Córrego Água da Lagoa.

Foram feitas coletas em quatro pontos, o primeiro ponto (P1) foi feito no lado norte do lago, nas coordenadas latitude: 23° - 33' - 51,3'' S, longitude: 51° - 28' - 25,1'' w, o segundo ponto (P2) também no lado norte do lago, nas coordenadas, latitude: 23° - 33' - 53,7'' S,

longitude:  $51^{\circ} - 28' - 13,7''$  W, terceiro ponto (P3) nas coordenadas, latitude:  $23^{\circ} - 34' - 2,3''$  S, longitude:  $51^{\circ} - 28' - 22,0''$  W, esta ponto também é um local onde as pessoas tem mais acesso ao lago, por haver um parque ao lado e pedalinhos, e o quarto ponto (P4) no lado sul do lago, nas coordenadas, Latitude:  $23^{\circ} - 34' - 7,8''$  S, Longitude:  $51^{\circ} - 28' - 33,8''$  W.

**Figura 1** – Identificação dos pontos de coleta



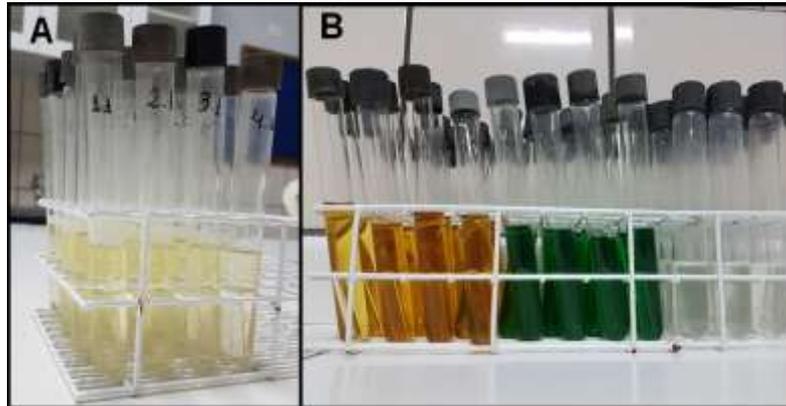
Fonte: google Earth (2017).

As coletas foram realizadas utilizando frascos de vidro de borossilicato estéreis, onde foram coletados aproximadamente 200 mL e identificadas corretamente, em seguida as amostras foram acondicionadas sob refrigeração a  $4^{\circ}\text{C}$  e encaminhadas ao laboratório de microbiologia da Faculdade de Apucarana (FAP).

## 2.2 Análise microbiológica

Foi aplicada a técnica de tubos múltiplos segundo o livro Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, realizando diluição seriada de  $10^{-1}$  até  $10^{-5}$ , todas com 5 repetições. Após as diluições, foram inoculados em caldo Laruril Sulfato Triptose (LST) em concentração simples contendo tubos de Duran (Figura 3 A), em seguida incubadas em estufa a  $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  por  $24-48 \pm 2\text{h}$ .

**Figura 3 – Meios de Cultura**



Legenda: Figura A, meios Lauril Sulfato Triptose (LST); figura B, da esquerda para direita, meios EC, verde brilhante e triptona.

Fonte: Autora do trabalho.

As tubos que apresentaram resultados positivos para LST, foram transferidas uma alçada para os caldos, Verde Brilhante Bile 2% (VB) para contagem de coliformes totais, estes incubados em estufa a  $35\pm 1$  °C por  $24-48\pm 2$ h, outra alçada para o caldo *E. coli* (EC) para contagem de coliformes termotolerantes (Figura 3 B), estes incubados a  $42\pm 1$  °C por  $24-48\pm 2$ h em banho-maria, outra alçada para o caldo Triptona 1% e incubados a  $44,5\pm 1$  °C por  $24\pm 2$ h. Após período, realizado a contagem de NMP/mL para os tubos positivos (crescimento e formação de gás).

36

De cada tubo de EC com produção de gás em  $48\pm 2$ h, foram estriadas (esgotamento) uma alçada em placa de Ágar Levine Eosina Azul de Metileno (L-EMB) e incubadas as placas a  $35\pm 1$  °C por  $24-48\pm 2$ h, observado o desenvolvimento de colônias típicas de *E. coli* (nucleadas com centro preto, com ou sem brilho metálico).

As placas com colônias típicas foram transferidas duas colônias bem isoladas de cada placa, para tubos de Ágar Padrão para contagem (PCA) inclinados e incubados a  $35\pm 1$  °C por  $24\pm 2$ h. A partir das culturas puras em PCA, foi realizada coloração de Gram.

Dos tubos de EC, foram transferidas alçadas para caldo BHI, e levadas a estufa, onde ficaram por  $24\text{h}\pm 2$ h, em seguida foram estriadas em placas de BHI Ágar e levado para a estufa por  $24\text{h}\pm 2$ h a  $36\pm 1$  °C, para o desenvolvimento das colônias (isolamento).

Das placas de BHI em que deram positivo para *E. coli*, foi passado uma alçada para solução salina 0,85%, onde obteve uma turbidez igual a de 0,5 da escala de McFarland, que representa aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  unidades formadoras de colônias (UFC)/mL.

Em seguida foi transferido 1mL dos tubos de salina diluídos para as placas com ágar meio Mueller Hinton para realização de antibiograma, onde em cada placa foram utilizados os

antibióticos: Ampicilina (AMP), Gentamicina (GEN), Norfloxacin (NOR) e Tetraciclina (TET). E foram medidos os halos em volta dos antibióticos com intervalos de  $24\pm 2h$  e  $48\pm 2h$  na estufa a  $36\pm 1$  °C.

Dos tubos de salina também foram passados para as placas de lipase, onde foram inoculadas 3 gotas de cada tubo em uma placa, foi levado a estufa a  $36\pm 1$  °C, e foram medidos os halos nos intervalos de  $24\pm 2h$  e  $48\pm 2h$ .

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final foram obtidos os seguintes resultados para Coliformes Totais, Coliformes Termotolerantes e *E.coli*.

**Tabela 1** – Contagem de microrganismos presentes.

Pontos de Coleta	Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes	<i>E. coli</i>
P1	7,4	3,6	3,6
P2	< 3	< 3	< 3
P3	3,6	3,6	3,6
P4	< 3	< 3	< 3

37

Todos os pontos analisados apresentaram coliformes totais (Tabela 1), alguns pontos apresentaram um menor NMP/mL. Nos pontos P2 e P4, apresentaram resultado < 3 NMP/mL, apresentou um número pequeno, por isso não foi possível uma contagem precisa pela técnica usada, mas ainda há presença de coliformes totais. O ponto 2 está localizado na entrada de água deste lago, e o ponto 4 na saída de água do lago, então possui uma maior movimentação da água. Os outros pontos apresentaram uma quantidade um pouco maior, no P1 seus resultados apontaram 7,4 NMP/mL, maior quantidade que os outros pontos, e está localizado em uma região do lago onde a água se encontra com menos correnteza que as outras regiões, já o P3 resultou em 3,6 NMP/mL, e como o P1 não se localiza na entrada ou saída do lago e também apresentou uma maior quantidade de coliformes.

O número de coliformes tolerantes nos pontos analisados, nas amostras P1 e P3 apresentaram mesmo resultado de 3,6 NMP/mL, e as amostras P2 e P4 apresentaram resultado < 3 NMP/mL, um resultado menor, mas ainda sim apresentando estes microrganismos. Segundo o CONAMA (2005), em sua resolução 357, o nível de coliformes termotolerantes

para o uso de recreação de contato secundário (atividades em que o contato com a água é esporádico ou acidental e a possibilidade de ingerir água é pequena, como a navegação e pesca) não deverá ser excedido um limite de 25 coliformes termotolerantes por 1 mililitro em 80% das amostras coletadas. Sendo assim os resultados estão dentro dos padrões conforme a Resolução (2005).

Segundo Thomas (2016), a presença de coliformes totais está relacionada com a carga poluidora em que o manancial recebe durante o seu curso. O lago estudado é abastecido pelo rio, o Ribeirão Barra Nova, e Córrego Jaboti e o Córrego Água da Lagoa, onde também pode ser um possível foco da contaminação do lago, pelo mesmo estar receptando esses mananciais.

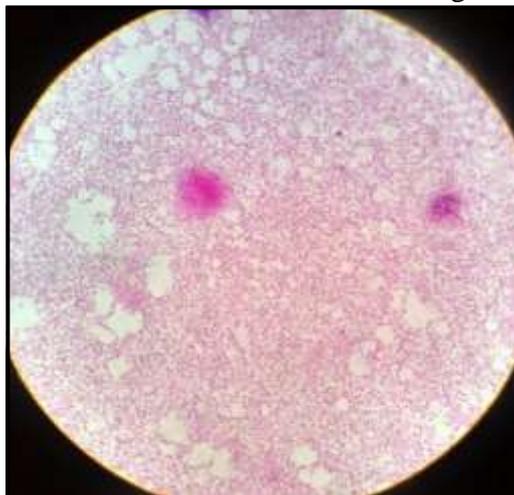
**Figura 4** – Resultados da Placa de Ágar Levine Eosina Azul de Metileno



Fonte: Autora do trabalho

Os resultados para placa de Ágar Levine Eosina Azul de Metileno das 14 placas apenas 3 apresentaram resultado positivo para *E. coli* como podemos ver na Figura 4, os pontos que se obteve resultado foram as P1, P2 e P4.

**Figura 5** – Colônias da bactéria Gram negativa *E. coli*.



**Fonte:** Autora do trabalho

Das placas que cresceram colônias de *E. coli*, foram feitas as colorações de Gram para a observação das mesmas. Na figura 5, podemos observar que as colônias estão com uma cor rosada, por ser uma bactéria Gram negativa não retém o cristal violeta devido a uma quantidade menor de camada de peptidoglicano.

Foram submetidos ao antibiograma, os isolados de *E.coli*, onde se obteve os seguintes resultados segundo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

**Tabela 3** – Resultados antibiograma *E.coli* 24±2h

	<b>AMP</b>	<b>GEN</b>	<b>NOR</b>	<b>TET</b>
<b>P 1.1</b>	S	S	S	R
<b>P 2.1</b>	S	S	S	S
<b>P 4.1</b>	R	S	---	R

Legenda: S - Sensível, I - Intermediário, R - Resistente.

**Fonte:** Autora do trabalho.

Observa-se que nos testes de 24h±2h apenas os isolados apresentaram resistências aos antibióticos AMP e TET, os demais não apresentaram resistência. Em relação à AMP obteve 33,33% de resistência e TET 66,66%. No teste de 48±2h não houve alterações, AMP obteve 33,33% de resistência e TET 66,66%. Em P 4.1 não foi obtido resultado de NOR. No estudo de Pastore (2015), onde foi feita uma análise em uma estação de tratamento de água, foi constatado que a resistência a antimicrobiana, era mais frequente em isolados de origem

humana, comparado ao de origem ambiental.

**Tabela 3** – Resultados antibiograma *E.coli* 48±2h

	AMP	GEN	NOR	TET
<b>P 1.1</b>	S	S	S	R
<b>P 2.1</b>	S	S	S	S
<b>P 4.1</b>	R	S	---	R

Legenda: S - Sensível, I - Intermediário, R - Resistente.

Fonte: Autor do trabalho.

Segundo Oliveira (2017), A múltipla resistência aos antibióticos é um problema sério para a saúde pública, interferindo no tratamento efetivo das infecções por estes agentes. Neste estudo apenas 9,09% dos resultados apresentaram resistências, tanto nos resultados de 24±2h, quanto nos resultados de 48±2h.

O resultado da lipase obteve um resultado negativo, pois não apresentaram nenhum crescimento de halo em volta da colônia. Onde os microrganismos não apresentaram capacidade de produzir enzimas que degradam moléculas de lipídios.

Na pesquisa de Ferrarezi (2014), diz que devido às suas propriedades regioselectivas e estereoselectivas por ácidos gordos de cadeia longa, a lipase tem sido usada nas indústrias farmacêutica, dos detergentes, dos cosméticos e dos têxteis, assim como também no estudo de Mercado (2007), fala sobre o uso lipases no tratamento de efluentes.

#### 4 CONCLUSÃO

Foi confirmado a presença de *E.coli* nos pontos P1, P2 e P4. Onde desses pontos apresentaram resistência somente para os antibióticos Ampicilina (AMP) e Tetraciclina (TET), sendo respectivamente 33,33% e 66,66% de resistência. A presença dessa bactéria se deve-se a presença de animais no local e alguns córregos que desaguam neste lago, portanto como medida deve sensibilizar a população alertando sobre os riscos à saúde e continuar com as análises para um maior controle sobre possíveis doenças que possam ser transmitidas para as pessoas que utilizam deste local para atividades de lazer.

**REFERÊNCIAS**

- AZEVEDO, Fernanda Dall'Ara et al. Aspectos sanitários de um lago urbano utilizado para recreação e lazer. **Revista Geociências-UNG**, [s.l.], v. 15, n. 2, p. 75-93, 2016.
- CHAVES, Kamila Ferreira et al. Avaliação Microbiológica da Água Empregada em Laticínios da Região de Rio Pomba-MG. **Journal of Health Sciences**, [s.l.], v. 12, n. 4, 2015.
- FARIA, Ana Carolina Silva et al. Detecção de genes de resistência e qualidade da água dos lagos de zoológico, Brasil. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 46, n. 5, p. 860-866, 2016.
- FERRAREZI, Ana Lucia et al. Production and characterization of lipases and immobilization of whole cell of the thermophilic *Thermomucor indiciae* *seudaticae* N31 for transesterification reaction. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, [s.l.], v. 107, p. 106-113, 2014.
- FERREIRA, João Cairo. **Bactérias potencialmente resistentes a antibióticos, desinfetantes e radiação ultravioleta, isoladas de esgoto hospitalar e esgoto sanitário**. 2015. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2015.
- LIMA, Sandra Cristina Alves; SANTOS, Carlos Alberto Batista. Educação e saúde pública: determinação de cloro e *Escherichia coli*, na água utilizada para consumo no IFPE, Campus Afogados da Ingazeira. **Revista Ouricuri**, [s.l.], v. 6, n. 2, p. 029-041, 2017.
- MERCADO, Luisa Weber et al. Aplicação biotecnológica da lipase no tratamento de efluentes. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 19., 2007, Porto Alegre, RS. **Resumos** [...]. Porto Alegre: UFRGS, 2007.
- OLIVEIRA, Antonio Vanilson; BRANDÃO, Joana; DAL PUPO, Halan Deny. Análise microbiológica da água coletada de poços rasos e poços artesianos no município de Boa Vista-Roraima. **Caderno de Ciências Biológicas e da Saúde**, [s.l.], n. 5, 2015.
- OLIVEIRA, Alexandre José et al. Coliformes Termotolerantes: bioindicadores da qualidade da água destinada ao consumo humano. **Atas de Saúde Ambiental-ASA**, [s.l.], v. 3, n. 2, p. 24-29, 2015.
- OLIVEIRA, Raphaela Sanches de. **Densidade e diversidade de fenótipos de resistência a antimicrobianos de *Enterococcus sp*, *Escherichia coli* e *Aeromonas sp* isoladas de água, sedimento e mexilhão coletados em Santos e Itanhaém, São Paulo, Brasil**. 2017. Disponível em <<https://alsafi.ead.unesp.br/handle/11449/148809>>. Acesso em: 31 out. 2017.
- PASTORE, Ana Paula Winter. **Análise da resistência a antimicrobianos e determinação dos grupos filogenéticos em isolados de *Escherichia coli* de origem ambiental, humana e animal**. 2015. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/131912>. Acesso em: 31 out. 2017.
- PAULA, Heber Martins; MESQUITA, Glenda Máris; MENDES, Márcia Felipe. Investigação de parâmetros físicos, químicos e microbiológicos para avaliação da qualidade da água de

lagos urbanos da cidade de Catalão-GO. DOI: 10.5216/reec.v7i1.22038. **REEC-Revista Eletrônica de Engenharia Civil**, [s.l.], v. 7, n. 1, 2013.

PEREIRA, Elisa Tatiane; ELLWANGER, Aline Silva; MORAES, Glauca Cabral. O uso da água e alternativas para o uso consciente utilizando modelagem matemática. **Anais do Salão de Ensino e de Extensão**, [s.l.], p. 457, 2016.

CONAMA. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, 2005.

SANTOS, Renata Souza. Saúde e qualidade da água: análises microbiológicas e físico-químicas em água subterrâneas. **Revista Contexto & Saúde**, [s.l.], v. 13, n. 24-25, p. 46-53, 2014.

SILVEIRA, Leonor; MARQUES, Adelaide; MACHADO, Jorge. **Patotipos de Escherichia coli associados a infecções entéricas entre 2002-2012**. 2013. Disponível em: <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/1678>. Acesso em: 14 abr. 2017.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5 ed. São Paulo: Blucher, 2017.

42

SOUZA, Luiz Carlos et al. Bactérias coliformes totais e coliformes de origem fecal em águas usadas na dessedentação de animais. **Revista de Saúde Pública**, v. 17, n. 2, p. 112-122, 1983.

SOUZA, Juliana Rosa et al. A importância da qualidade da água e os seus múltiplos usos: caso Rio Almada, sul da Bahia, Brasil. **REDE-Revista Eletrônica do Prodepa**, [s.l.], v. 8, n. 01, 2014.

THOMAS, Vanessa Luana et al. Avaliação da contaminação da água e do solo por coliformes em área adjacente a aplicação de dejetos líquidos de suínos (dls) no município de Três Passos/RS. **Salão do Conhecimento**, [s.l.], v. 2, n. 2, 2016.

VIEIRA, Carmen Baur et al. Vírus entéricos na Lagoa Rodrigo de Freitas. **Oecologia Australis**, [s.l.], v. 16, n. 3, p. 540-565, 2017.

VOLKWEIS, Dionara Simoni Hermes et al. Qualidade microbiológica da água utilizada na produção de alimentos por agroindústrias familiares do município de Constantina/RS. **Electronic Journal of Management, Education and Environmental Technology (REGET)**, [s.l.], v. 19, n. 4, p. 18-26, 2015.