

Avaliação da Presença de Microrganismos em Reservatórios de Água da Unirio

André Ricardo Junior
Caio Lessa
Felipe Pessoa Dias
João Paulo Ferreira
Lucas Mota
Camila Maistro Patreze

Considerando que a água é um recurso natural indispensável à vida, compondo a maior parte da massa corporal dos seres vivos, e da qual todos dependem para sustentar suas funções biológicas (Gomes, 2011 e Dantas, 2010), a limpeza de reservatórios é uma prática imprescindível para a manutenção da qualidade desse recurso. Essa limpeza deve ser realizada com periodicidade, já que constantemente são trazidos pela água partículas sólidas, como terra e areia, e microrganismos, ou, no caso de a água chegar em boas condições, o mal armazenamento pode contaminá-la e torná-la fonte de transmissão de doenças (Amaral, 2011). Isso evidencia que, mesmo sendo tratada, se torna muito difícil a completa ausência de contaminantes em caixas d'água e cisternas. A água contendo microrganismos indesejáveis é prejudicial à saúde, e muitas vezes o problema é apenas identificado quando alguém que a consumiu já foi afetado por um patógeno. Sendo assim, a água para ser considerada potável deve atender a parâmetros físico-químicos, como o pH e a dosagem de cloretos, e a parâmetros microbiológicos, como a contagem de microrganismos mesófilos e a quantidade de coliformes totais (Vasconcelos e Silva, 2012).

As instalações hidráulicas dos prédios da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - UNIRIO atendem diariamente a milhares de pessoas, dentre elas docentes, discentes, funcionários, pacientes e pesquisadores. Sendo assim, é fundamental que haja um monitoramento da qualidade da água nessas dependências a fim de garantir a segurança da saúde desse público. Práticas como a limpeza rotineira de reservatórios de água e a manutenção periódica de tubulações e peças de utilização são exemplos de medidas que visam garantir a qualidade da água ofertada. Como um complemento a essas medidas, a análise microbiológica também é imprescindível nesse monitoramento. A empresa CNS Nacional de Serviços é a responsável pela limpeza dos reservatórios a cada mês, conforme previsto em contrato, e além disso, a cada dois meses a empresa Qualy Laboratório de Análises Ambientais é responsável pela análise de coliformes totais e dosagem de cloro livre das águas.

Fungos filamentosos e leveduras presentes no ambiente ou integrantes da microbiota humana normal podem, em determinadas situações, passar de sapróbios à patógenos, podendo ocasionar diferentes complicações (Ottoni *et al*, 2014). Espécies potencialmente patogênicas,

alergênicas e toxicogênicas podem ser isoladas de águas, e as vezes em concentrações elevadas, como mostrou Yamaguchi *et al* (2010). Um outro problema que a água contaminada por fungos pode apresentar a presença de micotoxinas, que podem produzir fortes efeitos hepatotóxicos e neurotóxicos, entre outras complicações (Leal *et al*, 2010). Paterson *et al* (1997) detectaram aflatoxina, que produz graves danos ao fígado, produzida por *Aspergillus flavus* em amostras de água coletadas de uma cisterna. Além disso, muitas vezes, espécies emergentes se tornam resistentes a drogas antifúngicas utilizadas no tratamento de rotina, o que representa um grande desafio na prevenção e tratamento de doenças fúngicas (Ottoni *et al*, 2014). Além disso, alguns fungos podem tornar-se mais protegidos e resistentes a tratamento da água quando crescem aderidos a um substrato de modo a formar um biofilme.

Neste estudo amostras de água de reservatórios que abastecem a comunidade acadêmica da Unirio foram avaliadas quanto a presença de microrganismos planctônicos e fungos, por meio de observações microscópicas *in vivo* e análise do crescimento de fungos em meio de cultivo. A coleta foi feita com garrafas de água imersas na água dos reservatórios.

Apesar de sua grande extensão, a distribuição hidráulica do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle -HUGG parte somente de 4 sistemas de caixas d'água, cada um com um número de caixas entre 2 e 6, de acordo com a demanda dos prédios alimentados. Há uma única cisterna grande que alimenta todos os sistemas por meio de bombas de recalques, ativadas quando necessário. No HUGG foram coletadas 4 amostras. No Instituto de Biociências - IBIO as caixas d'água são alimentadas por uma cisterna e foram coletadas 2 amostras, uma na cisterna e outra na caixa d'água. No Instituto Biomédico -IB, existe uma cisterna que alimenta as caixas dos blocos C e D e outra cisterna que alimenta as caixas do bloco A; neste prédio foram coletadas outras 5 amostras, totalizando 12 coletas neste estudo.

Para o isolamento de colônias de fungos presentes nas amostras de água foi utilizado o meio de cultura semissintético Batata Dextrose Ágar (BDA) vertido em placas de Petri autoclavadas . O meio de cultura BDA é um meio de uso geral para leveduras e bolores composto de infusão de batatas e dextrose como agentes estimulantes do crescimento (nutrientes) e de ágar como agente gelificante (preparado adaptado de Okuram e Rende, 2008). Para a inoculação dos fungos das amostras de água nas placas foi feito o procedimento de centrifugação de 200 mL de cada amostra. Após homogeneizar o conteúdo das garrafas, 50 mL de cada amostra foram transferidos para tubos falcon, os quais foram centrifugados durante 3 minutos a 3000 rpm em uma centrífuga Solab© modelo SL-700. Após o ciclo, foi despejada toda a fração “límpida” do tubo – deixando-se somente o sedimento – e completou-se novamente com mais 50 mL. O mesmo foi repetido mais duas vezes. O resultado foi um tubo falcon contendo 10 mL de amostras concentradas das quais foram retirados 100 µL que foram inoculados em duplicata e espalhados sobre o meio de cultivo nas placas de Petri e colocados em estufa mantidas a 37°C com fotoperíodo 12/12h. Duas placas contendo apenas BDA foram

utilizadas para servir de controle. O monitoramento do crescimento dos fungos foi feito com 4 e 15 dias após a inoculação, por meio da contagem de colônias, medidas de diâmetro e observação da coloração das placas.

Para a observação dos microrganismos planctônicos presentes nas amostras foram preparadas uma lâmina por amostra (total de 12 lâminas), cada uma contendo uma gota da amostra concentrada (10mL), que foram analisadas sob microscópio (Leica© modelo DM750), no Laboratório de Biologia Molecular de Plantas e Fungos - LBMPF. Imagens dos microrganismos foram capturadas usando o software do microscópio. A identificação foi feita com base em consultas bibliográficas (Marra, 2015; Miranda, 2015). Aos quatro dias de crescimento foram observadas colônias de fungos em 13 das 24 placas e aos 15 dias de crescimento, além do crescimento das colônias iniciais (Figura 1), algumas espécies de fungos de crescimento lento foram encontradas.

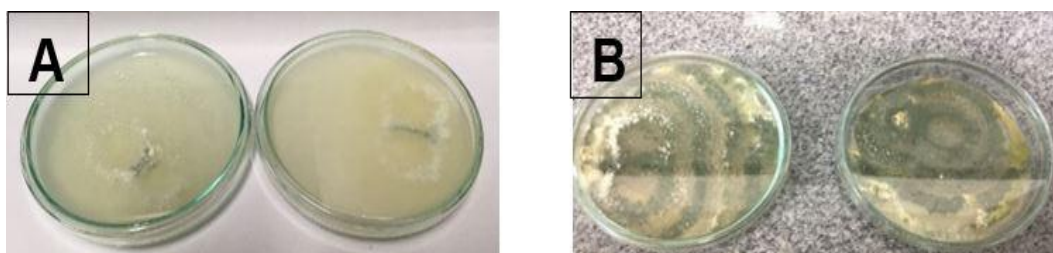


Figura 1. Fungos isolados em meio BDA. A: Placas das amostras 10A e 10B aos 4 dias. B: Placas das amostras 10A e 10B aos 15 dias.

A maior quantidade de colônias de fungos foram encontradas nas amostras de água das cisternas do HUGG (amostra 4) e IBIO (amostra 6), enquanto as amostras 5 e 12 não apresentaram crescimento de fungos. Algumas colônias observadas no presente trabalho têm características de coloração e textura dos fungos filamentosos pertencentes aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, cuja identificação de espécies será confirmada após a observação microscópica de suas hifas e conídios. Estes fungos que são conhecidos por produzirem micotoxinas em substratos, como alimentos e bebidas (Leal et al, 2010). Algumas espécies de *Aspergillus* produzem toxinas fortemente hepatotóxicas (Paterson et al, 1997), como as aflatoxinas, e algumas espécies de *Penicillium* produzem toxinas fortemente nefrotóxicas, como a ocratoxina A (Iamanaka et al, 2010)

Em relação aos microrganismos planctônicos, foram observadas algas diatomáceas de formas bem variadas em cinco das doze lâminas preparadas. O gênero *Cyclotella* foi o encontrado com maior frequência, estando presente nas amostras 1, 2, 3 e 9. A amostra 2 foi

onde houve maior diversidade de diatomáceas: gêneros *Eunotiapcnalis*, *Encyonema*, *Pleruosigma* e *Navicula*. O gênero *Navicula* também foi encontrado na amostra 3. Assim, na observação das lâminas, pôde-se observar a diversidade de algas diatomáceas presentes nas amostras, que, segundo Durigon (2013), são eficientes organismos bioindicadores. O gênero *Cyclotella* foi predominante, estando presente em 4 das 12 amostras. Segundo Branco (1986) e Di Bernardo (1995), esse gênero pode ser um bom indicador da qualidade da água por se proliferar em meios limpos. Nas amostras 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11 e 12 não foram observados organismos planctônicos. Cianobactérias do gênero *Spirulina* foram encontradas na amostra 1, mas em pequena quantidade (Figura 2). Na amostra 1 foi identificado um dinoflagelado da espécie *Ceratium furca* (Figura 3).

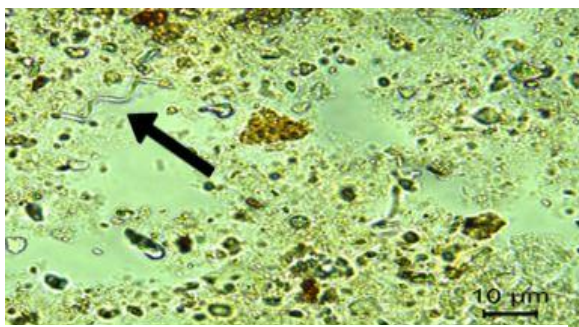


Figura 2. Cianobactéria do gênero

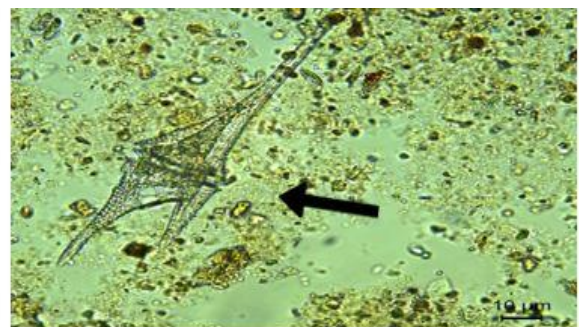


Figura 3. Dinoflagelado Ceratium

O dinoflagelado encontrado na amostra 1 pertence ao gênero *Ceratium*, que é um gênero de dinoflagelados marinhos, encontrado usualmente em águas polares, temperadas, tropicais e quentes, (Taylor, 1987), sendo assim é rara sua presença em água doce. Vargas-Montero e Freer (2003) afirmam que embora não se tenha ainda avaliado precisamente a toxicidade do gênero *Ceratium*, a espécie *C. furca* encontrada foi identificada como causadora de mortalidade de organismos, já que, além desta espécie causar hipóxia ou hiperóxia no ambiente, foram detectadas toxinas paralíticas em cadáveres de sardinhas e larvas de camarões (Vargas-Montero e Freer, 2003). Oliveira et al (2013) afirmam que cianobactérias do gênero *Spirulina* têm diversas aplicações terapêuticas, nutricionais e biotecnológicas, logo, não são patogênicas aos humanos. No entanto, segundo Bortoli (2015), dentro do filo das cianobactérias, há outros organismos que podem ser letais devido a suas toxinas produzidas em florações, como as microcistina (hepatotóxica), saxitoxinas (neurotóxicas) e a cilindrospermopsina (citotóxica). Sendo assim, estando a água da amostra 1 propícia para a proliferação de cianobactérias, mesmo que não patogênicas, é necessária atenção quanto ao cuidado dos reservatórios, já que ele está passível de contaminação por outras cianobactérias que poderão ser patogênicas.

O presente trabalho revelou a ocorrência de fungos, microalgas e cianobactérias, sendo alguns gêneros de microrganismos potencialmente patogênicos, como *Aspergillus sp* e *Ceratium sp* nas águas de reservatórios da Unirio. Os locais mais abundantes em microalgas foram as

caixas d'água do prédio da direção, prédio do refeitório de funcionários e prédio da fisioterapia do HUGG, correspondente às amostras 1 a 3. Como a microbiota biológica responde a fatores ambientais, uma amostragem não fornece dados consistentes para avaliar a qualidade dos reservatórios de água propostos, mas indica que maior atenção deve ser dada à qualidade biológica das águas desses reservatórios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AMARAL, M.. **Análise microbiológica de caixas d'água de colégios estaduais de foz do Iguaçu – Paraná.** 2011. 47. Especialização em Ensino de Ciências, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2011.

BORTOLI, S. E PINTO, E.. **Cianotoxinas: características gerais, histórico, legislação e métodos de análise.** Ecologia de reservatórios e interfaces, São Paulo : Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2015.

BRANCO, S. M. **Hidrologia aplicada à engenharia sanitária.** 2. ed. São Paulo: ETESB, 1986. 620 p.

DANTAS, A. K. D. et al; **Qualidade microbiológica da água de bebedouros destinada ao consumo humano.** REVISTA BIOCÊNCIAS, UNITAU. Volume 16, número 2, 2010.

DI BERNARDO, L. **Algas e suas influências na qualidade das águas e nas tecnologias de tratamento.** Rio de Janeiro: ABES, 1995. 140 p.

DURIGON, M. **Qualidade da água e comunidades de diatomáceas epilíticas na bacia hidrográfica do rio Vacacaí, Santa maria, Rio Grande do Sul.** Santa maria, RS, Brasil, 2013.

GOMES, M. A. F.. **Água: sem ela seremos o planeta Marte de amanhã.** Disponível em <http://webmail.cnpmembrapa.br/down_hp/464.pdf>. Acesso em 05 de novembro de 2017.

IAMANAKA, B. T.; OLIVEIRA, I. S.; TANIWAKI, M. H.. **Micotoxinas em alimentos.** Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica, Recife, vol. 7, p.138-161, 2010.

LEAL, A. F. G. et al . **Ocorrência de fungos filamentosos de importância médica em água de bebedouros.** Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.), São Paulo, v. 69, n. 4, 2010 .

MARRA, R. C.. **Taxonomia e diversidade de diatomáceas epifíticas nos reservatórios Iraí e Piraquara II, Região Metropolitana de Curitiba – PR.** Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

MIRANDA, F. E.. **Diatomáceas (Bacillariophyta) na plataforma continental de Itajaí, Santa Catarina, Brasil.** Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

OLIVEIRA, C. A. et al. **Potencial nutricional, funcional e terapêutico da cianobactéria *Spirulina***. RASBRAN - Revista da Associação Brasileira de Nutrição. São Paulo, SP, Ano 5, n. 1, p. 52-59, Jan-Jun. 2013.

OTTONI, L. C. C. et al. **Estudo microbiológico da água para consumo humano em instituição de ensino superior na cidade de Maringá-PR**. Programa de iniciação científico Cesiumar, Centro Universitário de Maringá, Maringá, 2010.

OTTONI, L. C. C. et al. **Ocorrência de fungos em água para consumo humano**. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer – Goiânia, v. 10, n. 18; p. 3426, 2014.

PATERSON, R.R.M., Kelly, J., GALLAGHER M. **Natural occurrence of aflatoxins and *Aspergillus flavus* (Link) in water**. Lett Appl Microbiol. 1997; 25: 435-6.

TAYLOR, F.J.R. 1987. Dinoflagellates Morphology. In: F.J.R. Taylor (ed.). **The Biology of Dinoflagellates**. London, Balckwell Scientific Publications. Botanical Monographs.

VASCONCELOS, A. V., SILVA, M. R. da. **Avaliação Físico-Química e microbiológica da qualidade da água de pequenos laticínios da região de Francisco Beltrão / PR**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso Superior de Tecnologia em Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2012.

VARGAS-MONTERO, M.; FREER, E.. **Presencia de los dinoflagelados *Ceratium dens*, *C. fusus* y *C. furca* (Gonyaulacales: Ceratiaceae) en el Golfo de Nicoya, Costa Rica**. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica, 2003.

YAMAGUCHI, M.U; NUZIO, B.. **Prevalência de fungos em água para consumo humano de asilos e creches em Maringá – PR**. Revista em Agronegócios e Meio Ambiente, v3, n.2m p. 113-134, 2010.