

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CONSERVAÇÃO E
MANEJO DE RECURSOS NATURAIS – NÍVEL MESTRADO

MARINÊZ DE SOUZA

QUALIDADE DA ÁGUA POR INDICADORES BIOLÓGICOS E ANÁLISE DE
RESISTÊNCIA DE CEPAS DE *Escherichia coli* ISOLADAS NO RIO CASCAVEL,
PARANÁ

CASCAVEL - PR

2012

MARINÊZ DE SOUZA

QUALIDADE DA ÁGUA POR INDICADORES BIOLÓGICOS E ANÁLISE DE
RESISTÊNCIA DE CEPAS DE *Escherichia coli* ISOLADAS NO RIO CASCAVEL,
PARANÁ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Conservação e Manejo de Recursos Naturais – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais.

Área de Concentração: Conservação e Manejo
de Recursos Naturais

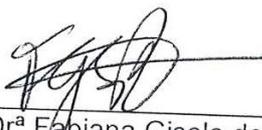
CASCAVEL - PR

2012

MARINÉZ DE SOUZA

“Qualidade da água por indicadores biológicos e análise de resistência de cepas de *Escherichia coli* isoladas no rio Cascavel, Paraná”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação stricto sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais-Nível de Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, pela comissão Examinadora composta pelos membros:



Profª Drª Fabiana Gisele da Silva Pinto
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente/Orientadora)



Prof. Dr. Pitágoras Augusto Piana
Universidade Estadual do Oeste do Paraná



Profª Drª Yara Moretto Bagatini
Universidade Federal do Paraná – Campus Palotina-PR

Aprovada em 23 de março de 2012.

Local da defesa: Unioeste, Prédio de Salas de Aula, sala 56, Cascavel-PR.

Dedicatória

A meus pais Jorge Eloir de Souza e Antonia Dias de Souza. Sem vocês não teria
chegado até aqui!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, saúde e pelas pessoas especiais que colocou em minha vida.

A Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *Campus* de Cascavel, em especial ao Programa de Pós Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, pelo apoio e oportunidade de realização do curso.

À Fundação Parque Tecnológico Itaipu, Programa de Ciência e Tecnologia, pela disponibilização da bolsa de estudos.

A professora Dr^a Fabiana Gisele da Silva Pinto pela dedicação, ensinamentos, críticas e orientação deste trabalho.

Ao professor Dr. Pitágoras Augusto Piana, pelos ensinamentos, críticas, sugestões e pela orientação nas análises estatísticas.

Aos membros do Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia Agrícola e do Laboratório de Saneamento Ambiental por terem contribuído com a concretização dos resultados alcançados neste trabalho.

Aos pesquisadores e professores da banca examinadora pela atenção e contribuição.

À minha família, pois sem eles seria muito difícil vencer esse desafio.

À Edgard Cavalheiro, Fernando Zacchi, Guilherme Otto Rolla, Kleber Rouglas Mello, Luciane Tondo, Marizete Laufer, Rute Cristina Bach, Thiago Bergamaschi, Vanessa Bonfim, Wagner Guarneri e demais amigos que tornaram mais fácil minha caminhada.

E a todos aqueles que, apesar de não citados, colaboraram direta ou indiretamente para a realização de mais uma importante etapa em minha vida.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 OBJETIVO GERAL	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 QUALIDADE AMBIENTAL DO RIO CASCAVEL	4
3.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DA ÁGUA	6
3.3 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DA ÁGUA	7
3.4 ORIGEM DE CONTAMINAÇÃO E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA	9
3.5 ÍNDICE DE QUALIDADE DE ÁGUA - IQA.....	10
4 CAPÍTULO 1: QUALIDADE DA ÁGUA POR INDICADORES AMBIENTAIS E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE CEPAS DE <i>Escherichia coli</i> ISOLADAS NO RIO CASCAVEL, PARANÁ	12
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	12
INTRODUÇÃO.....	13
MATERIAL E MÉTODOS	15
RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS	29
5 REFERÊNCIAS	35
ANEXO	41

1 INTRODUÇÃO

Em decorrência do grande desenvolvimento da sociedade, o avanço urbano é inevitável, haja vista o elevado crescimento populacional e sua concentração nas cidades. Tratando-se da realidade brasileira, a urbanização deu-se de maneira aleatória, e conseqüentemente sem o devido planejamento, o que tornou freqüente o “embate” entre a expansão urbana e os recursos hídricos (OLIVEIRA; VESTENA; THOMAZ, 2010). A qualidade da água em vários rios tem diminuído devido ao despejo de poluentes como resíduos domésticos e industriais e armazenamentos subterrâneos de resíduos tóxicos (GONCHARUK, 2007; NASH et al., 2009; SILVA et al., 2010).

Em conseqüência, surge a necessidade de monitorar os cursos hídricos a fim de disponibilizar informações que permitam propor medidas adequadas de manejo para manter os ambientes aquáticos com qualidade ecológica (STRIEDER et al., 2006). Desta forma, estudos que investiguem a qualidade da água em seus diferentes níveis são importantes contribuições para a compreensão dos impactos causados pela interferência humana das áreas adjacentes (PERES et al., 2008).

Nesse contexto, insere-se o estudo da bacia hidrográfica do rio Cascavel, que possui nascentes localizadas no perímetro urbano e apresenta fragilidade ambiental devido ao tipo de uso e ocupação do solo, que atualmente é de natureza urbana e rural. Os pontos mais críticos dessa bacia são suas nascentes localizadas na área urbana da cidade e a presença da rodovia federal BR-277 que, por cruzar toda a região da bacia, em caso de acidentes com cargas perigosas, pode inclusive comprometer o abastecimento de água do município, já que parte da produção total de água do sistema de abastecimento público da cidade de Cascavel, Paraná, provêm dessa bacia (TOSIN, 2005).

O rio Cascavel nasce na região do lago municipal e grande parte da área urbana do município está situada dentro de sua bacia hidrográfica, situação esta que agrava as condições ambientais desse manancial à medida que se acelera o uso e ocupação do solo (TOSIN, 2005).

Por essas razões esta pesquisa estabeleceu como objetivos: i) avaliar a qualidade da água do rio Cascavel, município de Cascavel, Paraná, em três trechos de coleta utilizando indicadores microbiológicos, físicos e químicos de poluição; ii) avaliar a qualidade da água empregando o Índice de Qualidade da Água – IQA; iii) verificar os fatores físicos e químicos que influenciam os níveis de crescimento dos grupos de micro-organismos Coliformes Totais e Termotolerantes; iv) comparar as concentrações de Coliformes totais e Termotolerantes entre as três regiões do rio; e v) avaliar a suscetibilidade/resistência das cepas de *Escherichia coli* isoladas aos antimicrobianos comerciais.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a qualidade da água do rio Cascavel, Paraná, através de indicadores ambientais de poluição e identificar a suscetibilidade/resistência das cepas de *Escherichia coli* isoladas aos antimicrobianos comerciais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1) Estabelecer as condições microbiológicas da água do rio Cascavel, por meio da determinação do Número Mais Provável (NMP) de bactérias Coliformes Totais e Termotolerantes;

2) Comparar os resultados das análises microbiológicas, físicas e químicas com os parâmetros exigidos pela Portaria nº 518 do Ministério da Saúde (MS) e Resoluções nº 357 e 274 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA);

3) Avaliar a qualidade da água empregando o Índice de Qualidade da Água – IQA;

4) Avaliar os parâmetros físicos e químicos de temperatura, pH, cor, turbidez, condutividade elétrica, nitrogênio total e fósforo total identificando quais influenciam os níveis de crescimento dos grupos de micro-organismos Coliformes Totais e Termotolerantes;

5) Comparar as concentrações de Coliformes Totais e Termotolerantes entre as regiões de estudo no rio;

6) Avaliar a suscetibilidade/resistência das cepas de *Escherichia coli* isoladas aos antimicrobianos comerciais.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 QUALIDADE AMBIENTAL DO RIO CASCAVEL

A conservação dos ecossistemas e dos recursos naturais é a condição básica para seu desenvolvimento, principalmente no que diz respeito à manutenção dos processos ecológicos fundamentais, como os ciclos hidrológicos, a reciclagem de nutrientes e a fotossíntese (DIEGUES, 2010). Um aspecto pertinente e relevante para este estudo é a vulnerabilidade da bacia do rio Cascavel, que apresenta uma área de drenagem de 50, 11 km² e comprimento de 17,5 km com altitude máxima de 767 m e mínima de 718 m (CASCAVEL, 2011). Dentre os principais problemas nela identificados, pode-se destacar sua localização parcialmente urbanizada, especialmente na área de suas nascentes, e a ausência de vegetação ciliar tanto nas áreas urbanas quanto rurais, o que tem resultado no desenvolvimento de processos de erosão e assoreamento do manancial, afetando especialmente a região da nascente deste rio (CREPALI, 2007).

Segundo Tosin (2005), os constantes problemas de poluição no rio Cascavel poderão comprometer futuramente o abastecimento de água potável da população, já que este representa cerca de 80% da produção total do sistema de abastecimento público de água do município. Apesar do reduzido tamanho dessa bacia, torna-se evidente a necessidade do monitoramento ambiental e a constante busca pela minimização dos impactos humanos sobre este ambiente. Sendo assim, foram estabelecidos pontos distribuídos ao longo do rio Cascavel, PR para realização de estudos voltados a avaliação das condições ambientais dessa bacia: ponto 1 (nascente), ponto 2 (região mediana do rio) e ponto 3 (foz).

A nascente do rio Cascavel está localizada na barragem do lago municipal de Cascavel, Paraná, no Vertedouro do lago (24°57'55.35" S; 53°26'02.28" W). A vertente principal do vertedouro está situada em área urbana, nas proximidades de duas avenidas de grande movimentação no município (Avenida Brasil e Avenida Rio Branco). Além disso, essa região possui contribuição do parque

ecológico Paulo Gorski, um lago reservatório de abastecimento com mata nativa em regeneração e do parque Danilo Galafassi no qual se encontra o zoológico municipal com 17 há do remanescente da Floresta subtropical, com araucárias nativas. Inclui também a área militar e bairros em franco processo de urbanização (bairros Caravelli e Nova York), com contribuintes de drenagem pluvial do centro da cidade.

Os contribuintes desse local eram de maior vazão e hoje se apresentam como pequenas vertentes numa grande área de erosão, junto as saídas de águas pluviais. Considerando que o lago artificial que recebe esses afluentes, recebe um grande aporte de sólidos que assoreiam a região. Encontra-se distante da sua primeira nascente, cabeceira, 2800 metros.

A região mediana do rio está localizada em área urbana ao final da rua Universitária (24°59'16.57" S; 53°26'13.19" W). Esse trecho do rio se diferencia dos demais devido a grande pressão demográfica e ao elevado número de residências localizadas em seu entorno.

O curso d'água nessa região é composto pelo efluente de saída do lago, vertedouro, passa por manilhas que formam um canal através de uma grande área de várzea com vegetação característica de área úmida, possuindo no seu entorno vegetação de maior porte. Também recebe tributário de aflente do Bairro Maria Luiza, córrego que nasce no bairro Pacaembu, trecho canalizado. Cruza a rodovia BR 277 e atravessa o bairro Cascavel Velho, recebendo efluente do bairro e áreas rurais com pastagens e passa atrás de uma fábrica de milho (farinheira). Nas proximidades existe uma pedreira desativada, com vertentes formando uma lagoa. Após esse trecho o rio tem a contribuição das águas de afluentes vindos do bairro Universitário, até seu encontro com o córrego Jaboticabal que nasce logo abaixo do Trevo Cataratas e recebe galerias pluviais do Jardim Presidente e Nova Itália. Ao final da rua Universitária ocorre significativo aumento em sua vazão.

A seqüência do curso do rio, ou seja, sua foz localiza-se em área rural (25°01'43.66" S; 53°28'02.29" W), próxima a estação de captação de água do município – SANEPAR (Companhia de Saneamento do Paraná) e caracteriza-se por intensa atividade agropecuária.

3.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DA ÁGUA

De acordo com a Resolução nº 357 de 17 de março de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA, a qualidade do ambiente aquático pode ser avaliada através de indicadores biológicos, quando apropriado, utilizando-se organismos e/ou comunidades aquáticas. Mas segundo Donadio, Galbiatti e Paula (2005), o uso de características físicas e químicas associadas às características biológicas da água também são indicadores que possibilitam relacionar as alterações ocorridas nas bacias, sejam estas de origem antrópica ou natural.

Dentre os parâmetros físicos e químicos importantes no estudo da qualidade da água estão pH, temperatura, cor, turbidez, condutividade elétrica, sólidos totais, sólidos suspensos, nitrogênio total e fósforo total.

O pH é de extrema utilidade, pois fornece inúmeras informações a respeito da qualidade da água. Nas águas naturais as variações deste parâmetro são ocasionadas geralmente pelo consumo e/ou produção de dióxido de carbono (CO₂), realizado pelos organismos fotossintetizadores e pelos fenômenos de respiração/fermentação de todos os organismos presentes na massa de água, produzindo ácidos orgânicos fracos (GONÇALVES, 2009). Este parâmetro associado com a temperatura adequada determina então, a capacidade da água em manter o crescimento de algas e outras formas de vida aquática, o que pode ser considerado como sua fertilidade (MANAHAN, 2006).

A cor da água é produzida pela reflexão da luz em partículas minúsculas, denominadas colóides, finamente dispersas, de origem predominantemente orgânica e dimensão inferior a um micrometro (LIBÂNIO, 2005). E ainda, apresenta diferentes colorações, podendo ser amarelada, por influência de materiais como folhas e detritos orgânicos, ou escura ou negra, quando atravessa áreas de vegetação densa (GONÇALVES, 2009). Os compostos orgânicos que conferem cor às águas naturais são provenientes basicamente de duas fontes: em maior magnitude, da decomposição de matéria orgânica de origem predominantemente vegetal e do metabolismo de micro-organismos presentes no solo, ou ainda, de atividades antrópicas, tais como descargas de efluentes domésticos ou industriais, lixiviação de vias urbanas e solos agriculturáveis (LIBÂNIO, 2005).

A turbidez de uma amostra de água é o grau de atenuação de intensidade que um feixe de luz sofre ao atravessá-la, devido à presença de sólidos em suspensão, tais como partículas inorgânicas e de detritos orgânicos, algas e bactérias, plâncton em geral, etc. Ela limita a penetração de raios solares, restringindo a realização da fotossíntese que, por sua vez, reduz a reposição do oxigênio. Uma das causas da turbidez justifica-se pela presença de partículas em suspensão, ou de substâncias em solução, relativas à cor, e que pode concorrer para o agravamento da poluição (GONÇALVES, 2009).

A condutividade elétrica indica a capacidade da água natural de transmitir corrente elétrica em função da presença de substâncias dissolvidas que se dissociam em ânions e cátions, sendo, por consequência, diretamente proporcional à concentração iônica (MOURA; ASSUMPÇÃO; BISCHOFF, 2009).

A concentração de nitrogênio é muito importante no funcionamento dos ecossistemas aquáticos, pois uma de suas formas mais comuns, o nitrito, apresenta-se em baixas concentrações em ambientes oxigenados (PORTUGUÊS; SILVA, 2010). Já o fósforo aparece em águas naturais devido principalmente às descargas de esgotos sanitários. Nestes, os detergentes superfosfatados empregados em larga escala domesticamente constituem a principal fonte, além da própria matéria fecal, que é rica em proteínas. Alguns efluentes industriais, como os de indústrias de fertilizantes, pesticidas, químicas em geral, conservas alimentícias, abatedouros, frigoríficos e laticínios, apresentam fósforo em quantidades excessivas (GONÇALVES, 2009).

No entanto, cabe salientar, que a interpretação dos resultados das análises de qualidade das águas até então mencionadas mudam ao longo do ano, em função de fatores meteorológicos, sazonalidade, lançamentos poluidores e vazões.

3.3 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DA ÁGUA

Além dos fatores físicos e químicos, alguns micro-organismos, como o grupo dos Coliformes Totais e Termotolerantes, também são indicadores de contaminação muito utilizados no monitoramento da qualidade da água (TOGASHI et al., 2008).

Os micro-organismos pertencentes ao grupo dos Coliformes Totais são os capazes de fermentar a lactose com produção de gás em 24 a 48 horas a 35°C. São cerca de 20 espécies, dentre as quais se encontram tanto as bactérias originárias do trato gastrintestinal de humanos e outros animais homeotermos, como também diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas, como *Serratia* e *Aeromonas*, por exemplo. Por essa razão, sua enumeração em água e alimentos é menos representativa, como indicação de contaminação fecal, do que a enumeração de Coliformes Termotolerantes ou *Escherichia coli* (SILVA et al., 2007).

A definição de Coliformes Termotolerantes é semelhante à de Coliformes Totais, porém, restringe-se aos membros capazes de fermentar a lactose com produção de gás em 24 a 48 horas a temperatura de 44,5 – 45,5°C. Esta definição objetivou, em princípio, selecionar apenas os coliformes originários do trato gastrintestinal. Atualmente sabe-se, entretanto, que o grupo de Coliformes Termotolerantes inclui pelo menos três gêneros: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, dos quais dois (*Enterobacter* e *Klebsiella*) incluem cepas de origem não fecal. Por esse motivo, a presença de Coliformes Termotolerantes é menos representativa, do que a enumeração direta de *E. coli* (SILVA et al., 2007), evidenciando apenas risco da presença de organismos patogênicos de origem fecal (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 2007).

Dentre as bactérias de habitat reconhecidamente fecal, dentro dos grupos de Coliformes Termotolerantes, *E. coli* é a mais conhecida e a mais facilmente diferenciada dos membros não fecais (SILVA et al., 2007). Essa bactéria é considerada o melhor indicador de contaminação de origem fecal e sua presença em água representa a confirmação de contaminação recente por fezes e a possível presença de bactérias patogênicas (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 2007).

Nogueira et al. (2003) ao pesquisarem a qualidade de 3.073 amostras de água (tratadas e não tratadas) pela técnica tradicional de Número Mais Provável (NMP), tanto em ambiente urbano quanto rural na região de Maringá, no período de 1996 a 1999 observaram que 83% das amostras de água não tratada apresentaram contaminação por Coliformes Totais e destas 48% pertenciam ao grupo de Coliformes Termotolerantes.

Resultados semelhantes foram encontrados por Amaral et al. (2003), em amostras de águas de poços de propriedades rurais da região Nordeste do Estado de São Paulo e por D'Águila et al. (2000) na avaliação da qualidade microbiológica de água de rios do Município de Nova Iguaçu, Estado do Rio de Janeiro. Ambos encontraram um nível de contaminação por Coliformes Totais e Termotolerantes próximos a 100% nas amostras analisadas.

3.4 ORIGEM DE CONTAMINAÇÃO E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA

Uma alternativa para avaliação da qualidade microbiológica da água consiste no exame de indicadores de contaminação fecal sendo que a bactéria *Escherichia coli* é o indicador de contaminação fecal mais comumente utilizado, pois ocorre em grande número na flora intestinal humana e de animais (AMARAL et al., 2003). Parveen et al. (2001) alertaram que a presença de *E. coli* no ambiente aquático não indica somente a presença de fezes humanas o que justifica a necessidade em se utilizar métodos que diferenciem a contaminação fecal humana da contaminação fecal não humana. Bactérias indicadoras de poluição fecal, como *E. coli*, apresentam características genéticas peculiares dependendo de sua origem. Uma das metodologias existentes para diferenciar cepas de bactérias originárias de diferentes fontes é a determinação do perfil de suscetibilidade antimicrobiana.

Bactérias resistentes a antibióticos são encontradas em diferentes nichos ecológicos. Dentre esses nichos, o ambiente aquático é considerado como o mais eficiente para a seleção de populações bacterianas resistentes, bem como para a troca de genes de resistência, por meio de elementos genéticos móveis (ALI ABADI; LEES, 2000; WEGENER; MOLLER, 2000).

Com o uso comum de antibióticos na aquicultura, principalmente em países em desenvolvimento, onde não há regulamentação para o uso de drogas em ambientes aquáticos, percebe-se que muitos dos produtores ignoram que o uso indiscriminado destes proporciona, dentre os principais riscos, a seleção de bactérias resistentes no ambiente aquático, a alteração da microbiota dos ambientes de cultivo e a transferência de resistência para bactérias potencialmente patogênicas aos seres humanos (HÖLMSTROM; GRÄSLUND;

WAHLSTRÖM, 2003). Sendo assim, pode-se dizer que a vigilância da resistência antimicrobiana no ambiente aquático é essencial para disponibilizar informações sobre a magnitude e tendências, e para monitorar o efeito das intervenções sobre os micro-organismos já que sua prevalência de resistência em ambiente aquático pode variar nas diferentes regiões ou épocas do ano (WHO, 2006).

Costa (2007) observaram em seus estudos que 98,1% dos isolados de *E. coli* analisados, apresentaram resistência a pelo menos um dos treze agentes antimicrobianos testados. A multi-resistência tem sido citada por diversos autores (BACCARO et al., 2002; GUERRA et al., 2003) apresentando níveis mais elevados em cepas isoladas em rios próximos a criadouros de suínos e aves (GUERRA et al., 2003), fato que se deve à pressão de seleção causada pela adição indiscriminada de antibióticos na ração animal.

Lima et al. (2009) também observaram que 25% das cepas de *E. coli* isoladas de água e sedimento de viveiros de fazendas mostraram-se resistentes aos antimicrobianos ampicilina, tetraciclina, cefalotina, sulfametoxazol-trimetropim. Uma explicação para isso seria que dentre os fatores que podem ter contribuído para que elas se tornassem resistentes estão: mutações causadas por influência de fatores ambientais e/ou modificações genéticas intrínsecas da própria bactéria.

Gallert, Fund e Winter (2005) verificaram cepas de *E. coli* com elevados índices de resistência (>90%) à penicilina, ampicilina e vancomicina em um rio localizado próximo a canos de emissão de esgotos domésticos. Já, em um poço localizado a 410 m de distância deste ponto, observaram ausência de coliformes. Estes resultados apontam a influência da emissão de efluentes na contaminação de águas e a veiculação de micro-organismos resistentes implicando em risco à saúde humana e animal.

3.5 ÍNDICE DE QUALIDADE DE ÁGUA - IQA

Para a caracterização da qualidade da água utilizam-se parâmetros que representam suas características físicas, químicas e biológicas, são os chamados indicadores de qualidade de água. Estes parâmetros foram estabelecidos pela *National Sanitation Foundation* (NSF), nos Estados Unidos, através de pesquisa

de opinião junto a vários especialistas da área ambiental, que desenvolveram um índice que indica a qualidade da água – IQA (FERREIRA; ALMEIDA, 2005; CETESB, 2011).

O IQA é um instrumento matemático usado para transformar grandes quantidades de dados de qualidade de água em um único número que fornece uma ferramenta simples e compreensível para os possíveis usos de um dado corpo d'água (BORDALO; NILSUNRANCHIT; CHALERMWAT, 2001). Possui o propósito de melhorar a compreensão das questões de qualidade da água por integração de dados microbiológicos, físicos e químicos complexos gerando uma pontuação que descreve e avalia tendências de qualidade (KANNEL et al., 2007).

No Brasil, o IQA da *National Sanitation Foundation* foi adaptado pela Companhia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo – CETESB (ANDRADE et al., 2005; CETESB, 2011). No cálculo original do IQA pela NSF considera-se nove parâmetros: oxigênio dissolvido, Coliformes Termotolerantes, pH, demanda bioquímica de oxigênio, nitrogênio nitrato, fosfato total, temperatura da água, turbidez e sólidos totais. No entanto, a CETESB realizou uma adaptação deste índice onde considera-se o nitrogênio total ao invés do nitrogênio nitrato (FERREIRA; ALMEIDA, 2005; CETESB, 2011).

Os valores do Índice de Qualidade de Água podem variar entre 0 e 100, conforme especifica a Tabela 1.

Tabela 1. Classificação de qualidade das águas.

Categoria	Ponderação
Ótima	$79 < IQA \leq 100$
Boa	$51 < IQA \leq 79$
Regular	$36 < IQA \leq 51$
Ruim	$19 < IQA \leq 36$
Péssima	$IQA \leq 19$

Fonte: CETESB (2011).

4 CAPÍTULO 1: QUALIDADE DA ÁGUA POR INDICADORES AMBIENTAIS E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE CEPAS DE *Escherichia coli* ISOLADAS NO RIO CASCAVEL, PARANÁ

Revista Engenharia Agrícola (EA)

QUALIDADE DA ÁGUA POR INDICADORES AMBIENTAIS E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE CEPAS DE *Escherichia coli* ISOLADAS NO RIO CASCAVEL, PARANÁ

RESUMO: Neste estudo foi avaliada a qualidade da água do rio Cascavel, município de Cascavel, Paraná, utilizando indicadores microbiológicos, físicos e químicos de poluição e a suscetibilidade/resistência das cepas de *Escherichia coli* isoladas aos antimicrobianos comerciais. As amostragens de água foram realizadas entre julho-2010 e junho-2011, em três pontos: a) próximo a nascente; b) área urbana; c) área rural. As amostras foram analisadas quanto aos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos: temperatura, pH, cor, turbidez, condutividade elétrica, nitrogênio total e fósforo total, coliformes totais (CT), coliformes termotolerantes (CTe) e *Escherichia coli*. Foram realizados também testes de resistência a nove antimicrobianos comerciais. Os parâmetros estudados indicaram que a água do rio Cascavel apresenta-se em desacordo com a legislação nacional vigente, classificando-se como regular no índice de qualidade de água. As variáveis físicas, químicas e a precipitação não influenciaram o crescimento de CT e CTe, sendo maiores as contagens de *E. coli* na área urbana. Os maiores perfis de resistência das cepas de *E. coli* isoladas das águas do rio Cascavel foram encontrados no ponto 2, área urbana, como provável consequência da influência humana sobre a qualidade da água.

Palavras-chave: recursos hídricos, variáveis físicas e químicas, poluição hídrica, coliformes, microbiologia, IQA.

WATER QUALITY INDICATORS FOR ENVIRONMENTAL AND RESISTANCE PROFILE OF *Escherichia coli* STRAINS ISOLATED IN RIO CASCAVEL, PARANÁ

ABSTRACT: In this article it was evaluated the quality of water in the Cascavel river, in the city of Cascavel, Paraná. Using microbiological indicators, physical and chemical pollution and susceptibility / resistance in strains of *Escherichia coli* isolated antimicrobial

trade. The water sampling was conducted between 2010-July and 2011-June at three points: a) near the source, b) urban area, c) rural areas. The samples were analyzed for physical, chemical and microbiological: temperature, pH, color, turbidity, electrical conductivity, total nitrogen and total phosphorus, total coliforms (CT), fecal coliform (CTe) and *Escherichia coli*. Tests were also performed to nine antimicrobial commercial resistances. The parameters studied indicated that the Cascavel river water was presented at odds with the national legislation in force, ranking in the index as regular water quality. The physical, chemical and rainfall did not affect the growth of CT and CTe, with higher counts of *E. coli* in the urban area. The greatest resistance profiles of the strains of *E. coli* isolated from Cascavel river water was found in section 2, the urban area as a probable consequence of human influence on water quality.

Keywords: water resources, physical and chemical parameters, water pollution, coliforms, microbiology, WQI.

INTRODUÇÃO

Os corpos hídricos que abastecem as cidades, podem ser utilizados para diversas finalidades, como consumo humano e animal, industrial, agrícola, irrigação, geração de energia elétrica e recreação (MASSOUD, 2011). A qualidade da água em vários rios tem diminuído devido ao despejo de poluentes de origem pontual e difusa, sendo que nas cidades onde não há um sistema de tratamento de esgoto eficiente, o despejo de esgoto doméstico é uma das principais fontes de poluição, estimulando o crescimento de bactérias e outros micro-organismos, incluindo aqueles de origem fecal (GONCHARUK, 2007; NASH et al., 2009).

Os principais grupos de bactérias utilizados para indicar os níveis de poluição na água são coliformes totais (CT) e termotolerantes (CTe), e mais especificamente a *Escherichia coli* (PLUMMER & LONG, 2007; SILVA et al., 2010). Além da presença dos coliformes, a avaliação do perfil de resistência dos micro-organismos frente aos diversos antimicrobianos de uso indicado para população humana, tem sido indicada para avaliar a origem antropogênica de contaminação de um manancial (SILVA et al., 2010).

Outros parâmetros são importantes no estudo da qualidade da água, dentre eles os físicos e químicos, os quais fornecem informações sobre a capacidade da água em manter o crescimento de algas e outras formas de vida aquática, além de tornar possível a determinação dos impactos gerados por atividades antrópicas, como descargas de efluentes domésticos, industriais, comerciais, lixiviação de vias urbanas e solos agriculturáveis (LIBÂNIO, 2005; MANAHAN, 2006). Outro método utilizado como ferramenta de suporte em estudos de caracterização da qualidade da água de rios é o Índice de Qualidade de Água – IQA, o qual leva em consideração os componentes físicos, químicos e microbiológicos de forma integrada.

A bacia hidrográfica do rio Cascavel (BHRC) localizada a oeste do Estado do Paraná, apresenta área de drenagem de 50,11 km², comprimento de 17,5 km e com altitude máxima de 767 m e mínima de 718 m, sendo responsável por cerca de 80% da produção total do sistema de abastecimento público de água do município de Cascavel (CASCAVEL, 2011). Dentre os principais problemas identificados, pode-se destacar sua localização parcialmente urbanizada, especialmente na área de suas nascentes, e a ausência de vegetação ciliar tanto nas áreas urbanas quanto rurais, resultando no desenvolvimento de processos de erosão e assoreamento do manancial, afetando especialmente a região da nascente deste rio (CREPALI, 2007).

Desta forma, o presente estudo teve como objetivos: a) avaliar a qualidade da água do rio Cascavel, município de Cascavel, Paraná, em três trechos de coleta utilizando indicadores microbiológicos, físicos e químicos de poluição; b) avaliar a qualidade da água empregando o Índice de Qualidade da Água – IQA; c) verificar os fatores físicos e químicos que influenciam os níveis de crescimento dos grupos de micro-organismos CT e CTe; d) comparar as concentrações de CT e CTe entre as três regiões do rio; e) avaliar a

suscetibilidade/resistência das cepas de *E. coli* isoladas aos antimicrobianos comerciais, correlacionando-os com as possíveis fontes poluidoras.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na BHRC sendo realizadas coletas mensais no período de julho de 2010 a junho de 2011, compreendendo três pontos distribuídos ao longo do rio Cascavel (Figura 1). O ponto 1 (P1) representa o Vertedouro do Lago, próximo a nascente (24°57'55" S e 53°26'02" W), ponto 2 (P2) representa a área urbana (24°59'16" S e 53°26'13" W) e o ponto 3 (P3) representa a área rural próxima a estação de captação de água do município (SANEPAR – Companhia de Saneamento do Paraná) (25°01'43.66" S e 53°28'02" W).

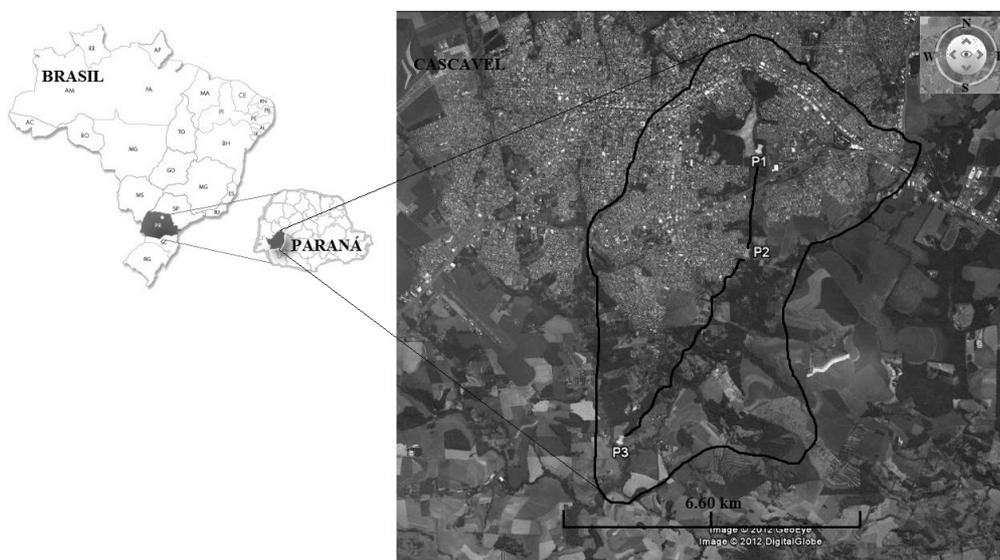


FIGURA 1. Localização da área de estudo. Bacia do rio Cascavel, Paraná com os pontos de coleta de água. P1: Vertedouro; P2: Área urbana 2; P3: Área rural.
Location of the study area. River Basin Cascavel, Paraná with the water collection points. P1: Spillway, P2: Urban area 2, P3: Rural area.

As amostras de água coletadas foram acondicionadas em frascos de vidro de 300 mL, previamente esterilizados em autoclave a temperatura de 121 °C por 15 min. Após a coleta das amostras (tréplicas), os frascos foram transportados em caixas isotérmicas para o laboratório de Microbiologia e Biotecnologia Agrícola e Saneamento Ambiental da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *Campus* de Cascavel, para realização das análises microbiológicas, físicas e químicas. Posteriormente, valores mensais de precipitação foram obtidos junto a SIMEPAR/Curitiba.

As análises microbiológicas de CT e CTe foram realizadas segundo metodologia do Número Mais Provável (NMP) descrita por SILVA et al. (1997). As análises físicas e químicas de temperatura, pH, cor, turbidez, condutividade elétrica, nitrogênio total, fósforo total, oxigênio dissolvido, demanda bioquímica de oxigênio e sólidos totais seguiram metodologia descrita no Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998). Os resultados foram comparados com os parâmetros exigidos pela Portaria nº 518 do Ministério da Saúde (MS) e Resoluções nº 357 e 274 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) que estabelecem diretrizes para o controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano, padrão de potabilidade e condições de balneabilidade.

Na caracterização do índice de qualidade de água – IQA utilizou-se o índice modificado pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB, 2011) onde os valores do índice variam entre 0 e 100 em categorias: ótima ($79 < IQA \leq 100$), boa ($51 < IQA \leq 79$), regular ($36 < IQA \leq 51$), ruim ($19 < IQA \leq 36$) e péssima ($IQA \leq 19$).

O perfil de resistência antimicrobiana foi avaliado de acordo com as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLSI, 2007). Os antimicrobianos testados foram: Cloranfenicol (30 µg), Sulfazotrim (23.75 ug + 25 ug), Gentamicina (10

μg), Ampicilina (10 μg), Cefalotina (30 μg), Imipenem (10 μg), Tetraciclina (30 μg), Estreptomicina (10 μg) e Penicilina (10 μg). Utilizou-se como cepa referência *Escherichia coli* ATCC 25922 (American Type Culture Collection). Os resultados obtidos foram comparados com os dados da Tabela 2A, do documento M100-S17 do CLSI (2007), sendo as análises realizadas em triplicata.

Para a suscetibilidade/resistência das cepas de *E. coli* aos antimicrobianos comerciais foi calculado o índice de resistência a antimicrobianos para cada cepa isolada dos meses de coleta em que *E. coli* esteve presente – IRA, e para cada região do rio – IRAp, conforme metodologia proposta por WEBSTER et al. (2004) e SILVA et al. (2010).

Utilizou-se a análise de variância para os efeitos principais, seguida da comparação de médias pelo teste de Tukey para: a) fins comparativos com as legislações; b) avaliar diferenças significativas entre os parâmetros; c) comparação das concentrações de CT e CTe entre as três regiões do rio e dos meses de coleta.

Para identificar as variáveis físicas e químicas que poderiam influenciar umas as outras, foi adotada uma abordagem multivariada, a Análise de Componentes Principais (ACP). Os dados foram transformados em \log_{10} para aproximar as distribuições de frequência à condição de normalidade. O critério de Kaiser-Guttman (autovalor >1) foi usado para retenção e interpretação dos eixos de ACP (OLIVEIRA et al., 2008).

Na avaliação dos efeitos das variáveis físicas e químicas sobre CT e CTe, os escores dos eixos retidos foram correlacionados às suas abundâncias (por não serem lineares, os dados também foram transformados em \log_{10}) através de correlação de Pearson e de Spearman, sendo consideradas significativas as correlações com $p < 0,05$ em ambos os testes. Além dos fatores físicos e químicos, foi avaliada a possível influência da precipitação sobre CT e CTe com as correlações citadas (a precipitação não foi incluída na ACP por ser única para as três regiões amostradas).

Os valores de IRA (índice de resistência a antimicrobianos) foram comparados entre as regiões do rio através da análise de variância unifatorial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância permitiu verificar que os parâmetros físicos e químicos cor e condutividade elétrica se diferenciaram significativamente a 5% de significância (Tabela 1). Para cor houve diferença significativa entre P1 e P3, sendo observados os maiores valores para área rural (P3). Em relação à condutividade elétrica houve diferença significativa de P1 com os demais pontos (P2 e P3), sendo observados os menores valores em P1.

Uma vez que a poluição por descargas de efluentes domésticos e/ou industriais (poluição pontual) e a lixiviação de vias urbanas acontecem em maior escala na área urbana (P1 e P2), os valores de cor para P3 podem então, ser atribuídos ao despejo de efluentes orgânicos de origem agropecuária nessa região (poluição difusa), e em menor escala à decomposição de matéria orgânica de origem vegetal (LIBÂNIO, 2005; ANDRADE et al., 2007; LUCAS et al., 2010). Como P1, apesar de representar área urbanizada, está localizado na região de nascente do rio, pode-se dizer que sofreu menor influência de atividades antrópicas quando comparado ao ponto 2.

A condutividade elétrica reflete uma relação direta com a presença de sais dissolvidos na forma de íons dissociados eletroliticamente. Este fato explica os menores resultados de condutividade elétrica encontrados em P1 (região de nascente), pois estes íons, na maioria das vezes, originam-se a partir de descargas industriais, consumo de sais

em residência, comércio ou decomposição de rochas (CREPALLI, 2007), fatores estes de maior atuação em P2 (área urbana) e P3 (área rural).

TABELA 1. Valores médios e desvio padrão dos parâmetros microbiológicos, físicos e químicos por ponto de amostragem do rio Cascavel, PR. **Mean values and standard deviation of the microbiological parameters, physical and chemical sampling point by the river Cascavel, PR.**

Parâmetros	P1	P2	P3	¹ CONAMA
Temperatura (°C)	21,08 ± 3,29 ^a	19,33 ± 3,23 ^a	18,42 ± 3,48 ^a	-
pH	6,86 ± 0,44 ^a	6,93 ± 0,30 ^a	6,95 ± 0,8 ^a	-
Cor (units PtCO)	66,51 ± 20,29 ^a	119,90 ± 92,51 ^{ab}	153,33 ± 104,98 ^b	75
Turbidez (NTU)	21,96 ± 32,04 ^a	29,49 ± 32,38 ^a	50,76 ± 56,98 ^a	100
Cond. elétrica (µS/cm)	52,69 ± 6,22 ^a	67,93 ± 11,67 ^b	67,75 ± 12,56 ^b	-
Nitrogênio total (mg/L)	1,03 ± 1,55 ^a	0,96 ± 1,53 ^a	0,84 ± 1,42 ^a	3,7
Fósforo total (mg/L)	0,13 ± 0,08 ^a	0,11 ± 0,04 ^a	0,12 ± 0,05 ^a	0,030
Log CT (NMP/100 mL)	2,81 ± 0,40 ^a	3,45 ± 0,38 ^a	3,18 ± 0,27 ^a	-
Log CTe (NMP/100 mL)	3,35 ± 1,50 ^a	3,84 ± 1,53 ^b	3,66 ± 1,40 ^{ab}	3,40

* Médias na horizontal seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. ** P1: ponto 1; P2: ponto 2; P3: ponto 3. ¹ Resolução CONAMA 357 (2005).

Comparando-se os resultados obtidos nas análises microbiológicas, físicas e químicas com o padrão estabelecido pela Resolução nº 357 do CONAMA (2005), limites para água doce classe 2, observa-se que CTe e cor nos pontos 2 e 3, e fósforo total nos pontos 1, 2 e 3 não apresentam qualidade compatível. Esses resultados se devem provavelmente a atividades antrópicas ao longo do rio em estudo, estando o fósforo total e cor relacionados a esgoto de origem humana (LIBÂNIO, 2005; GONÇALVES, 2009).

Sugere-se ainda, que esse curso de água apresenta grande possibilidade de tornar-se eutrofizado sendo o fósforo apontado como o principal fator responsável pela eutrofização dos sistemas aquáticos (ESTEVES, 1998; CORADI et al., 2009).

Para Portaria nº 518 do Ministério da Saúde (2004), que classifica quanto à potabilidade, as variáveis CT, CTe e turbidez encontraram-se em desacordo com o limite estabelecido em todos os pontos de coleta, classificando a água *in natura* como imprópria para consumo humano, antes de submetida a tratamento convencional. Este fato é preocupante já que a população ribeirinha utiliza a água do rio Cascavel para consumo *in natura*. Além disso, os valores elevados de turbidez podem influenciar na eficácia do processo de desinfecção nas estações de tratamento de água comprometendo a água de consumo (SCHÄFER et al., 2009).

Para classificação das águas doces segundo a Resolução nº 274 do CONAMA (2000), P1, P2 e P3 encontraram-se impróprios para balneabilidade por apresentarem valores superiores a 1000 NMP/mL para o grupo de CTe.

A qualidade microbiológica insatisfatória obtida nesse estudo concorda com as observações de MOURA et al. (2009) durante o monitoramento deste mesmo rio no período de 2003 a 2006, sendo verificada uma elevada taxa de contaminação por CT e CTe. Essa situação é preocupante, o que vem a indicar que mesmo após investigação, não houve providências de caráter corretivo e preventivo nesse manancial.

Na classificação do IQA, as três estações de coleta obtiveram índices próximos: P1 43,63; P2 44,15; e P3 39,43, o que classifica o rio estudado na categoria regular de qualidade de água. Segundo ZANINI et al. (2010) as atividades antrópicas reduzem a qualidade dos corpos d'água, sendo assim, os resultados obtidos eram esperados, já que o rio Cascavel banha uma região que, além de populosa, é pólo industrial e comercial,

recebendo efluentes dos setores agrícola, comercial, metalúrgico e alimentício (laticínios, frigoríficos e abatedouros).

Na análise de componentes principais, que busca avaliar as associações entre as variáveis, evidenciando a participação individual dos elementos físicos, químicos e microbiológicos na qualidade das águas, foram retidos três eixos com auto-valores maiores que um para interpretação (Figura 2).

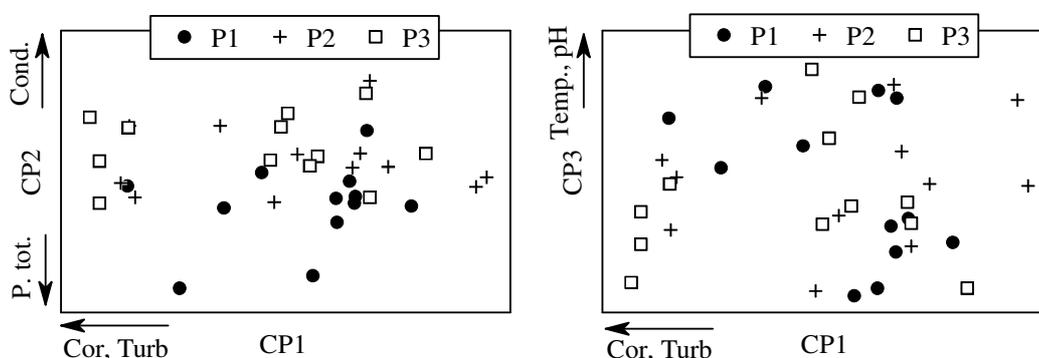


FIGURA 2. Correlações entre as variáveis físicas e químicas analisadas no rio Cascavel, Paraná no período de julho de 2010 a junho de 2011.

Correlations between the physical and chemical variables analyzed in the river Cascavel, Paraná in the period July 2010 to June 2011. *

Turb.: turbidez; Cond.: condutividade elétrica; P.tot.: fósforo total; Temp.: temperatura.

O primeiro eixo explicou 31% da variabilidade e os parâmetros que mais contribuíram negativamente para formação desse eixo foram turbidez e cor da água, com coeficiente de correlação superior a 0,8. Essa componente reflete o teor de material orgânico e inorgânico presente na água (OLIVEIRA et al., 2008; MOURA et al. 2009). No segundo eixo contribuíram positivamente condutividade e negativamente fósforo total, explicando 22% da variabilidade. Essa componente sugere influência de poluição orgânica,

indicativo de ação antrópica na qualidade da água (TAKIYAMA et al. 2003; ANDRADE et al. 2007). No terceiro eixo os parâmetros temperatura e pH contribuíram positivamente para formação, explicando 16% da variabilidade, representando as condições ambientais que afetam o crescimento dos grupos de micro-organismos CT e CTe.

Os eixos retidos na ACP e a precipitação foram correlacionados com as concentrações de CT e CTe. Nenhum destes apresentou relação significativa em ambos os testes de Pearson e Spearman ($p < 0,05$; Figura 3).

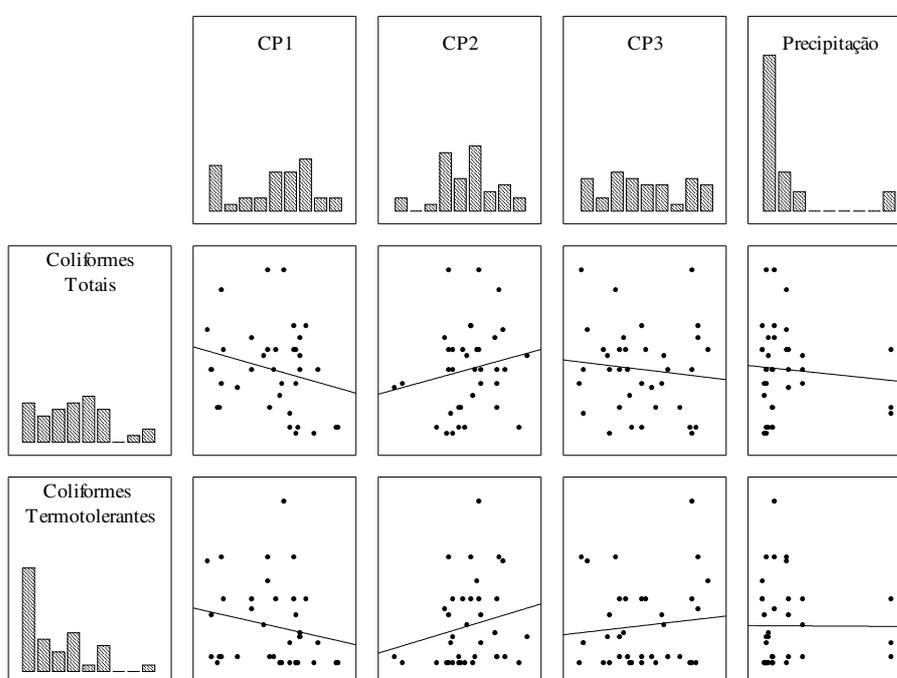


FIGURA 3. Dispersões bivariadas entre os eixos da análise de componentes principais (CP), precipitação e os micro-organismos.

Bivariate dispersions between the axes of principal component analysis (PC), precipitation and micro-organisms.

Os fatores físicos, químicos e precipitação não apresentaram influência sobre o crescimento dos grupos de micro-organismos nesta escala de estudo. A relação entre CT e

os parâmetros físicos e químicos de pH, temperatura, sólidos totais, carbono dissolvido e precipitação foi observada por HONG et al. (2010) em estudo realizado no rio Pérola, China, onde os maiores níveis de CT na estação chuvosa sugerem que a água da chuva serve como importante transportador de micro-organismos nos reservatórios.

As diferenças obtidas nesse estudo podem ser atribuídas às características climáticas da região (clima tipicamente subtropical) ou pelo estado de conservação da região em estudo, sugerindo haver fonte crônica de poluição. OKADA et al. (2003) em pesquisa realizada na planície do Alto Rio Paraná verificaram que a interpretação do efeito de fatores físicos e químicos em micro-organismos muda ao longo dos meses, em função de fatores meteorológicos, sazonalidade, lançamentos poluidores e vazões .

Ao comparar as concentrações de micro-organismos entre as regiões e os meses de coleta pelas análises de variância, foi observado que o Ponto 2 apresentou concentração superior de CTe em relação ao Ponto 1. Tanto os CT quanto os CTe apresentaram concentrações superiores no final da estação de primavera (novembro de 2010). As demais diferenças não foram significativas (Figura 4).

As maiores contagens de bactérias do grupo dos CTe no ponto 2 podem ter resultado de fontes de poluição urbana, que despejam no rio grande quantidade de lixo e resíduo sem adequado tratamento. Como os esgotos de origem doméstica caracterizam-se pela presença de material fecal (ANA, 2011), pode-se dizer que essa fonte de poluição apresentou maior influência na microbiota do rio Cascavel. WEBSTER et al. (2004) em estudo realizado em bacias rurais e urbanas na planície costeira da Carolina do Sul também encontraram níveis de CTe significativamente maiores na área urbana.

Apesar das maiores contagens de CT e CTe terem sido no final da estação de primavera e início da estação de verão, não houve relação significativa com a precipitação. Como os valores de pH estiveram entre 6,5 e 7,5, pH ótimo ao crescimento de bactérias

(RIGOBELLO et al., 2009), as altas contagens desses meses podem ser atribuídas a variação de temperatura, outro fator de grande influência no crescimento de micro-organismos.

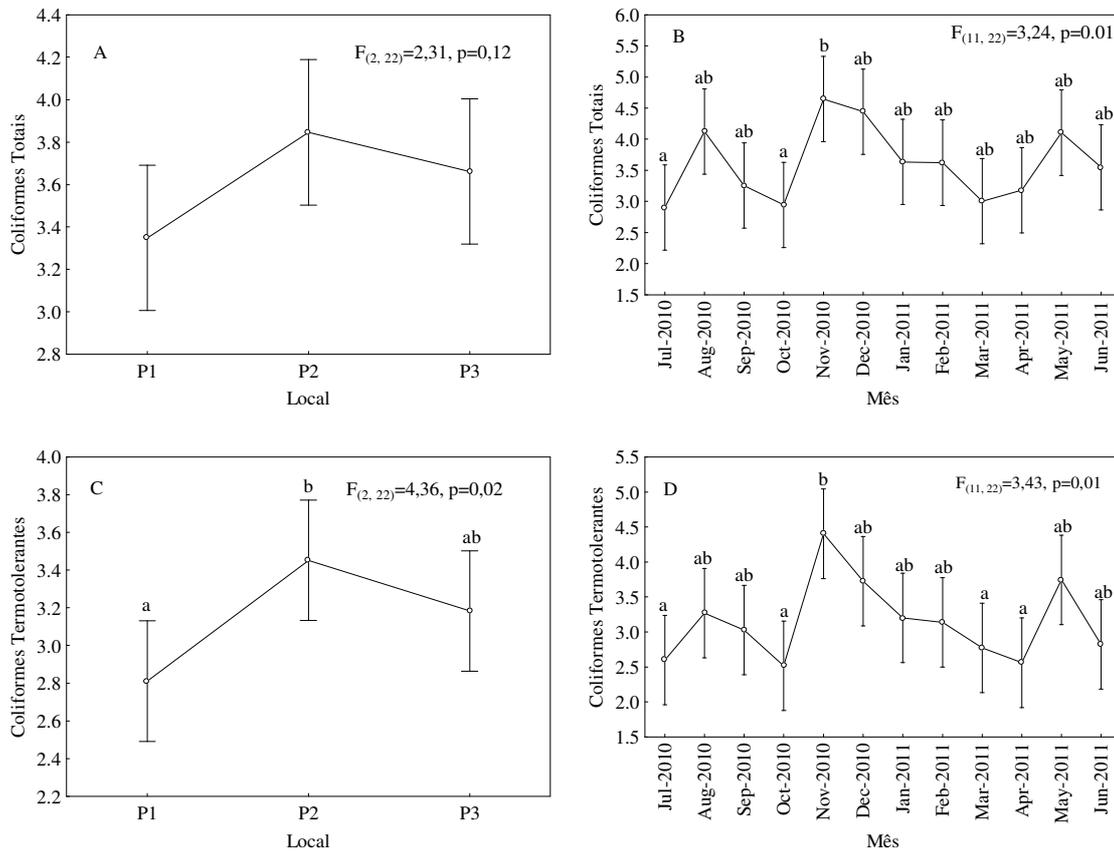


FIGURA 4. Valores médios \pm 95 % de intervalo de confiança para os valores logaritimizado de CT (A e B) e CTe (C e D) obtidos nos locais (A e C) e meses de coleta (B e D) no rio Cascavel. **Mean values \pm 95% confidence interval for the values of CT logaritimizado (A and B) and CTe (C and D) obtained in the regions (A and C) and collection months (B and D) in the river Cascavel.**

A existência de elevado número de micro-organismos em ambientes aquáticos pode propiciar a troca de determinantes de resistência entre grupos de bactérias (HASSANI et al., 1992; MEZRIOUI & BALEUX, 1994). As cepas de *E. coli* isoladas do rio Cascavel

apresentaram diferentes perfis de resistência aos antimicrobianos (Tabela 2), sendo observado no local de maior urbanização (P2) maior prevalência de resistência. O fato de existirem casas próximas a este ponto de amostragem pode ser um fator contribuinte para a identificação de micro-organismos resistentes a um maior número de antimicrobianos, sendo eles ampicilina-estreptomicina-tetraciclina-penicilina (12,5%). Nota-se que isolados a partir deste ponto apresentaram resistência a cefalotina (12,5%), uma situação não observada em P1 e P3. Este fato pode estar relacionado à ampla utilização desse prescrito em enfermidades, como infecções urinárias humanas que ocorrem sazonalmente, aliado à falta de tratamento de esgoto.

TABELA 2. Perfis de resistência a antimicrobianos de cepas de *E. coli* isoladas do rio Cascavel, PR. **Antimicrobial resistance profiles of strains of *E. coli* isolated from the river Cascavel, PR.**

Perfil	P1		P2		P3	
	n	%	n	%	n	%
AMP – EST – TET - PEN	-	-	1	12,5	-	-
AMP – TET – PEN	2	28,6	1	12,5	-	-
CFL – TET – PEN	-	-	1	12,5	-	-
TET – PEN	5	71,4	5	62,5	5	83
EST – PEN	-	-	-	-	1	17
Nº de resistentes a 1 antimicrobiano	-	-	-	-	-	-
Nº de resistentes a 2 antimicrobianos	5	71,4	5	62,5	6	100
Nº de resistentes a 3 antimicrobianos	2	28,6	2	25	-	-
Nº de resistentes a 4 antimicrobianos	-	-	1	12,5	-	-

* AMP: Ampicilina; EST: Estreptomicina; TET: Tetraciclina; PEN: Penicilina; CFL: Cefalotina.

Resultados semelhantes foram observados por WEBSTER et al. (2004) em pesquisa realizada em bacias rurais e urbanas na planície costeira da Carolina do Sul, encontrando

elevado nível de resistência nas cepas de *E. coli* (ampicilina-tetraciclina- ácido nalidíxico- oxitetraciclina- penicilina- estreptomicina- sulfatiazol) provavelmente devido a contaminação por fontes pontuais, por se tratar de área próxima a uma estação de tratamento de esgoto.

O padrão de resistência mais comum para os isolados de *E. coli* foram à penicilina e tetraciclina (16% e 11%, respectivamente), sendo todas as cepas suscetíveis a sulfazotrim, imipenem, gentamicina e cloranfenicol. A elevada taxa de resistência a tetraciclina se deve provavelmente à pressão de seleção exercida pelo uso de antimicrobianos na produção animal intensiva e em animais domésticos, uma vez que tetraciclina é indicada na terapêutica de diversas doenças causadas por bactérias Gram negativas (BARCELLOS & SOBESTIANSKY, 1998; SCHNEIDER et al., 2009). A resistência à penicilina pode estar relacionada à popularidade de prescrição desse antimicrobiano nessa região, tanto para seres humanos, quanto para animais de estimação (WEBSTER et al., 2004).

O uso indiscriminado de antimicrobianos expõe seres humanos e animais a vários riscos, como seleção de bactérias resistentes no ambiente aquático; alteração da microbiota dos ambientes de cultivo; e transferência de resistência para bactérias potencialmente patogênicas aos seres humanos. Estes antimicrobianos podem ser inseridos na cadeia alimentar humana através da ingestão de água por animais no setor pecuário (suínos, bovinos e aves), pescado contaminado e irrigação no setor agrícola (OSTRENSKY & BOEGER, 1998; PETERSEN et al., 2002; HÖLMSTROM et al., 2003; CARNEIRO et al., 2007), o que torna cada vez mais importante pesquisas no sentido de avaliar a origem de contaminação de um manancial.

O estudo do índice de resistência a antimicrobianos de cepas de *E. coli* aos de uso mais comum no tratamento de infecções humanas podem ajudar na identificação da contaminação da água do rio por descargas de esgoto doméstico. WEBSTER et al. (2004)

através da determinação do índice de resistência a antimicrobianos (IRA), classifica as áreas como silvestres e urbanas. O IRA para um local de amostragem (IRAp), classifica os locais de amostragem como pouco afetada, parcialmente afetado, e afetado por ações antrópicas. Quanto menor o valor resultante, menor foi a resistência aos antimicrobianos naquele ponto (SILVA et al., 2010).

Verificou-se que os valores de IRA calculados para cada coleta não apresentaram diferença estatística entre os locais pela análise de variância ($p < 0,05$, Figura 5).

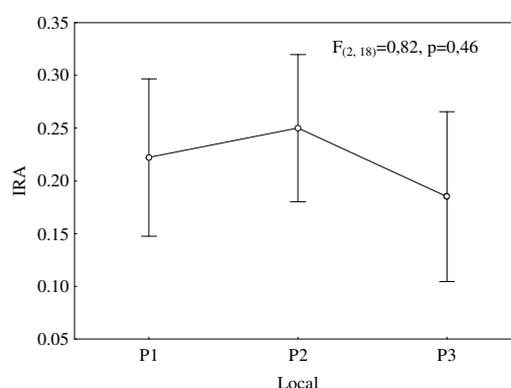


FIGURA 5. Valores médios \pm 95% de intervalo de confiança para os valores de IRA observados nos locais de coleta. **Mean values \pm 95% confidence interval for the values observed in the ARI collection sites.**

A análise dos dados sugere que o ponto 3, apresentou menor influência antrópica direta, quando comparado aos pontos 1 e 2. A concentração de CTe e os resultados de IRAp apresentaram correlação positiva, com o maior índice de IRAp a ser observado no ponto com as maiores contagens de CTe (ponto 2). Nossos dados corroboram com o estudo de SILVA et al. (2010) que ao analisarem a bacia do rio Passaúna-PR, verificaram que os baixos valores de IRAp caracterizavam áreas não urbanizadas, com influência antrópica moderada e sem casas, o que sugere que as cepas de *E. coli* provavelmente eram oriundas

de animais silvestres ou animais de estimação. O maior valor de IRAp (0,137) caracterizava área de grande influência antrópica, o que sugere que as cepas de *E. coli* provavelmente possuíam origem humana.

Neste estudo os valores de IRA calculados para cada coleta, não diferiram estatisticamente entre os locais e apresentaram valores entre 0,11 e 0,44, sendo assim, nenhuma das áreas em estudo pode ser classificada como silvestre. Os resultados mostram os perfis de resistência aos antimicrobianos das cepas de *E. coli* do rio Cascavel, como provável consequência da influência humana sobre a qualidade da água.

CONCLUSÃO

A água do rio Cascavel apresentou-se em desacordo com os padrões nacionais de qualidade de água, classificando-se na categoria regular no IQA

Verificou-se que os fatores físicos, químicos e precipitação não influenciaram os níveis de crescimento tanto de CTe quanto de CT.

Os maiores perfis de resistência encontrados, são referentes aos micro-organismos isolados no ponto 2, como provável consequência da influência antrópica sobre a qualidade da água.

Neste contexto, sugere-se a eliminação e/ou tratamento adequado das possíveis fontes de poluição difusas e pontuais através de mudanças na forma de produção agrícola, pecuária, comercial e industrial visando produtos e efluentes menos agressivos; fiscalização mais rigorosa através da implementação de uma melhor gestão da bacia; e

conscientização da população quanto aos problemas causados à saúde pública pela poluição hídrica.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Fundação Parque Tecnológico do Itaipu (FPTI) pela concessão da bolsa.

REFERÊNCIAS

ANA. *Agência Nacional de Águas*. Disponível em: <http://pnqa.ana.gov.br/IndicadoresQA/IndiceQA.aspx>. Acesso em: 25 de outubro de 2011.

ANDRADE, E.M.; ARAÚJO, L.F.P.; ROSA, M.F.; DISNEY, W.; ALVES, A.B. Seleção dos indicadores da qualidade das águas superficiais pelo emprego da análise multivariada. *Engenharia Agrícola*, Jaboticabal, v.27, n.3, p.683-690, 2007.

APHA. *American Public Health Association - Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater*. 20th ed. Washington: USA, 1998.

BARCELLOS, D.E.S.N.; SOBESTIANSKY, J. *Uso de antimicrobianos em suinocultura*. Goiânia: Art3, 1998, 103p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. *Diário Oficial da União*, Brasília, Distrito Federal, 18 de março de 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. Portaria Ministério da Saúde nº 518, de 25 de março de 2004. *Diário Oficial da União*, Brasília, Distrito Federal, 25 de março de 2004.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 274, de 29 de novembro de 2000. *Diário Oficial da União*, Brasília, Distrito Federal, 30 de novembro de 2000.

CARNEIRO, D.O.; FIGUEIREDO, H.C.P.; PEREIRA JÚNIOR, D.J.; LEAL, C.A.G.; LOGATO, P.V.R. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas em diferentes sistemas de cultivo de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.59, n.4, p.869-876, 2007.

CASCAVEL. *Portal do município de Cascavel*. Disponível em: <http://www.cascavel.pr.gov.br/indicadores.php> . Acesso em: 23 de julho de 2011.

CETESB. *Companhia de Tecnologia Ambiental do Estado de São Paulo*. Disponível em: http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rios/indice_iap_iqa.asp. Acesso em: 20 de outubro de 2011.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARD INSTITUTE (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Seventh Informational Supplement M100-S17*. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne: PA, 2007.

CORADI, P.C.; FIA, R.; PEREIRA RAMIREZ, O. Avaliação da qualidade da água superficial dos cursos de água do município de Pelotas –RS, Brasil. *Ambiente e Água*, Taubaté, v.4, n.2, 2009.

CREPALLI, M.S. *Qualidade da água do rio Cascavel*. 2007. 77f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Cascavel, 2007.

ESTEVEES, F. A. *Fundamentos de Limnologia*, Ed. Interciência, FINEP: Rio de Janeiro, 1998.

GONÇALVES, E.M. *Avaliação da qualidade da água do rio Uberabinha – Uberlândia – MG*. 2009. 159f. Dissertação (Mestrado Tecnologia dos Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2009.

GONCHARUK, V.V. The Concept of Choosing a List of Indices and Their Regulatory Values for Determination of Hygienic Requirements and Control Over the Drinking Water Quality in Ukraine. *Journal of Water Chemistry and Technology*, Kiev, Ukraine, v.29, n.4, p.297-356, 2007.

HASSANI, L.; IMZILN, B.; GAUTHIER, M.J. Antibiotic-resistant *Escherichia coli* from wastewater before and after treatment in stabilization ponds in the arid region of Marakech, Morocco. *Letters in Applied Microbiology*, Espanha, v.15, n.5, p.228-231, 1992.

HOLMSTRÖM, K.; GRÄSLUND, S.; WAHLSTRÖM, A.; POUNGSHOMPOO, S.; BENGTTSSON, B.E.; KAUTSKY, N. Antibiotic use in shrimp farming and implications for environmental impacts and human health. *International Journal of Food Science & Technology*, Oxford, v.38, p.255-266, 2003.

HONG, H.; QIU, J.; LIANG, Y. Environmental factors influencing the distribution of total and fecal coliform bacteria in six water storage reservoirs in the Pearl River Delta Region, China. *Journal of Environmental Sciences*, Madrid, v.22, n.5, p.663-668, 2010.

LIBÂNIO, M. *Fundamentos de qualidade e tratamento de água*. Campinas: Átomo, 2005.

LUCAS, A.A.T.; FOLEGATTI, M.V.; DUARTE, S.N. Qualidade da água em uma microbacia hidrográfica do rio Piracicaba, SP. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v.14, n.9, p.937-943, 2010.

MANAHAN, S.E. *Environmental Chemistry*. 7 ed. Boca Raton (Florida-USA): CRC Press, 2006.

MASSOUD, M.A. Assessment of water quality along a recreational section of the Damour River in Lebanon using the water quality index. *Environmental Monitoring and Assessment*, Beirut, v.1, n.1, 2011.

MEZRIOUI, N.; BALEUX, B. Resistance patterns of *E. coli* strains isolated from domestic sewage before and after treatment in both aerobic lagoon and activated sludge. *Water Research*, Oxford, v.28, n.11, p.2399-2406, 1994.

MOURA, A.C.; ASSUMPÇÃO, R.A.B.; BISCHOFF, J. Monitoramento físico-químico e microbiológico da água do rio Cascavel durante o período de 2003 a 2006. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.76, n.1, p.17-22, 2009.

NASH, M.S.; HEGGEM, D.T.; EBERT, D.; WADE, T.G.; HALL, R.K. Multi-scale landscape factors influencing stream water quality in the state of Oregon. *Environmental Monitoring and Assessment*, Beirut, v.156, n.1, p.343-360, 2009.

OKADA, E.K.A.A.; AGOSTINHO, M.; PETRERE, T. Factors affecting fish diversity and abundance in drying ponds and lagoons in the upper Paraná River basin. *Ecohydrology & Hydrobiology*, Poland, v.3, n.1, p.97-110, 2003.

OLIVEIRA, L.C.; GOMES, B.M.; BAUMGARTNER, G.; SEBASTIEN, N.Y. Variação espacial e temporal dos fatores limnológicos em riachos da microbacia do rio São Francisco Verdadeiro. *Engenharia Agrícola*, Jaboticabal, v.28, n.4, p.770-781, 2008.

OSTRENSKY, A.; BOEGER, W.A. *Piscicultura: fundamentos e técnicas de manejo*. Guaíba: Agropecuária, 1998. 211p.

PETERSEN, A.; ANDERSEN, J.S.; KAEWMAK, T.; SOMSIRI, T.; DALSGAARD, A. Impact of integrated fish farming on antimicrobial resistance in a pond environment. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v.68, p.6036-6042, 2002.

PLUMMER, J.D.; LONG, S.C. Monitoring source water for microbial contamination: Evaluation of water quality measures. *Water Research*, Oxford, v.41, p.3716–3728, 2007.

RIGOBELLO, E.C.; MINGATTO, F.H.; TAKAHASHI, L.S.; ÁVILA, F.A. Padrão físico-químico e microbiológico da água de propriedades rurais na região de Dracena. *Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais*, Curitiba, v.7, n.2, p.219-224, 2009.

SCHÄFER, A.I.; ROSSITER, H.M.A.; OWUSU, P.A.; RICHARDS, B.S.; AWUAH, E. Physico-chemical water quality in Ghana: Prospects for water supply technology implementation. *Desalination*, Oxford, v. 248, P.193–203, 2009.

SCHNEIDER, R. N.; NADVORNY, A.; SCHMIDT, V. Perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* obtidos de águas superficiais e subterrâneas, em área de produção de suínos. *Biotemas*, Florianópolis, v.22, n.3, p.11-17, 2009.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. São Paulo: Varela, p.8-11, 32-38, 1997.

SILVA, T.F.B.X.; RAMOS, D.T.; DZIEDZIC, M.; OLIVEIRA, C.M.R.O.; VASCONCELOS, E.C. Microbiological Quality and Antibiotic Resistance Analysis of a Brazilian Water Supply Source. *Water Air Soil Pollut*, Netherlands, v.1, n.1, 2010.

TAKIYAMA, L.R.; SILVA, A.Q.; COSTA, W.J.P.; NASCIMENTO, H.S. Qualidade das Águas das Ressacas das Bacias do Igarapé da Fortaleza e do Rio Curiaú In: Takiyama, L.R. ; Silva, A.Q. da (orgs.). *Diagnóstico das Ressacas do Estado do Amapá: Bacias do Igarapé da Fortaleza e Rio Curiaú*, Macapá-AP, CPAQ/IEPA e DGEO/SEMA, 2003, p.81-104.

WEBSTER, L.F.; THOMPSON, B.C.; FULTON, M.H.; CHESTNUT, D.E.; VAN DOLAH, R.F.; LEIGHT, A.K. Identification of sources of *Escherichia coli* in South

Carolina estuaries using antibiotic resistance analysis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Iran, v.298, p.179–195, 2004.

ZANINI, J.H.T.; AMARAL, L.A.; ZANINI, J.R.; TAVARES, L.H.S. Caracterização da água da Microbacia do Córrego Rico avaliada pelo índice de qualidade da água e de estado trófico. *Engenharia Agrícola*, Jaboticabal, v.30, n.4, p.732-741, 2010.

5 REFERÊNCIAS

ALI ABADI, F.S.; LEES, P. Antibiotic treatment for animals: effect on bacterial population and dosage regimen optimization. **International Journal of Antimicrobial Agents**, United States, v.14, n.3, p.307-313, 2000.

AMARAL, L.A.; NADER FILHO, A.; ROSSI JUNIOR, O.D.; FERREIRA, F.L.A.; BARROS, L.S.S. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. **Saúde Pública**, São Paulo, v.37, n.4, p.510-514, 2003.

ANDRADE, E.M.; PALÁCIO, H.A.Q.; CRISÓSTOMO, L.A.; SOUZA, I.H.S.; TEIXEIRA, A.S. Índice de qualidade de água, uma proposta para o vale do rio Trussu, Ceará. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v.36, n.2, p.135-142, 2005.

BACCARO, M.R.; MORENO, A.M.; CORRÊA, A.; FERREIRA, A.J.P.; CALDERARO, F.F. Resistência antimicrobiana de amostras de *Escherichia coli* isoladas de fezes de leitões com diarreia. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.69, n.2, p.15-18, 2002.

BORDALO, A.A.; NILSUNRANCHIT, W.; CHALERMWAT, K. Water quality and uses of the Bangpakong River (Eastern Thailand). **Water Research**, Oxford, v.35, n.15, p.3635-3642, 2001.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, Distrito Federal, 18 de março de 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. Portaria Ministério da Saúde nº 518, de 25 de março de 2004. **Diário Oficial da União**, Brasília, Distrito Federal, 25 de março de 2004.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 274, de 29 de novembro de 2000. **Diário Oficial da União**, Brasília, Distrito Federal, 30 de novembro de 2000.

CASCAVEL. **Portal do município de Cascavel**. Disponível em: <http://www.cascavel.pr.gov.br/indicadores.php> . Acesso em: 23 de julho de 2011.

CETESB. **Companhia de Tecnologia Ambiental do Estado de São Paulo**. Disponível em: http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rios/indice_iap_iqa.asp. Acesso em: 20 de outubro de 2011.

CREPALLI, M.S. **Qualidade da água do rio Cascavel**. 2007. 77f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Cascavel, 2007.

COSTA, A.L. **Leite caprino: um enfoque de pesquisa**. Disponível em: <http://www.portaldoagronegocio.com.br>. Acesso em: 15 de janeiro de 2007.

D'AGUILA, P.S.; ROQUE, O.C.C.; MIRANDA, C.S.; FERREIRA, A.P. Avaliação da qualidade de água para abastecimento público do município de Nova Iguaçu. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.16, n.3, p.791-798, 2000.

DIEGUES, A.C. **Sociedades e comunidades sustentáveis**. Disponível em: <http://www.usp.br/nupaub/comsust1.pdf>. Acesso em: 23 de julho de 2010.

DONADIO, N.M.M.; GALBIATTI, J.A; PAULA, R.C. Qualidade da água de nascentes com diferentes usos do solo na bacia hidrográfica do córrego rico, São Paulo, Brasil. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.25, n.1, 2005.

FERREIRA, E.C.F.; ALMEIDA, M.C. **Sistema de Cálculo da Qualidade da Água (SCQA). Estabelecimento das Equações do índice de Qualidade das Águas (IQA)**. Programa Nacional do Meio Ambiente – PNMA II, 2005.

GALLERT, C.; FUND, K.; WINTER, J. Antibiotic resistance of bacteria in raw and biologically treated sewage and in groundwater below leaking sewers. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Washington, v.69, n.1, p.106-112, 2005.

GONCHARUK, V.V. The Concept of Choosing a List of Indices and Their Regulatory Values for Determination of Hygienic Requirements and Control Over the Drinking Water Quality in Ukraine. **Journal of Water Chemistry and Technology**, Kiev, Ukraine, v.29, n.4, p.297-356, 2007.

GONÇALVES, E.M. **Avaliação da qualidade da água do rio Uberabinha – Uberlândia – MG**. 2009. 114f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia dos Processos Químicos e Bioquímicos), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2009.

GUERRA, B.; JUNKER, E.; SCHOROETER, A.; MALORNY, B.; LEHMANN, S.; HELMUTH, R. Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in German *Escherichia coli* isolates from cattle, swine and poultry. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Oxford, v.52, n.1, p.489-492, 2003.

HÖLMSTROM, K.; GRÄSLUND, S.; WAHLSTRÖM, A. Antibiotic use in shrimp farming and implications for environmental impacts and human health. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.38, n.1, p.255-266, 2003.

KANNEL, P.; LEE, S.; LEE, Y.; KANEL, S.; KHAN, S.P. Application of water quality indices and dissolved oxygen as indicators for river water classification and urban impact assessment. **Environmental Monitoring and Assessment**, Beirut, v.132, n.1, p.93-110, 2007.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de qualidade e tratamento de água**. Campinas: Átomo, 2005.

LIMA, A.S.; CARVALHO, E.M.R.; CARVALHO, F.C.T.; VIEIRA, R.H.S.F.; RODRIGUES, D.P. Susceptibilidade de cepas de *Escherichia coli*, isoladas de água, camarão e sedimento de viveiros de três fazendas do estado do Ceará, a diferentes antimicrobianos. In: II SIMPÓSIO DE CONTROLE DE PESCADO, 2009, São Vicente. **Anais...** São Vicente: Simpósio de Controle de Pescado, 2009.

MANAHAN, S.E. **Environmental Chemistry**. 7 ed. Boca Raton (Florida-USA): CRC Press, Inc., 2006.

MOURA, A.C.; ASSUMPÇÃO, R.A.B.; BISCHOFF, J. Monitoramento físico-químico e microbiológico da água do rio Cascavel durante o período de 2003 a 2006. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.1, p.17-22, 2009.

NASH, M.S.; HEGGEM, D.T.; EBERT, D.; WADE, T.G.; HALL, R.K. Multi-scale landscape factors influencing stream water quality in the state of Oregon. **Environmental Monitoring and Assessment**, Beirut, v.156, n.1, p.343-360, 2009.

NOGUEIRA, G.; NAKAMURA, C.V.; TOGNIM, M.C.B.; FILHO, B.A.A.; DIAS, B.P.F. Qualidade microbiológica da água potável de comunidade urbanas e rurais, Paraná. **Saúde Pública**, São Paulo, v.37, n.1, p.232-236, 2003.

OLIVEIRA, E.D.; VESTENA, L.R.; THOMAZ, E.L. Impactos da urbanização na rede de drenagem do rio Cascavel, Guarapuava/PR. In: ENG 2010, XVI ENCONTRO NACIONAL DOS GEÓGRAFOS, 2010, Porto Alegre – RS. **Anais...** Porto Alegre: Encontro Nacional dos Geógrafos, 2010.

PARVEEN, S.; HODGE, N.C.; STALL, R.E.; FARRAH, S.R.; TALPLIN, M.L. Phenotypic and genotypic characterization of human and nonhuman *Escherichia coli*. **Water Research**, Oxford, v.35, n.1, p.379-386, 2001.

PERES, C.K.; PERES, C.K.; KRUPEK, R.A.; BRANCO, C.C.Z. Diagnóstico da qualidade da água do rio Cascavel, município de Guarapuava, Estado do Paraná. **Ambiência - Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, Guarapuava, v.4, n.1, p.25-35, 2008.

PORTUGUÊS, J.C.; SILVA, R.G. **Avaliação da qualidade da água do rio Acre nos municípios de Brasiléia e Epitaciolândia**. Disponível em: <http://www.economiaufac.org/aguas/TCC%20janieiro%20FINAL.pdf>. Acesso em: 23 de julho de 2010.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.A.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3 ed. São Paulo: Varela, 2007.

SILVA, T.F.B.X.; RAMOS, D.T.; DZIEDZIC, M.; OLIVEIRA, C.M.R.O.; VASCONCELOS, E.C. Microbiological Quality and Antibiotic Resistance Analysis of a Brazilian Water Supply Source. **Water Air Soil Pollut**, Netherlands, v.1, n.1, 2010.

STRIEDER, M.N.; RONCHI, L.H.; STENERT, C.; SCHERER, R.T.; NEISS, U.G. Medidas biológicas e índices de qualidade da água de uma microbacia com poluição urbana e de curtumes no Sul do Brasil. **Acta Biologica Leopoldensia**, São Leopoldo, v.28, n.1, p.17-24, 2006.

TOGASHI, C.K.; DA ANGELA, H.L.; FREITAS, E.R.; GUASTALLI, E.A.L.; BUIM, M.R.; GAMA, N.M.S.Q. Efeitos do tipo de bebedouro sobre a qualidade da água e o desempenho e a qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Minas Gerais, v.37, n.8, p.1450-1455, 2008.

TOSIN, G.A.S. **Caracterização física do uso e ocupação da bacia hidrográfica do rio Cascavel**. 2005. 60f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Cascavel, 2005.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium of Methods for Microbiology of Foods**. 3 ed. Washington: American Public Health Association, 2007, 1219p.

WEGENER, H.C.; MOLLER, N.F. Reducing the use of antimicrobial agents in animals and man. **Journal of Medical Microbiology**, Coventry, v.49, n.1, p.111-113, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Progress report (2000-2005): building capacity for laboratory-based foodborne disease surveillance and outbreak detection and response**. WHO: Global Salmsurv, 2006.

ANEXO

Diretrizes para Submissão de artigos na revista Engenharia Agrícola

Diretrizes para Submissão de artigos na revista Engenharia Agrícola

1. Diretrizes Gerais

A fim de prestigiar a comunidade científica nacional, é importante que as informações disponíveis na bibliografia brasileira sejam esgotadas, especialmente aquelas publicadas na Engenharia Agrícola, o que pode ser feito consultando a página no SciELO (http://www.scielo.br/scielo.php/script_sci_serial/pid_0100-6916/Ing_pt/nrm_iso). A língua oficial é a portuguesa. Aceitam-se artigos em espanhol ou inglês, devendo obrigatoriamente conter o RESUMO e PALAVRAS-CHAVE em português. O artigo enviado a esta revista não deve estar sendo submetido a outro órgão para publicação e nem ter sido anteriormente publicado, a não ser em forma de resumo em reunião científica. O texto deverá ser enviado por meio do Sistema do SciELO, acessando o endereço <http://submission.scielo.br/index.php/eagri/>, obedecendo a estas instruções, sendo omitido o(s) nome(s) do(s) autor(es) e o rodapé de identificação do(s) mesmo(s).

O(s) autor(es) deve(rão) enviar mensagem ao endereço revistasbea@sbea.org.br, informando a natureza do artigo (científico, técnico ou de revisão), anexando o comprovante de depósito referente ao pagamento da taxa de tramitação e responsabilizando-se pelos demais autores, quando houver, como co-responsáveis pelo conteúdo científico do trabalho, obedecendo ao Artigo 5º da Lei no 9.610, que trata do Direito Autoral. Os artigos subdivididos em partes I, II, ..., devem ser cadastrados separadamente, porém serão submetidos aos mesmos revisores. Os artigos podem apresentar figuras coloridas (fotografias, gráficos, diagramas, etc.), porém o SciELO aceita arquivos com, no máximo, 2,0 Mb (arquivos maiores não serão gravados no sistema). Artigos que não seguirem estas normas serão cancelados pelo Editor Gerente da EA e novo cadastro deverá ser realizado pelo autor. Artigos Científicos que os avaliadores interpretarem que possuem estilo de Artigo Técnico terão o processo encerrado.

A composição dos textos, obrigatoriamente, deverá obedecer as seguintes orientações:

- Processador: MSWord 7.0 ou posterior;

- Tamanho do papel: A4 (21 x 29,7 cm);
- Número máximo de laudas: 25 (Trabalhos com mais de 15 laudas, serão cobrados R\$ 10,00 por lauda adicional);
- Espaço entre linhas: 2;
- Tipo de letra para o texto: Times New Roman 12;
- Tipo de letra para o cabeçalho/rodapé: Times New Roman 9;
- Margens: 2 cm em todos os lados do papel;
- Numerar páginas;
- Numerar linhas nas páginas: arquivo/configurar página/layout/número de linhas/numerar linhas/contínua;
- Parágrafo: 1,0 cm;
- Tamanho máximo do arquivo: 2,0 Mb

Para trabalhos com até 15 laudas no manuscrito, será cobrada antecipadamente a taxa de R\$ 80,00 (oitenta reais) por trabalho submetido, em que o primeiro autor for associado da SBEA e estiver em dia com a anuidade; caso contrário, o valor da taxa é de R\$ 300,00 (trezentos reais). Neste caso, quando o artigo for publicado, somente o primeiro autor terá o direito de receber o exemplar da revista.

2. Artigos

É aconselhável que, antes de redigir o artigo, os autores tomem como base de formatação um artigo publicado no último número da revista http://www.scielo.br/scielo.php/script_sci_serial/pid_0100-6916/Ing_pt/nrm_iso e leiam também as Instruções aos Avaliadores, disponíveis nos CDs da revista e no endereço: www.sbea.org.br/rea/instrucoes_aos_relatores.htm. Os artigos podem ser da seguinte natureza: 1. artigo científico; 2. artigo técnico, e 3. artigo de revisão.

2.1. Artigo Científico: refere-se a relato de pesquisa original, com hipótese bem definida, prestigiando assuntos inovadores. O texto deverá contemplar os itens, sempre destacados em letras maiúsculas e em negrito, sem parágrafo e sem

numeração, deixando dois espaços (duas vezes ENTER) após o item anterior e um espaço (uma vez ENTER) para iniciar o texto, na ordem a seguir: para artigo em português ou espanhol: título (português ou espanhol), nome dos autores, resumo, palavras-chave; título (inglês), abstract e keywords. Para artigo em inglês: título (inglês), nome dos autores, abstract, keywords; título (português), resumo e palavras-chave. Para garantir a análise cega pelos pares, os trabalhos submetidos devem ser apresentados sem autores e rodapé.

TÍTULO: Centralizado; deve ser claro e conciso, permitindo pronta identificação do conteúdo do trabalho, procurando-se evitar palavras do tipo: análise, estudo e avaliação. Um número-índice sobrescrito, como chamada de rodapé, poderá seguir-se ao título para possível explicação em se tratando de trabalho apresentado em congresso, extraído de dissertação ou tese, ou para indicar o órgão financiador da pesquisa.

AUTORES: O número de autores deve ser o mínimo possível, considerando-se apenas as pessoas que tiveram participação efetiva no trabalho, em condições de responder pelo mesmo integralmente ou em partes essenciais. Com raras exceções, os autores não passam de cinco e, em qualquer caso, o Conselho Editorial poderá solicitar justificativas para explicar a presença dos autores no trabalho. Não é permitida a alteração de autor(es) no artigo após o início da tramitação.

No Sistema On-Line, em Resumo da Biografia, identificar o(s) autor(es) da seguinte maneira: para o primeiro autor: qualificação profissional, ocupação, local de trabalho e endereço, conforme segue: Engo Agrícola, Prof. Doutor, Departamento de Engenharia Rural, UNESP/Jaboticabal - SP, Fone: (0XX16) 3209.2637, xxxxxxxx@xxx.com.br. Para os demais autores: qualificação profissional, ocupação e local de trabalho, conforme segue: Engo Agrícola, Prof. Adjunto, Departamento de Engenharia Rural, UNESP/Botucatu - SP. Essas informações somente serão inseridas após a aprovação do trabalho.

RESUMO: O texto deve iniciar-se na mesma linha do item, ser claro, sucinto e, obrigatoriamente, explicar o(s) objetivo(s) pretendido(s), procurando justificar sua importância (sem incluir referências), os principais procedimentos adotados, os resultados mais expressivos e conclusões, contendo no máximo 14 linhas. Abaixo devem aparecer as **PALAVRAS-CHAVE** (seis no máximo,

procurando-se não repetir palavras do título) escritas em letras minúsculas. Uma versão completa do RESUMO, para o inglês, deverá apresentar a seguinte disposição: TÍTULO, ABSTRACT e KEYWORDS.

INTRODUÇÃO: Devem ser evitadas divagações, utilizando-se de bibliografia recente (últimos 5 anos e preferencialmente periódicos) e apropriada para formular os problemas abordados e a justificativa da importância do assunto, deixando muito claro o(s) objetivo(s) do trabalho, utilizando no máximo 50 linhas.

MATERIAL E MÉTODOS: Dependendo da natureza do trabalho, uma caracterização da área experimental deve ser inserida, tornando claras as condições em que a pesquisa foi realizada. Quando os métodos forem os consagradamente utilizados, apenas a referência bastará; caso contrário, é necessário apresentar descrição dos procedimentos utilizados, adaptações promovidas, etc. Unidades de medidas e símbolos devem seguir o Sistema Internacional.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Ilustrações, gráficos e fotografias devem ser apresentados com tamanho e detalhes suficientes para a composição final, preferivelmente na mesma posição do texto, podendo ser coloridos, devendo, também, apresentar o título em inglês. Gráficos: podem apresentar partes coloridas, sendo os eixos x e y com 1/2 pt, descritos com o mesmo tipo e tamanho de letras contidas no texto (Times New Roman 12) e a legenda na posição inferior do mesmo. A numeração deve ser sucessiva em algarismos arábicos. Tabelas: evitar tabelas extensas e dados supérfluos, privilegiando-se dados médios; adequar seus tamanhos ao espaço útil do papel e colocar, na medida do possível, apenas linhas contínuas horizontais; suas legendas devem ser concisas e auto-explicativas, devendo, também, apresentar o título em inglês. Fotografias: podem ser coloridas. Na discussão, confrontar os resultados com os dados obtidos na bibliografia.

CONCLUSÕES: Devem basear-se exclusivamente nos resultados do trabalho. Evitar a repetição dos resultados em listagem subsequente, buscando, sim, confrontar o que se obteve, com os objetivos inicialmente estabelecidos. As conclusões devem ser escritas facilitando a interpretação do artigo, sem necessidade de consultar outros itens do mesmo.

AGRADECIMENTO(S): Inserir-lo(s), se for o caso, após as conclusões, de maneira sucinta.

REFERÊNCIAS: Devem ser citadas apenas as essenciais, o que, geralmente, não é observado em se tratando de artigos originários de teses. Incluir apenas as mencionadas no texto e em tabelas, gráficos ou ilustrações, aparecendo em ordem alfabética e em letras maiúsculas. Evitar citações de resumos, trabalhos não-publicados e comunicação pessoal. Pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 5 anos e 70% de artigos de periódicos. As referências no texto devem também aparecer em letras maiúsculas, seguidas da data: SOUZA & SILVA (2005), ou ainda (SOUZA & SILVA, 2005); existindo outras referências do(s) mesmo(s) autor(es) no mesmo ano (outras publicações), isso será identificado com letras minúsculas (a, b, c) após o ano da publicação: SOUZA & SILVA (2005 a). Quando houver três ou mais autores, no texto será citado apenas o primeiro autor seguido de et al., mas na listagem bibliográfica final os demais nomes também deverão aparecer. Na citação de citação, identifica-se a obra diretamente consultada; o autor e/ou a obra citada nesta é assim indicado: SILVA (2000) citado por PESSOA (2006). Citar pelo menos dois artigos da revista Engenharia Agrícola e incluir as citações bibliográficas na discussão e na metodologia. Quaisquer dúvidas, consultar a norma NBR-6023 (ago. 2000) da ABNT.

EQUAÇÕES: Todas as equações que fizerem parte do texto deverão ser alinhadas com o parágrafo e numeradas, como segue:

$$y=ax+ b \tag{1}$$

em que,

y - velocidade;

a - coeficiente angular;

x - rotação, rpm, e

b - coeficiente linear.

3. Tramitação dos Artigos Submetidos à revista Engenharia Agrícola

Os trabalhos relativos à revista Engenharia Agrícola estão centrados na sede da SBEA e os artigos recebidos seguirão os trâmites estabelecidos entre a

Diretoria Executiva e a Diretoria Técnica-Científica, cujos procedimentos são resumidamente descritos a seguir:

Recepção - é efetuada pelo Sistema Eletrônico de Editoração de Revistas - SCieLO (<http://submission.scielo.br/index.php/eagri>), que registra o artigo e informa ao autor responsável o recebimento. Cabe à Secretaria verificar se o texto segue as normas para publicação. Em caso negativo, é informado ao remetente que o artigo foi cancelado e que novo cadastro deverá ser realizado, atendendo às Diretrizes da revista.

Avaliadores - o artigo é enviado a três avaliadores (revisão por pares) para apreciação do conteúdo do texto quanto ao mérito e emissão de parecer, garantindo-lhes o anonimato. Cada área do conhecimento tem no mínimo 50 (cinquenta) avaliadores, sendo exigido o título de Doutor.

Envio à Comissão Editorial - assim que os avaliadores devolvem as avaliações, o Editor de Seção compila os comentários e, baseado nessas informações, toma uma das seguintes providências:

a) informa à Secretaria da SBEA que o trabalho pode ser publicado quando não há modificações ou correções; quando poucas correções forem necessárias, serão executadas pela Comissão Editorial;

b) devolve ao autor responsável para as devidas correções, mudanças ou considerações sobre o parecer, e

c) informa ao autor responsável que o trabalho não foi aceito para publicação.

Retorno à SBEA - no caso do item "b", após as correções, assim que o trabalho retornar ao Sistema, o mesmo é reenviado ao Editor de Seção. No caso do item "c", o Sistema informa ao autor responsável que o trabalho não foi aceito para publicação e encerra o processo.

Informação ao autor responsável - de posse da informação obtida junto ao Editor de Seção, a Secretaria da SBEA comunica ao autor responsável a provável época ou número da Revista em que seu texto será publicado.