

AValiação Na Redução De Coliformes E *Aeromonas* spp. EM UM EFLUENTE DE SUINOCULTURA

Daiane Moreira Alves¹, Maria Isabel Suhet¹, Atanásio Alves do Amaral¹

¹Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, Campus de Alegre, Rua Principal s/n, Distrito de Rive – CEP: 29.500-000, Alegre – ES, e-mail: daianemalves@hotmail.com, isabelsuhet@hotmail.com, atmaral@gmail.com

Resumo - A criação intensiva de animais é uma atividade pecuária que produz efluentes pela utilização de água como meio de eliminação de dejetos, portanto o controle sanitário dessa água faz-se necessário. A presença de coliformes indica a possibilidade da presença de outros microrganismos patogênicos. As *Aeromonas* apresentam ampla distribuição em ambientes hídricos e algumas espécies são consideradas patogênicas para o ser humano e animais, portanto essas bactérias foram utilizadas para avaliar a eficiência de uma lagoa de oxidação no IFES, Campus de Alegre, ES, na redução desses microrganismos. Foram realizadas cinco coletas em três pontos da lagoa, água de abastecimento, água de entrada e saída da lagoa, totalizando em 15 amostras. Para a água de abastecimento das baias verificou-se as menores contagens, com aumento para a água de entrada da lagoa e posterior redução na água de saída da lagoa. O tempo de residência de até 24 dias reduziu as contagens de bactérias do grupo coliformes totais e termotolerantes e de *Aeromonas* spp. Porém a alta contaminação verificada na água de abastecimento, em época de chuvas elevou muito o número dessas bactérias na lagoa reduzindo sua eficiência.

Palavras-chave: água, análise, microrganismos, indicadores, lagoa de oxidação.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas - Microbiologia

Introdução

A criação intensiva de animais é a mais nociva atividade pecuária considerando a produção de efluentes e o tipo de criação, onde os animais são submetidos a sistemas de confinamento que favorecem a produção econômica, em detrimento do ambiente. Esgotos têm sido considerados uma das maiores fontes de microrganismos patogênicos encontrados em ambientes aquáticos. Processos de tratamento diminuem significativamente a incidência de doenças veiculadas pela água entre a população humana (OLIVEIRA et al., 2006).

A água quando utilizada como meio de eliminação de dejetos se transforma em agente poluidor, como resultado de uma grande concentração de microrganismos, sendo necessário o controle sanitário dessa água. A contagem de bactérias do grupo coliforme é utilizada na avaliação da qualidade dessas águas, pois essas bactérias fazem parte da microbiota intestinal humana e de outros animais endotérmicos. Quando presentes em grande quantidade na água, essas bactérias indicam a possível presença de microrganismos patogênicos.

Aeromonas spp. são consideradas bactérias tipicamente aquáticas sendo algumas espécies patogênicas para peixes e seres humanos (FIGUERAS et al., 2005). Em seres humanos as principais infecções relatadas são as

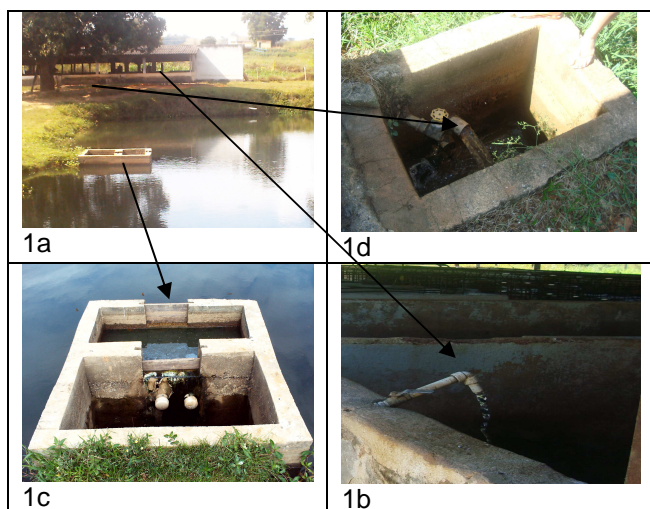
gastroenterites e infecções de feridas (bacteremia), podendo causar também oftalmite, ulcerações, além de meningite e septicemia (HOLT et al., 1994). Há casos em que a contagem de *Aeromonas* é maior que a de coliformes totais, indicando a importância desse microrganismo para avaliar contaminação (ARAÚJO et al., 1989).

O objetivo do trabalho foi avaliar a presença de coliformes totais, termotolerantes e *Aeromonas* spp. em uma lagoa de oxidação de uma criação intensiva de suínos do IFES Campus de Alegre, Estado do Espírito Santo e verificar se há eficiência na redução desses microrganismos.

Metodologia

O local de estudo foi uma lagoa de oxidação que recebe efluente de uma criação intensiva de suínos (Figura 1). Foram realizadas cinco coletas em três pontos da lagoa, referentes à água de abastecimento das baias, à água de entrada e à água de saída da lagoa, totalizando 15 amostras.

Figura 1. Sistema de manejo composto por uma lagoa de oxidação



1a. Lagoa de oxidação
1b. Afluente (água de abastecimento das baias)
1c. Efluente 2 (água de saída da lagoa)
1d. Efluente 1 (água de entrada da lagoa)
Foto: maio de 2009.

Na água de entrada e saída mediu-se a vazão para calcular o tempo de residência das bactérias contidas no local onde o resultado da vazão média foi 21 dias. Para análise microbiológica da água 500 mL foram colhidos em frascos de vidro estéreis, identificados e mantidos a menos do que 10 °C até o momento da análise. No laboratório, para contagem do gênero e posterior isolamento de *Aeromonas* spp. e coliformes; 1,0 mL de cada amostra foi adicionada de 9 mL de água peptonada a 0,1% estéril a mesma temperatura do ambiente e então homogeneizada obtendo-se a diluição 10⁻¹. Diluições subseqüentes foram efetuadas transferindo assepticamente 1 mL de cada diluição anterior para 9 mL do mesmo diluente, de forma a resultar em placas com contagens na faixa de 20 a 200 colônias para *Aeromonas* spp. e pelo menos um tubo negativo da última diluição para coliformes.

Para o teste presuntivo, três alíquotas de três diluições da amostra foram inoculadas em uma

série de três tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST). Para confirmação dos coliformes totais e termotolerantes, uma alçada de cada tubo positivo foi transferida para tubos de Caldo Verde Brilhante 2% (VB) e Caldo *E. coli* (EC). Tubos com produção de gás no VB, após 24-48h de incubação a 35 °C foi considerada confirmativa da presença de coliformes totais. Crescimento com produção de gás nos tubos de EC após 24 h de incubação a 44,5°C, foi considerada confirmativa da presença de coliformes termotolerantes (SILVA et al., 2007).

Para a análise de *Aeromonas*, 0,1 mL de diluições apropriadas de amostras da água foram inoculados na superfície de placas contendo ágar dextrina-ampicilina (DI BARI et al., 2007) e ágar M-*Aeromonas* (TOKAJIAN; HASHWA, 2004) e incubados a 28 °C por 24 h (RHODES et al., 2000).

De cada placa com crescimento, até cinco colônias amareladas, circundadas por halo decorrente da hidrólise da dextrina foram repicadas para agar triplice açúcar ferro (TSI). Após a incubação a 28 °C por 18 a 24 horas, para as colônias que apresentaram reação ácida tanto na base como no bisel, ou ácida na base e alcalina no bisel, com ou sem formação de gás foram realizados esfregaços corados pelo método de Gram e as bactérias que apresentaram na forma de bastonetes retos e curtos, aos pares, isolados ou em cadeias curtas e Gram negativas, foram repicadas para agar triplicase soja (TSA), incubadas e submetidas às provas de oxidase, catalase e resistência ao agente vibriostático O/129 (fosfato de 2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine). Quando oxidase e catalase positivas e resistentes ao agente vibriostático O/129 foram consideradas *Aeromonas* spp (ARAUJO et al., 1991).

Resultados

Os resultados para contagem de coliformes totais, termotolerantes e *Aeromonas* estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1. Contagem de coliformes totais, fecais e *Aeromonas* spp. nos pontos avaliados.

Pontos	Coliformes (NMP mL ⁻¹)		<i>Aeromonas</i> (UFC 100 mL ⁻¹)
	Totais	Termotolerantes	
Abastecimento	3,6 x 10 ² a 1,1 x 10 ⁵	<3,0 a 7,5 x 10 ³	2,0 x 10 ³ a 1,0 x 10 ⁵
Entrada	7,3 x 10 ⁵ a >1.000	7,3 x 10 ⁵ a 7,3 x 10 ⁶	4,1 x 10 ⁵ a 1,8 x 10 ⁷
Saída	7,5 x 10 ⁴ a 4,5 x 10 ⁵	3,5 x 10 ⁴ a 4,5 x 10 ⁵	4,4 x 10 ⁴ a 4,8 x 10 ⁵

Discussão

Na água de abastecimento das baías foi verificado as menores contagens para coliformes totais, termotolerantes e *Aeromonas* spp., com aumento dessas bactérias na água de entrada da lagoa e com redução na água de saída da lagoa.

O aumento verificado nas contagens das amostras de água de abastecimento pode ser devido às chuvas no período da coleta que causou lixiviação de resíduos de outros animais das margens para o córrego que fornece água para as baías, com conseqüente aumento também na água de entrada da lagoa aliada ao manejo, alimentação e dejetos dos suínos proveniente das baías.

Na água de saída da lagoa houve redução nas contagens de coliformes totais, termotolerantes e *Aeromonas* spp. para todas as coletas; porém foi verificado que mesmo em período de chuva e em menor tempo de residência ocorreu maior redução dessas bactérias, o que pode ser explicado pela cheia da lagoa com conseqüente diluição das águas e redução dessas bactérias nas amostras.

As contagens de coliformes totais, termotolerantes e *Aeromonas* spp na água de saída em relação à água de entrada da lagoa reduziu com o tempo de residência de até 24 dias, mas para coliformes essa redução foi insuficiente para que essa água se enquadre na classificação de Classe 3 que é de 2.500 coliformes por 100 mililitros da (BRASIL, 2005). Porém, foram verificadas grandes variações nas contagens da água de abastecimento das baías, variando desde contagens menores que 1000 coliformes por 100 mililitros, portanto, enquadrando na classificação de Classe 2, mas que em épocas de chuva, as contagens excederam esse valor e, como conseqüência aumentou as contagens da água de saída da lagoa.

Nas contagens de *Aeromonas* spp na água de saída da lagoa, houve uma redução de até dois ciclos logarítmicos, porém as contagens ficaram acima dos valores encontrados para o afluente, sendo que, da mesma forma que para coliformes, no período da chuva também houve aumento dessas bactérias nas águas.

Conclusão

Os resultados mostram que houve redução nas contagens de bactérias do grupo coliformes totais e termotolerantes e de *Aeromonas* spp. na lagoa de oxidação com o tempo de residência de até 24 dias, porém em épocas de chuvas houve uma alta contaminação na água de abastecimento elevando o número dessas bactérias na lagoa reduzindo sua eficiência.

Referências

- ARAÚJO, R. M.; ARRIBAS, R. M.; LUCENA, F.; PARES, R. Relation between *Aeromonas* and fecal coliforms in fresh Waters. **J. Appl. Bacteriol**, v. 67, p. 213-217, 1989.

- ARAUJO, R. M.; ARRIBAS, R. M.; PARES, R. Distribution of *Aeromonas* species in waters with different levels of pollution. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 71, p. 182-186, 1991.

- BRASIL - CONAMA – MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE - RESOLUÇÃO Nº 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005. CAPÍTULO I, Art. 2º, parágrafo I e Cap. II, Seção I, Art. 4º.

- DI BARI, M. D.; HACHICH, E. M.; MELO, A. M. J.; SATO, M. I. Z. *Aeromonas* spp. and Microbial Indicators in Raw Drinking Water Souces. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 516-521, 2007.

- FIGUERAS, M. J.; SUAREZ-FRANQUET, A.; CHACON, M. R.; SOLER, L.; NAVARRO, M.; ALEJANDRE, C.; GRASA, B.; MARTINEZ-MURCIA, A. J. AND GUARRO, J. First Record of the Rare Species *Aeromonas culicicola* from a Drinking Water Supply. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 1, p. 538–541, 2005.

- HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. (Eds.), *Bergey's Manual*® of Determinative Bacteriology, 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 787 p. 1994.

- OLIVEIRA, M. F., PILZ, E. B., BELLINCANTA, G. S., LIMBERGER, N., MACEDO, N. T.; CORÇÃO, G., GERMANI, J. C.; VAN DER SAND, S. T. Avaliação da eficácia do tratamento de esgotos de um sistema de lagoa de estabilização através da identificação de população bacteriana. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, p. 31-37, 2006.

- RHODES, G.; HUYS, G.; SWINGS, J.; MCGANN, P.; HYNEY, M.; SMITH, P.; PICKUP, R. W. Distribution of oxytetracycline resistance plasmids between aeromonads in hospital and aquaculture environments: implication of Tn1721 in dissemination of the tetracycline resistance determinant TetA. **Appl Environ Microbiol**, v. 66, p. 3883–3890, 2000.

- SILVA, N. DA; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. DOS; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de**

Análises Microbiológica de Alimentos. 3 ed. São Paulo: Varela, 2007. 552p.

- TOKAJIAN, S.; HASHWA, F. Phenotypic and genotypic identification of *Aeromonas* spp. isolated from a chlorinated intermittent water distribution system in Lebanon. **Journal of Water and Health**, v.2, p. 115-22, 2004.