

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL
CÂMPUS APUCARANA/LONDRINA**

VERA LÚCIA DELMÔNICO VILELA

**QUALIDADE DA ÁGUA DE MANANCIAIS EMPREGADOS NA
IRRIGAÇÃO E LAVAGEM DE HORTALIÇAS DA REGIÃO DE
APUCARANA, PARANÁ**

DISSERTAÇÃO

**LONDRINA
2018**

VERA LÚCIA DELMÔNICO VILELA

**QUALIDADE DA ÁGUA DE MANANCIAIS EMPREGADOS NA
IRRIGAÇÃO E LAVAGEM DE HORTALIÇAS DA REGIÃO DE
APUCARANA, PARANÁ**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Ambiental, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Área de Concentração: Saneamento Ambiental

Orientador: Profa. Dra. Kátia Valéria
Marques Cardoso Prates

Co-orientador: Profa. Dra. Ana Cláudia
Ueda

LONDRINA
2018

TERMO DE LICENCIAMENTO

Esta Dissertação está licenciada sob uma Licença Creative Commons *atribuição uso não-comercial/compartilhamento sob a mesma licença 4.0 Brasil*. Para ver uma cópia desta licença, visite o endereço <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/> ou envie uma carta para Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, Califórnia 94105, USA.



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

V699q Vilela, Vera Lúcia Delmônico
Qualidade da água de mananciais empregados na irrigação e lavagem de hortaliças da região de Apucarana, Paraná / Vera Lúcia Delmônico Vilela. – Londrina: [s.n.], 2018.
131 f. : il.; 30 cm.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Kátia Valéria Marques Cardoso Prates
Co-orientadora: Dr.^a Ana Cláudia Ueda
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Londrina, 2018.
Bibliografia: f. 90-118

1. Recursos Hídricos. 2. Água - Qualidade. 3. Irrigação. 4. Hortaliças. I. Prates, Kátia Valéria Marques Cardoso, orient. II. Ueda, Ana Cláudia, co-orient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. V. Título.

CDD: 628



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Pró-reitora de Pesquisa e Pós Graduação
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental
Campus Apucarana/Londrina



TERMO DE APROVAÇÃO

QUALIDADE DA ÁGUA DE MANANCIAIS EMPREGADOS NA IRRIGAÇÃO E LAVAGEM DE HORTALIÇAS DA REGIÃO DE APUCARANA, PARANÁ

por

Vera Lúcia Delmônico Vilela

Dissertação de mestrado apresentada no dia 26 de Abril de 2018 como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Câmpus Apucarana/Londrina, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O Candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho Aprovado.

Prof. Dra. Kátia Valéria Marques Cardoso Prates - Orientadora
(UTFPR)

Prof. Dra. Cristiane Andreani - Membro Titular
(UEL)

Prof. Dra. Luciana Furlaneto Maia - Membro Titular
(UTFPR)

Profa. Dra. Alessandra Furtado da Silva
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental

O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental

*Dedico aos meus pais, Antenor e Leonora
(in memoriam), aos meus amados filhos
Amanda e João Henrique e irmãos
queridos.*

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”

Theodore Roosevelt

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora Prof^a Dra. Kátia Valéria Marques Prates pela oportunidade, confiança, paciência, incentivo e bondade. E ainda, por ser um exemplo a ser seguido de mestre e profissional. “Uma Pequena Gigante”!

Agradeço a minha co-orientadora Prof^a. Dra. Ana Cláudia Ueda pela paciência, por me atender nos momentos necessários durante o desenvolvimento das análises físico-química da pesquisa.

Agradeço a cada um dos Professores do PPGEA com tive a oportunidade de manter contato durante os estudos.

Agradeço em especial os Prof^{os} Ajadir Fazolo, Edson Fontes de Oliveira e Ricardo Nagamine Costanzi pela paciência, apoio, ensinamentos e incentivo durante essa caminhada.

Agradeço a FAP pelo incentivo e disponibilização dos laboratórios que foram facilitadores para o desenvolvimento da pesquisa, momento esse crucial.

Agradeço a amiga e parceira Shirley, pelo enorme auxílio durante os momentos de pesquisa de campo.

Aos amigos Natália, Kayque, Priscila, pelo enorme auxílio durante os trabalhos de laboratório passando por madrugadas sem ver estrelas mas sim, *E. coli...* *E. cloacae...* *Enterococcus!*

Agradeço ao Carlos e Lucas que me garantiram e mantiveram nosso setor de trabalho ativo durante a minha ausência.

As minhas queridas Livia e Suzana, pelas risadas, trabalhos divididos e os cafezinhos. me lembrarei sempre de vocês.

Agradeço a todos os companheiros do mestrado pelos momentos divididos de estudo, apoio e amizade, desejo sucesso a todos.

A Débora minha companheira de viagem, pela companhia e as boas conversas que tivemos.

Enfim, agradeço a todos me dirigiram palavras de otimismo e confiança.

RESUMO

VILELA, Vera Lúcia Delmônico. **Qualidade da Água de Mananciais Empregados na Irrigação e Lavagem de Hortaliças da Região de Apucarana, Paraná.** 2018. 131 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Engenharia Ambiental) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal Paraná – Câmpus Apucarana/Londrina. Londrina, 2018.

A atividade de irrigação e lavagem de hortaliças ingeridas *in natura* como os vegetais folhosos, podem veicular microrganismos patogênicos, nesse contexto, o monitoramento da qualidade da água é fundamental para determinar o seu enquadramento e destinação. A bactéria *Escherichia coli* é utilizada como uma ferramenta para avaliar a contaminação fecal dos recursos hídricos. Neste sentido, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica e físico-química de águas destinadas à irrigação e lavagem de hortaliças em propriedades rurais da região de Apucarana, Paraná. Nos meses de julho e setembro foram coletadas amostras de água em 9 propriedades que fazem uso de mananciais superficiais e subterrâneos para irrigação e lavagem de hortaliças. Foi aplicado um questionário aos produtores para o levantamento de dados referentes ao manejo da produção e destinação dos produtos cultivados. Foi utilizada a técnica de membrana filtrante em ágar MTEC Acumedia para a quantificação e identificação de *E. coli* e de outras bactérias com potencial patogênico. Para a diferenciação e isolamento das bactérias de interesse, foi utilizado o meio Difco CHROMagar Orientation. As colônias indicativas com potencial patogênico foram isoladas e submetidas a testes bioquímicos, de suscetibilidade a antibióticos e sanitizantes clorados e ácido acético. Avaliou-se os parâmetros físico-químicos como pH, temperatura, oxigênio dissolvido, sólidos totais, turbidez, nitrito e nitrato. Das 36 amostras avaliadas foram encontradas contaminação por *E. coli* em 72%, *E. cloacae* 83% e *E. faecalis* em 2,8%. Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos mostraram isolados de *E. coli* majoritariamente sensíveis, no entanto foi observado resistência a Ampicilina, Tetraciclina e Cloranfenicol determinando a mutiresistência da bactéria. A resistência a Ampicilina e Tetraciclina foi verificada por *E. cloacae* e *E. faecalis*. O sanitizante de melhor desempenho foi a água sanitária na proporção de 1:60 (200 ppm), o desinfetante de alimentos e o vinagre mostraram pouca ou nenhuma ação sobre os microrganismos. Os parâmetros físicos e químicos foram compatíveis com a Resolução CONAMA 357/05 e 396/08 para águas de classe I, com exceção dos parâmetros de OD em P6 e P7 e da turbidez que assinalou 43 UNT no P7 em água de irrigação. Somente as águas de irrigação e lavagem do P5 mostram-se próprias para a finalidade proposta durante os dois períodos avaliados. Os demais pontos não atenderam aos critérios recomendados pela legislação em pelo menos um dos períodos avaliados.

Palavras-chave: Recursos hídricos, microrganismos, contaminação, suscetibilidade a antibióticos e sanitizantes comerciais.

ABSTRACT

VILELA, Vera Lúcia Delmônico. **Quality of spring water applied to Irrigation and Washing of Vegetables in the Apucarana Region, Paraná.** 2018. 131 f. Dissertation (Master's degree in Environmental Engineering) – Environmental Engineering Graduate Program, Universidade Tecnológica Federal Paraná – Câmpus of Apucarana/Londrina. Londrina, 2018.

The activity of irrigation and washing of vegetables ingested in natura such as leafy vegetables, can transmit pathogenic microorganisms, in this context, the monitoring of water quality is fundamental to determine its framing and destination. The bacterium *Escherichia coli* is used as a tool to evaluate fecal contamination of water resources. In this sense, the objective of this research was to evaluate the microbiological and physicochemical quality of water intended for irrigation and washing of vegetables in rural properties in the region of Apucarana, Paraná. In the months of July and September water samples were collected in 9 properties that make use of surface and underground springs for irrigation and vegetable washing. A questionnaire was applied to the producers to collect data regarding the management of the production and destination of the cultivated products. The MTEC Acumedia Agar filter membrane technique was used for quantification and identification of *E. coli* and other bacteria with pathogenic potential. For the differentiation and isolation of the bacteria of interest, Difco CHROMagar Orientation medium was used. The indicative colonies with pathogenic potential were isolated and submitted to biochemical tests, susceptibility to antibiotics and chlorinated sanitizers and acetic acid. Physicochemical parameters such as pH, temperature, dissolved oxygen, total solids, turbidity, nitrite and nitrate were evaluated. Of the 36 samples evaluated, *E. coli* contamination was found in 72%, *E. cloacae* in 83% and *E. faecalis* in 2.8%. Antimicrobial susceptibility tests showed mostly sensitive *E. coli* isolates, however resistance to Ampicillin, Tetracycline and Chloramphenicol was observed, determining the bacterial resistance. Resistance to Ampicillin and Tetracycline was verified by *E. cloacae* and *E. faecalis*. The best performance sanitizer was 1:60 (200 ppm) bleach, the food disinfectant and the vinegar showed little or no action on the microorganisms. The physical and chemical parameters were compatible with CONAMA Resolution 357/05 and 396/08 for class I waters, except for the OD parameters at P6 and P7 and the turbidity that indicated 43 UNT at P7 in irrigation water. Only the irrigation and lavage waters of P5 are suitable for the purpose proposed during the two evaluated periods. The other points did not meet the criteria recommended by the legislation in at least one of the evaluated periods.

Key words: Water resources, microorganisms, contamination, susceptibility to antibiotics and commercial sanitizers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição da água na Terra.....	18
Figura 2 – Demanda consultiva total (estimada e consumida) no Brasil (m ³ /s)	19
Figura 3 – Principais impactos decorrentes das atividades humanas nos recursos hídricos do Brasil.	21
Figura 4 – Participação dos Principais Segmentos Rurais - VBP 2016.....	27
Figura 5 – Localização da cidade de Apucarana no estado do Paraná.....	38
Figura 6 – Diagrama sequencial das análises microbiológicas realizadas.....	41
Figura 7 – Apresentação dos tipos de fontes de água destinada a irrigação das hortaliças das propriedade rurais.....	50
Figura 8 – Apresentação dos tipos de fontes de água destinada a lavagem das hortaliças das propriedade rurais.....	51
Figura 9 – Exemplo de sistema Irrigação por aspersão utilizada pelos produtores de hortaliças da região de Apucarana.....	52
Figura 10 – Local de criação de animais localizado de forma irregular próximo à produção de hortaliças do P8.....	53
Figura 11 – Presença de animais próximos a cerca que divide a horta e outras propriedades.....	54
Figura 12 – Identificação e quantificação de Colônias típicas de <i>E. coli</i> em meio MTEC.....	58
Figura 13 – Diferenciação e identificação de colônias de <i>E. coli</i> desenvolvidas no meio CHROMagar <i>Orientation</i>	59
Figura 14 – Colônias de <i>E. coli</i> e colônias atípicas no meio MTEC estriadas em meio cromogênico CHROMagar™ <i>Orientation</i> para diferenciação e identificação das cepas <i>E. cloacae</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>	63
Figura 15 – Perfil de sensibilidade de <i>E. coli</i> presentes em água de irrigação e lavagem de hortaliças a antimicrobianos.....	65
Figura 16 – Comportamento de isolados de <i>E. coli</i> expostos a antimicrobianos.....	66

Figura 17 – Perfil de sensibilidade de <i>E. cloacae</i> presentes em água de irrigação e lavagem de hortaliças a antimicrobianos.....	69
Figura 18 – Comportamento de isolados de <i>E. cloacae</i> expostos a antimicrobianos	69
Figura 19 – Perfil de sensibilidade de <i>E. faecalis</i> em água de irrigação e lavagem de hortaliças a antimicrobianos.....	70
Figura 20 – Comportamento de isolados de <i>E. faecalis</i> expostos a antimicrobianos.....	71
Figura 21 – Perfil de sensibilidade dos isolados de <i>Escherichia coli</i> diante dos sanitizantes utilizados.....	72
Figura 22 – Comportamento dos isolados bacterianos expostos a diferentes sanitizantes.....	73
Figura 23 – Perfil de sensibilidade de isolados de <i>Enterobacter cloacae</i> diante dos sanitizantes utilizados.....	75
Figura 24 – Perfil de sensibilidade de isolados de <i>Enterococcus faecalis</i> diante dos sanitizantes utilizados.....	76
Figura 25 – Variação do pH das águas de irrigação e lavagem de hortaliças nos períodos de estiagem e chuvoso.....	78
Figura 26 – Temperatura das águas de irrigação e lavagem de hortaliças nos períodos de estiagem e chuvoso.....	79
Figura 27 – Oxigênio dissolvido em água de irrigação e lavagem de hortaliças nos períodos de estiagem e chuvoso.....	81
Figura 28 – Concentração de sólidos totais em água de irrigação e lavagem de hortaliças nos períodos de estiagem e chuvoso.....	83
Figura 29 – Concentração de turbidez em água de irrigação e lavagem de hortaliças em período de estiagem e chuvoso.....	84
Figura 30 – Concentração de nitrito em águas de irrigação e lavagem de hortaliças.....	86
Figura 31 – Concentração de nitrato em águas de irrigação e lavagem de hortaliças.....	87

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Contagem de bactérias *Escherichia coli* em água de irrigação e lavagem de hortaliças pela técnica de membrana filtrante.....59
- Tabela 2** – Análise físico e química de diferentes fontes de águas destinadas a irrigação e lavagem de hortaliças dos locais de estudo.....89

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Classificação das águas doces em função dos usos preponderantes conforme CONAMA N° 357/2005	24
Quadro 2 – Diluições utilizadas na análise de sensibilidade a sanitizantes.....	46
Quadro 3 – Parâmetros e métodos utilizados.....	47
Quadro 4 – Levantamento e caracterização das fontes de água utilizadas na irrigação e lavagem das hortaliças das propriedades rurais do estudo.....	49
Quadro 5 – Meio de transporte e o tempo gasto para que os produtos cheguem ao ponto de comercialização ou entrega dos produtos.....	56
Quadro 6 – Locais de distribuição e comercialização das hortaliças.....	56

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo Geral	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3 REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1 A Água.....	18
3.2 Demanda de água no Brasil.....	19
3.3 Qualidade da água.....	20
3.4 Legislação.....	23
3.5 Uso e qualidade da água para irrigação da orticultura.....	26
3.6 Indicadores Microbiológicos de Contaminação na Água.....	29
3.7 Cepas Patogênicas e Resistentes a antimicrobianos em Água	31
3.8 Parâmetros Físicos e Químicos relacionados a qualidade da água.....	33
3.8.1 Potencial Hidrogeniônico - pH.....	33
3.8.2 Temperatura e Oxigênio Dissolvido.....	34
3.8.3 Turbidez.....	34
3.8.4 Sólidos Totais Dissolvidos.....	35
3.8.5 Nitrito e Nitrato.....	35
4 MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 Área de Estudo.....	38
4.2 Coleta das Amostras de Água.....	39
4.3 Análises Microbiológicas.....	40
4.3.1 Identificação e contagem de <i>Escherichia coli</i>	41
4.3.2 Testes de Confirmação de <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>	42
4.3.2.1 Meio Difco CHROMagar™ Orientation.....	42
4.3.2.2 Recuperação, Isolamento e estocagem de <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterobacter cloacae</i>	43
4.3.2.3 Testes bioquímicos.....	44
4.3.2.4 Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA) e Sanitizantes Comerciais.....	45
4.4 Análises Físico e Químicas.....	46

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1 Caracterização sócio-ambiental das propriedades.....	48
5.2 Identificação, Contagem e Testes de Confirmação de <i>Escherichia coli</i>	58
5.3 Identificação e Testes de Confirmação das Bactérias Atípicas.....	63
5.4 Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA) por <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>	65
5.4.1 Sensibilidade a antimicrobianos por <i>Escherichia coli</i>	65
5.4.2 Sensibilidade a antimicrobianos por <i>Enterobacter cloacae</i>	68
5.4.3 Sensibilidade a antimicrobianos por <i>Enterococcus faecalis</i>	70
5.4.4 Teste de sensibilidade de <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> e <i>Enterococcus faecalis</i> a Sanitizantes Comerciais.....	72
5.5 Parâmetros Físicos e Químicos.....	76
5.5.1 pH – Potencial Hidrogeniônico.....	77
5.5.2 Temperatura.....	79
5.5.3 Oxigênio Dissolvido (OD)	80
5.5.4 Sólidos totais.....	82
5.5.5 Turbidez.....	83
5.5.6 Nitrito e Nitrato.....	85
5.5.6.1 Nitrito.....	85
5.5.6.2 Nitrato.....	86
6 CONCLUSÃO	90
REFERÊNCIAS	91
APÊNDICE	119
APÊNDICE A – Termo de Autorização Institucional	120
APÊNDICE B – Questionário Semiestruturado	122
ANEXO	124
ANEXO A – Parecer Consubstanciado do CEP	125

1 INTRODUÇÃO

A qualidade da água pode ser definida por meio de uma ou mais características, considerando principalmente, as propriedades químicas, físicas e biológicas (AYERS; WESTCOT, 1999; SILVA, 2011). Ratti et al. (2011) afirmam que o parâmetro bacteriológico é fundamental, pois indica a qualidade da água.

Frequentemente, as bactérias do grupo coliformes são utilizadas como indicadores de contaminação, sendo que a presença de *Escherichia coli* sugere contaminação fecal proveniente de fezes humanas e de animais de sangue quente. Silva et al. (2011) consideram que o controle da presença desses microrganismos deve ser prioridade quando se trabalha com irrigação de culturas que serão consumidas cruas.

Nas práticas agrícolas a irrigação consiste em uma técnica que assegura alcançar uma produção otimizada, resultando no aumento na oferta de produtos destinados ao mercado (LIMA; FERREIRA; CHRISTOFIDIS, 1999).

Mantovani, Bernardo e Palaretti (2006) advertem quanto ao fato de se negligenciar a qualidade da água no estabelecimento de projetos de sistemas irrigados, uma vez que, a falta da observação desse aspecto pode trazer implicações para as culturas, principalmente as comercializadas, que em muitos casos recebem irrigação com água contaminada, podendo atingir a população por ocasião da ingestão desses alimentos.

O uso de água com qualidade imprópria na irrigação e lavagem de hortaliças afetam as condições higiênico-sanitárias desses alimentos. Por conseguinte, estes produtos podem carrear contaminantes, causando vários tipos de doenças na população que os consumir (BRACKETT, 1999; FRANCO; VANZELA; HERNANDEZ, 2006; MANTOVANI; BERNARDO; PALARETTI et al., 2006).

O fator de risco de contaminação presente na produção de produtos frescos está intimamente relacionado à água de irrigação (EFSA, 2014; ALLENDE; MONAGHAN, 2015; GIL et al., 2015). Águas ou alimentos contaminados podem conter bactérias, protozoários, vírus e outros parasitas (GERMANO; GERMANO 2001). As bactérias, quando patogênicas, são responsáveis por casos de enterites, diarreias e doenças como a febre tifoide (EDUARDO, 2005).

A região de Apucarana contribui com uma parcela considerável na produção de hortaliças no Estado do Paraná. A produção é obtida na maior parte, por meio da

agricultura familiar. Esta atividade possibilita o fornecimento de produtos frescos, comercializados diretamente com o consumidor por meio da feira do produtor. Conjuntamente, promovem o abastecimento de diferentes tipos de estabelecimentos, e até mesmo, projetos mantidos pelo município.

A água é indispensável na irrigação e deve apresentar parâmetros condizentes com os descritos na Resolução CONAMA Nº 357/2005 que define a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento.

Neste contexto, este estudo buscou avaliar as condições microbiológicas, físicas e químicas das águas empregadas na irrigação e lavagem de hortaliças produzidas no município de Apucarana, buscando comparar ao atendimento da Resolução vigente.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a qualidade microbiológica e físico-química de águas destinadas à irrigação e lavagem de hortaliças em propriedades rurais da região de Apucarana, Paraná.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificação e quantificação de *Escherichia coli*.
- Verificar a presença de *Enterobacter cloacae* e *Enterococcus faecalis*. bactérias potencialmente patogênicas nas amostras de água coletadas.
- Avaliar o perfil da resistência dos isolados bacterianos a antibióticos e sanitizantes dos isolados bacterianos.
- Verificar o enquadramento dos padrões da água de irrigação e lavagem definidos pela resolução vigente CONAMA N° 357/2005 e Resolução 396/2008.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

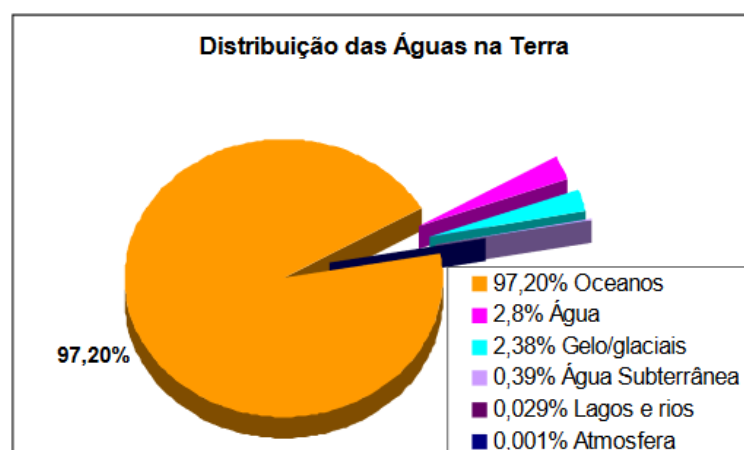
3.1 A Água

A água é um recurso natural essencial para a vida no planeta, sendo ela fundamental para a sobrevivência e manutenção do corpo humano, e para o funcionamento dos ecossistemas (WOLKMER; PIMMEL, 2013).

Segundo Bacci e Pataca (2008), “a presença ou ausência de água escreve a história, cria culturas e hábitos, determina a ocupação de territórios, vence batalhas, extingue e dá vida às espécies, determina o futuro de gerações”. As diversas atividades econômicas como abastecimento das indústrias, irrigação agrícola, pecuária, geração de energia elétrica são movidas por meio desse recurso (REBOUÇAS, 2004; BRAGA et al., 2011).

A água como um bem público deve ser cuidada, preservada e utilizada com critérios. O crescimento da população global, tem exigido um aumento na demanda por água, agravando os conflitos ocasionados pela escassez (VICTORINO, 2007). Mais de 97% da água do planeta é constituída de água salgada, e a água doce, em sua maior parte, está situada nas calotas polares e geleiras, portanto não disponível para o uso (Figura 1).

Figura 1 – Distribuição da água na Terra



Fonte: Victorino, 2007.

A disponibilidade da água chega a ser crítica em muitos locais do mundo, sendo que as atividades antrópicas podem notadamente comprometer as condições dos recursos hídricos (BRASIL, 2005; SOUZA et al., 2014). Pelo menos em 26 países

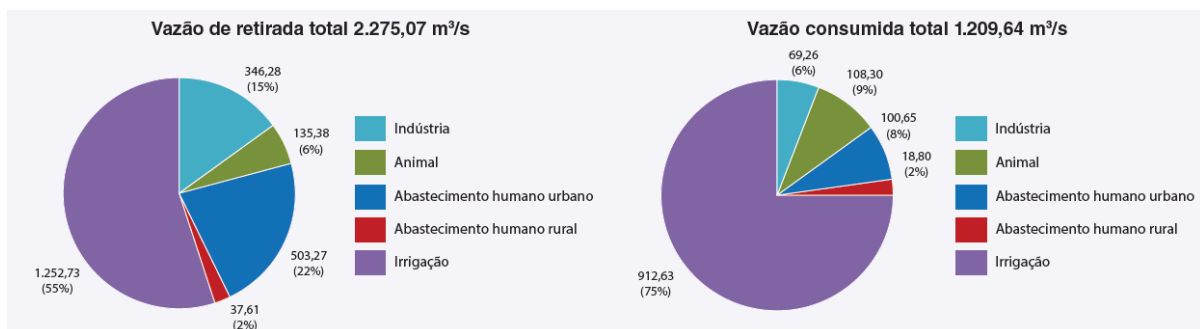
no mundo são observados problemas sérios com a escassez da água, e outros quatro dispõem de apenas 10 a 66 m³/ano/habitante de água, constituindo um quadro de extrema escassez (TUNDISI, 2003; OLIVO; ISHIKI, 2014).

No Brasil, a disponibilidade hídrica superficial alcança 91.300 m³/s e a disponibilidade hídrica subterrânea passível de ser explorada corresponde a 11.430 m³/s. (MIERZWA; HESPANHOL, 2005; ANA, 2013). Embora o Brasil seja o detentor de aproximadamente 12% das águas doces do planeta, a distribuição dos recursos hídricos acontece de forma desigual com a maior parte dos recursos concentrados na Bacia Amazônica, onde ocorre menor índice populacional, conseqüentemente, menor demanda, enquanto nas regiões hidrográficas banhadas pelo Oceano Atlântico ocorre o oposto, por reunir a maioria da população (ANA, 2014; ANA, 2017).

3.2 Demanda de Água no Brasil

O uso consuntivo de água refere-se ao abastecimento público urbano ou rural indústria, irrigação e dessedentação animal. Em 2015, a Agência Nacional de Águas (ANA) organizou um relatório acerca da demanda hídrica consuntiva em nível nacional dos anos de 2013 e 2014. O documento mostrou que a demanda consuntiva total para o país foi de 2.275,07 m³/s, quando considerada a vazão de retirada (Figura 2) (ANA, 2016).

Figura 2 – Demanda consuntiva total (estimada e consumida) no Brasil (m³/s)



Fonte: ANA, 2016.

Conforme pode ser observado na Figura 2 a irrigação foi o setor responsável pela maior parcela de vazão de retirada total (55%), seguido dos setores de abastecimento humano urbano, industrial, animal e abastecimento humano rural. Da

vazão total consumida, 75% foi destinada a irrigação, o que correspondeu a um volume de 912,63 m³/s (ANA, 2016).

O Estado do Paraná possui 16 bacias hidrográficas, isto é, uma região hidrográfica limitada por um divisor de águas, constituída pelas: Bacia Litorânea; Bacia do Ribeira; Bacia do Cinzas; Bacia do Iguaçu; Bacia do Paraná 1, 2 e 3; Bacia do Tibagi, Bacia do Ivaí, Bacia do Piquiri, Bacia do Pirapó, Bacia do Itararé e Bacia do Paranapanema 1, 2, 3 e 4 (SEMA, 2010).

Quanto às águas subterrâneas, o Siagas (Sistema de Informações de Águas Subterrâneas) registrou durante o período de 2008 a 2013, um aumento de 56,5% no número de poços cadastrados, totalizando 35.024 poços no Paraná (ANA, 2013).

Mesmo diante da abundância dos recursos hídricos no Brasil, a ameaça de uma crise não é inexistente, uma vez que os efeitos na qualidade e na quantidade da água disponível são reais e pertinentes ao aumento do consumo, desperdício e a poluição das águas superficiais e subterrâneas decorrente dos usos nas atividades do homem (BRASIL, 2005).

3.3 Qualidade da Água

A água, além de ser um solvente universal, assume a habilidade de transportar substâncias dissolvidas e partículas presentes. Tais impurezas determinam sua caracterização, e esta, determina o seu emprego e as condições de preservação do meio ambiente (VICTORINO, 2007; BRASIL, 2014).

A qualidade da água de acordo com a legislação vigente, é determinada a partir do tipo de uso a qual ela será destinada (CONAMA, 2005). Os padrões da qualidade da água estão relacionados às características físicas, químicas e biológicas, que são definidas em limites aceitáveis de acordo com o uso.

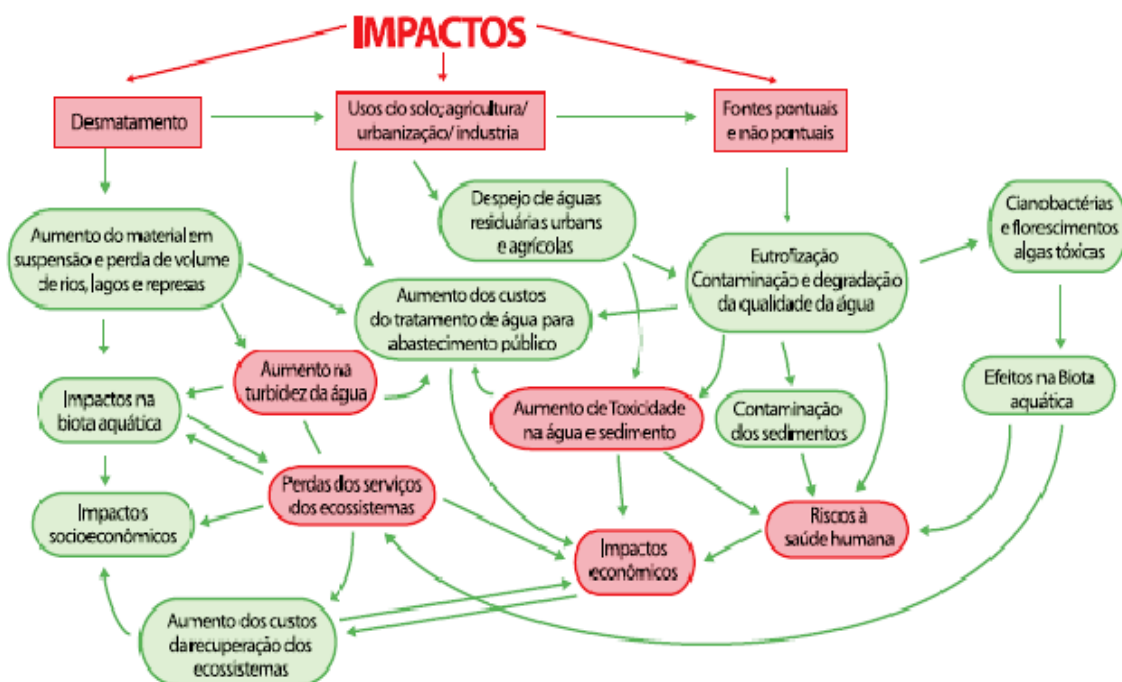
Anbumozhi et al. (2005) explicam que a qualidade das águas em mananciais sofre influência conforme o uso das terras nas bacias hidrográficas. Souza et al. (2014) explicam que a ocupação desordenada e o desenvolvimento social e econômico acarretam o aumento da demanda por água e por conseguinte, geram mudanças no estado físico, químico e biológico nos ecossistemas aquáticos (SALOMONI et al., 2007). Decorrente disso, investigar a qualidade da água e verificar a sua fragilidade frente à atividade humana, é relevante tendo em vista a conservação dos recursos

hídricos, e essencial no planejamento da ocupação das bacias hidrográficas (LEMOS, 2010; SOUZA, 2013).

A destinação da água para os diversos usos apresenta diferentes padrões de qualidade fixados pela Resolução CONAMA Nº 357/2005 (SOUZA et al., 2014). O enquadramento dos corpos de água permite assegurar a qualidade das águas superficiais e subterrâneas para os diversos usos. Neste aspecto, a aplicação de recursos em ações preventivas de controle da poluição são reduzidos (INSTITUTO MINEIRO DE GESTÃO DAS ÁGUAS, 2014).

Na Figura 3 Tundisi (2014) expõe um conjunto de interrelações e consequências que afetam os ecossistemas aquáticos e seus elementos, a economia regional, a saúde humana, a disponibilidade hídrica e a perda de serviços ecossistêmicos. Ficam explícitos ainda, os efeitos diretos e indiretos dos processos resultantes dos impactos.

Figura 3 – Principais impactos decorrentes das atividades humanas nos recursos hídricos do Brasil



Fonte: Tundisi, 2014.

O desmatamento, os usos do solo, agricultura, indústria, fontes pontuais e não pontuais, são impactos que trazem consequências graves a qualidade das bacias hidrográficas no Brasil (TUNDISI, 2014). Anbumozhi et al. (2005), ressaltam que os

sistemas de transição como as matas ripárias, são essenciais, uma vez que sua presença é fundamental para os sistemas hidrológicos em razão da cobertura vegetal atuar como um filtro protetor, controlando o aporte de nutrientes, sedimentos, adubos e agrotóxicos e prevenir o processo de erosão das margens (MARQUES; SOUZA, 2005; NATAL; MENEZES; MUCCI, 2005).

Estudos realizados no intuito de conhecer a qualidade das bacias hidrográficas, mostram claramente a interferência da ação humana. Na pesquisa de Santos (2013), ao avaliar a bacia hidrográfica do rio Ivaí no Paraná, entre os anos de 2010 a 2012, observou que vários parâmetros físicos, químicos e microbiológicos se encontravam acima dos limites estabelecidos pela legislação vigente, sendo o fato associado ao uso e a ocupação do solo, o crescimento urbano desordenado e a agricultura.

Alves et al. (2008), ao monitorar a qualidade da água dos principais ribeirões e córregos da bacia do rio Pirapó em Maringá por meio de indicadores estabelecidos pela Resolução CONAMA Nº 357/2005, no período de abril de 2005 a abril de 2006, constataram elevados índices de matéria orgânica e coliformes encontrados no corpo receptor, decorrentes da exploração do solo às margens do rio, e o lançamento clandestino de esgoto doméstico.

O município de Apucarana pertence a três bacias hidrográficas: a Bacia do Rio Pirapó, Bacia do Rio Tibagi e Bacia do Rio Ivaí (SEMA, 2010). Os cursos d'água que fazem parte das bacias hidrográficas dos rios Pirapó e Tibagi são mananciais de abastecimento do município (FUNDAÇÃO GRUPO BOTICÁRIO DE PROTEÇÃO À NATUREZA, 2012).

Apucarana tem colocado em prática o monitoramento de mananciais naturais por meio do projeto denominado Oásis, que atualmente tem cadastrados 184 propriedades, que abrangem as bacias do Rio Pirapó (95), Tibagi (64) e Ivaí (25) (APUCARANA, 2017).

Problemas ambientais ligados a bacia do Rio Pirapó foram registrados pela SANEPAR em 2007, dentre eles, a presença de lixão localizado na bacia de abastecimento, deposição indiferenciada de resíduos domésticos e industriais, presença de chorume e aterro de entulho clandestino provenientes do município de Apucarana (KLEPKA, 2011).

A Secretaria Municipal de Meio Ambiente e Turismo de Apucarana (SEMATUR) implantou em 2009, o Projeto Oásis no município de Apucarana com o

objetivo de estabelecer ações no sentido de favorecer a qualidade de vida e aumentar a quantidade e a qualidade da água dos rios do município. Com recursos próprios do município e do Fundo Municipal de Meio Ambiente por meio da arrecadação municipal da Companhia de Saneamento do Paraná (Sanepar) (FUNDAÇÃO GRUPO BOTICÁRIO DE PROTEÇÃO À NATUREZA, 2018), os proprietários rurais são remunerados financeiramente (pagamento por serviços ambientais (PSA), a partir da prestação serviços ambientais, como recomposição da mata ciliar, reserva legal e preservação de minas e nascentes (APUCARANA, 2017).

A partir de 2011, foram aportados também recursos do ICMS Ecológico para a premiação dos proprietários, bem como recursos da Agência Nacional de Águas (ANA), por meio de um edital destinado à conservação e recuperação de estradas vicinais. O projeto é realizado pela Sematur com apoio técnico da Fundação Grupo Boticário (FUNDAÇÃO GRUPO BOTICÁRIO DE PROTEÇÃO À NATUREZA, 2018).

3.4 Legislação

As diversas atividades humanas representam uma ameaça a qualidade da água. É sabido que a dependência desse bem se estende para diversos setores e também para a sobrevivência humana.

A Lei Federal nº 9.433 de 8 de janeiro de 1997, conhecida como a “Lei das Águas”, instituiu a Política Nacional de Recursos Hídricos (PNRH) e criou o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos (SNGRH). A Lei foi criada mediante o fato que a água se torna cada dia mais escassa e que a sua distribuição deve ser justa (BRASIL, 1997).

A Lei nº 9.433/1997 fundamenta-se em princípios como,

- I - a água é um bem de domínio público;
- II - a água é um recurso natural limitado, dotado de valor econômico;
- III - em situações de escassez, o uso prioritário dos recursos hídricos é o consumo humano e a dessedentação de animais;
- IV - a gestão dos recursos hídricos deve sempre proporcionar o uso múltiplo das águas;
- V - a bacia hidrográfica é a unidade territorial para implementação da Política Nacional de Recursos Hídricos e atuação do Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos;
- VI - a gestão dos recursos hídricos deve ser descentralizada e contar com a participação do Poder Público, dos usuários e das comunidades.

Entre os principais objetivos a serem alcançados pela Lei das Águas está o de assegurar a disponibilidade de água às gerações presentes e futuras em padrões de qualidade adequados aos respectivos usos.

A Resolução vigente do CONAMA Nº 357/2005 dispõe sobre a classificação e estabelece diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências para as águas doces, salobras e salinas (BRASIL, 2005).

No Quadro 1 é apresentada a classificação pertinente as águas doces e as relações de uso imposta a determinadas finalidades.

Quadro 1 – Classificação das águas doces em função dos usos preponderantes conforme CONAMA Nº 357/2005

USO	Classe				
	Especial	1	2	3	4
Abastecimento para consumo humano	X ^a	X ^b	X ^c	X ^d	
Preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas	X	X	X		
Preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral	X				
Proteção das comunidades aquáticas		X	X		
Recreação de contato primário		X	X		
Irrigação		X ^e	X ^f	X ^g	
Proteção das comunidades aquáticas em Terras Indígenas		X			
Recreação de contato secundário				X	
Aquicultura e à atividade de pesca			X		
Pesca amadora				X	
Dessedentação de animais.				X	
Usos menos exigentes					X ^h

Fonte: Baseado na Resolução CONAMA 357/2005.

Nota: *a*: com desinfecção; *b*: após tratamento simplificado; *c*: tratamento convencional; *d*: tratamento convencional ou avançado; *e*: hortaliças e frutas que se desenvolvem rente ao solo, ingeridas cruas e sem remoção de película; *f*: hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; *g*: culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras; *h*: navegação, harmonia paisagística.

Relativo às águas doces que se destinam à irrigação de hortaliças consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo que são ingeridas cruas sem remoção de película, requerem para a sua irrigação a condição de

qualidade microbiológica das águas doces de Classe 1, conforme a Resolução Nº 357/2005. Desse modo, é estabelecido que não deve ser excedido um limite de 200 coliformes termotolerantes ou *E. coli* por 100 mililitros de água (BRASIL, 2005).

A Resolução CONAMA Nº 396 de 2008 está relacionada as funções social, econômica e ambiental das águas subterrâneas, no Art. 1º dispõe sobre a classificação e estabelece diretrizes ambientais para o enquadramento, prevenção e controle da poluição das águas subterrâneas. As características apresentadas por elas é que estabelecem a referência de sua qualidade. Desse modo, viabiliza-se o seu enquadramento em classes (BRASIL, 2008).

No Artigo 2º, I da Resolução 396/2008, é definida águas subterrâneas como aquelas que ocorrem naturalmente ou artificialmente no subsolo.

As águas subterrâneas são classificadas do seguinte modo:

I - Classe Especial: águas dos aquíferos, conjunto de aquíferos ou porção desses destinadas a preservação de ecossistemas em unidades de conservação de proteção integral e as que contribuam diretamente para os trechos de corpos de água superficial enquadrados como classe especial;

II - Classe 1: águas dos aquíferos, conjunto de aquíferos ou porção desses, sem alteração de sua qualidade por atividades antrópicas, e que não exigem tratamento para quaisquer usos preponderantes devido às suas características hidro geoquímicas naturais;

III - Classe 2: águas dos aquíferos, conjunto de aquíferos ou porção desses, sem alteração de sua qualidade por atividades antrópicas, e que podem exigir tratamento adequado, dependendo do uso preponderante, devido às suas características hidrogeoquímicas naturais;

IV - Classe 3: águas dos aquíferos, conjunto de aquíferos ou porção desses, com alteração de sua qualidade por atividades antrópicas, para as quais não é necessário o tratamento em função dessas alterações, mas que podem exigir tratamento adequado, dependendo uso preponderante, devido às suas características hidrogeoquímicas naturais;

V - Classe 4: águas dos aquíferos, conjunto de aquíferos ou porção desses, com alteração de sua qualidade por atividades antrópicas, e que somente possam ser utilizadas, sem tratamento, para o uso preponderante menos restritivo; e

VI - Classe 5: águas dos aquíferos, conjunto de aquíferos ou porção desses, que possam estar com alteração de sua qualidade por atividades antrópicas, destinadas a atividades que não têm requisitos de qualidade para uso (BRASIL, 2008).

No Anexo I da Resolução Nº 396/2008 são apresentados os parâmetros de maior probabilidade de ocorrência em águas subterrâneas, seus respectivos Valores Máximos Permitidos (VMP) para cada um dos usos considerados como preponderantes (Consumo Humano, Dessedentação de animais, Irrigação e Recreação) e os limites de quantificação praticáveis (LQP), considerados como aceitáveis para aplicação desta Resolução. Para uso preponderante como a irrigação, a Resolução assume os parâmetros microbiológicos de: *E. coli*, *Enterococcus* e Coliformes termotolerantes, porém não é explicitado o VMP.

No entanto, no Anexo II é apresentado um exemplo de estabelecimento de padrões por classe para parâmetros selecionados de acordo com o art. 12, considerando o uso concomitante para consumo humano, dessedentação, irrigação e recreação. Os parâmetros mínimos obrigatórios microbiológicos citados são os Coliformes Termotolerantes, que devem estar ausentes em 100 mL para Classes 1, 2 e 3. Por outro lado, para águas de Classe 4 aceita-se até 4.000 Coliformes Termotolerantes em 100 mL. As águas subterrâneas de Classe 4 devem atender aos Valores Máximos Permitidos menos Restritivos (VMPr) entre os usos preponderantes, para cada um dos parâmetros, exceto quando for condição natural da água, conforme sua inclusão no Artigo 10 da Resolução (BRASIL, 2008).

3.5 Uso e qualidade da água para irrigação da horticultura

Uma numerosa variedade de produtos são produzidos no estado do Paraná, dentre eles, a produção de olerícolas está disseminada por muitas das regiões do Estado, concentrando-se no geral, em torno das grandes cidades formando os “cinturões verdes” (SEAB, 2013).

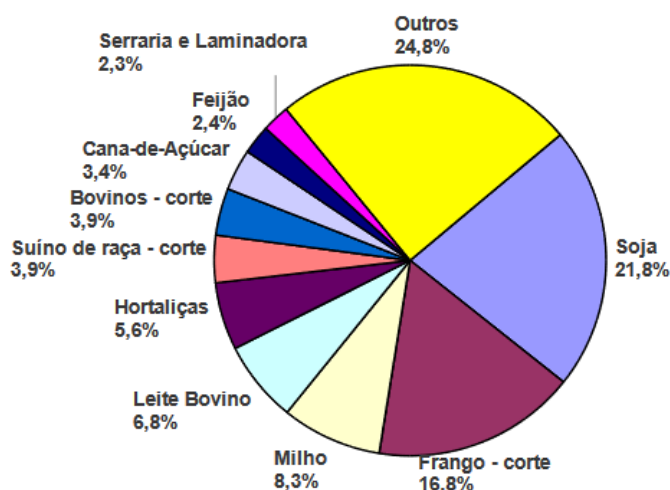
No Estado do Paraná, a olericultura ocorre em aproximadamente 13% das 300 mil propriedades familiares, totalizando 212 municípios que produzem em escala comercial. O Instituto Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural (Emater) informa que cada produtor cultiva em média, 4 ou 5 culturas na sua propriedade, dentre elas, a alface, berinjela, beterraba, couve-flor e repolho (SEAB, 2013).

Em 2016 o Paraná produziu 3,06 milhões de toneladas de diferentes itens da olericultura no qual, a região Norte foi o segundo polo produtor do Estado com uma produção de 743,2 mil toneladas do volume produzido obtendo a contribuição de

133,8 mil toneladas de vegetal folhoso como a alface conforme a Secretaria da Agricultura e Abastecimento (SEAB, 2017).

A participação da produção de hortaliças e de outros produtos que representam os principais segmentos rurais no Paraná e, seus respectivos percentuais de Valor Bruto da Produção são indicados na Figura 4.

Figura 4 – Participação dos Principais Segmentos Rurais - VBP 2016



Fonte: SEAB/DERAL, 2017.

Segundo a SEAB, Apucarana destacou-se como o segundo núcleo de maior produção de hortaliças (12%) do total produzido entre os Núcleos Regionais do Paraná na safra de 2012/2013 (SEAB, 2015). Recentemente, em 2016, pontuou um índice de 7% dentre os 68% do total da produção concentrada entre Núcleos de Curitiba, Guarapuava, Ponta Grossa e Londrina (SEAB, 2017). À vista disso, a região norte do Estado do Paraná tem mostrado uma participação importante nesse seguimento.

Segundo o Plano Rural Sustentável Municipal de Apucarana, 73 estabelecimentos exercem as atividades econômicas de horticultura e floricultura na cidade. Muitos dos produtores que praticam a agricultura familiar contam com o apoio na qualificação e elaboração de projetos de crédito para custeio e investimento, principalmente na linha do PRONAF (Programa Nacional de Fortalecimento na Agricultura Familiar). O projeto também dá apoio ao associativismo bem como a organização dos agricultores. Na linha de ação agrícola, como a olericultura, o Plano busca à organização do produtor e da produção, visando ao abastecimento local;

motivação e fomentação do cultivo em ambiente protegido; conscientização e incentivo do cultivo de produtos orgânicos; incentivo do cultivo em estufa; redução do uso de agrotóxicos, por meio do controle biológico natural de pragas e doenças; ampliação da aquisição de produtos para a merenda escolar e por fim, a criação de oportunidades de negócios com feiras nos núcleos habitacionais (APUCARANA, 2017).

Como a irrigação consiste em uma técnica fundamental para viabilização da produção de hortaliças, a água destinada para esta finalidade precisa apresentar características adequadas para o cultivo, o que garantam um produto de maior confiabilidade do ponto de vista higiênico-sanitário. Conseqüentemente, o monitoramento da qualidade da água dos mananciais permite obter informações sobre as alterações ocorridas no sistema, permitindo adotar medidas preventivas ou a revisão das ações anteriormente adotadas (BRASIL, 2005; SOUZA et al., 2014).

Dantas et al. (2014) asseguram que a irrigação é a maior consumidora de água em nível mundial. Sendo utilizadas as fontes como rios, lagos e aquíferos subterrâneos. No entanto, a irrigação permite que a produção agrícola seja ampliada, o que gera maior lucratividade para o produtor, como ainda possibilita colheitas em períodos de estiagem (MIERZWA; HESPANHOL, 2005).

Cardoso et al. (1998) fazem um alerta para que o manejo adequado da água na agricultura seja visto como parte integrante do processo da produção. Para isso, a prática da irrigação tem objetivo de atender as necessidades hídricas das culturas no momento apropriado.

O consumo de produtos frescos, a exemplo das hortaliças, tem aumentado entre a população por conta da mudança para hábitos alimentares considerados saudáveis (ALLYDICE-FRANCIS; BROWN, 2012). As frutas e vegetais são alimentos que fazem parte da dieta e, comprovadamente, trazem benefícios à saúde do ser humano na prevenção de doenças crônicas, devido aos níveis elevados de micronutrientes e fibras (ALLENDE et al., 2006; ABADIAS et al., 2008). Por meio da alimentação, adquirimos os nutrientes necessários para manter o equilíbrio fisiológico do nosso organismo (OLIVEIRA, 2009).

No entanto, doenças causadas por agentes patogênicos transmitidos por alimentos (DTAs) ocorrem frequentemente de tal maneira, que a inocuidade dos alimentos destinados para o consumidor assumiu uma ampla pertinência em saúde pública (OLIVEIRA, 2009). Nesse contexto, a bactéria *E. coli* frequentemente é

associada à irrigação das culturas com água contaminada (SANTOS et al., 2010; TRUCHADO et al., 2016).

Nessa última década, alimentos como os vegetais folhosos têm sido frequentemente ligados a surtos de gastroenterite causados por cepas enterovirulentas de *E. coli*, fato esse que resultou em milhares de hospitalizações e perdas de milhões de dólares na horticultura (MANDRELL, 2009; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2009; BARAK; SCHROEDER, 2012).

Matos et al. (2013) ao analisarem a qualidade microbiológica da água de dois córregos empregados na irrigação de hortaliças, observaram altos níveis de crescimento de colônias de coliformes termotolerantes nas amostras, sendo encontrado inclusive *E. coli* patogênica.

Vale ressaltar a importância de se obter padrões de qualidade dos produtos frescos consumidos crus, uma vez que, a maioria dos surtos ocorridos pela ingestão desses alimentos estão ligados diretamente com a água de irrigação, reconhecida como um dos principais fatores de risco para a contaminação por microrganismos patogênicos durante a produção primária (EFSA, 2014). Acerca desse aspecto, van Dyk et al. (2016) reforçam que conhecer a qualidade da água é de essencial importância para a produtividade e para o controle da disseminação de doenças microbianas em áreas de produção.

Dessa forma, o controle da contaminação microbiológica da água de irrigação de alimentos que são ingeridos crus e que se desenvolvem acima do solo deve ser rigoroso (SILVA et al., 2011) e compatível com o preconizado pelas Resoluções CONAMA 357/2005 e CONAMA Nº 396 de 2008.

3.6 Indicadores Microbiológicos de Contaminação na Água

As bactérias coliformes são um grupo de microrganismos que incluem as espécies fecais e ambientais colonizam o intestino do homem e de outros animais de sangue quente, podem ser encontrados no solo, vegetação, nas águas naturais e residuais domésticas, (BETTEGA et al., 2006; ZULPO et al., 2006; FENG; JINNEMAN, 2011; SILVA et al., 2017).

Com exceção de *Citrobacter*, outros gêneros da Família *Enterobacteriaceae* como *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Serratia*, formam o subgrupo dos coliformes totais denominados de coliformes fecais/termotolerantes (SILVA, et al.,

2017; SILVA JÚNIOR, 2012). Estas bactérias apresentam-se como bacilos Gram negativos, anaeróbios facultativos, não esporulados, capazes de fermentar a lactose com produção de gás em 24 horas em temperatura de 44,5-45,5 °C como ainda, podem apresentar a enzima β -galactosidase (FORSYTHE, 2002; BRASIL, 2005; McEGAN et al., 2013; SILVA et al., 2017).

Somente *E. coli* satisfaz a condição de indicador de contaminação fecal, tanto que, diferente das outras, coloniza o intestino de humanos em elevada concentração, nesse sentido, a proteção da saúde pública requeria um indicador de poluição fecal e, para isso, *E. coli* foi preconizada como um indicador biológico da segurança do tratamento da água (EDBERG et al., 2000; APHA, 2012; SILVA et al., 2017).

Murray et al. (2006) explicam que microrganismos diversificados habitam o corpo humano. Eles formam a microbiota normal do corpo, todavia não trazem risco a indivíduos saudáveis devido a sua baixa virulência. Uma das funções mais importantes da microbiota consiste na ocupação de espaços protegendo contra a colonização por microrganismos potencialmente patogênicos, principalmente os anaeróbios. Nesse contexto, a presença de *E. coli* não patogênica origina benefícios relacionados à nutrição no trato intestinal principalmente como a síntese de vitamina K e do complexo B, bem como, evita a instalação de microrganismos potencialmente patogênicos (VOGT; DIPPOLD, 2005; INGERSON-MAHAD; HEID, 2011; RODRIGUES, 2011; MADIGAN et al., 2016).

No entanto, nos casos em que *E. coli* atinge outros sítios anatômicos, podem ocorrer enfermidades como patologias intestinais e extraintestinais, infecções urinárias, bacteremia, pneumonia e meningite (SLAVCHEV; PISAREVA; MARKOVA, 2009; PESSOA, 2011; APDA, 2012; HU, 2013). Quando fora do ambiente normal de colonização, são denominadas *E. coli* patogênica extraintestinais (GAZAL, 2014).

A bactéria *E. coli* é um excelente instrumento para aferir o grau de contaminação por dejetos consequentemente, considera-se que a presença de *E. coli* em amostras ambientais, em alimentos ou água geralmente indicam contaminação fecal recente por fezes humanas ou de animais homeotérmicos (EDBERG, 2000; FENG et al., 2002; GEORGE; GARRITY, 2005; BATISTA; FUCKS, 2012; ODKOR; AMPOFO, 2013; UYTENDAELE et al., 2015; CEUPPENS et al., 2015).

3.7 Cepas Patogênicas e Resistentes a antimicrobianos em Água

A contaminação por patógenos é um problema que atinge muitos corpos d'água e a incidência elevada de bactérias do grupo coliformes em amostras de água pode mostrar a existência de contaminação por microrganismos patogênicos que podem causar doenças (BRASIL, 2014).

Fayer, Morgan e Upton (2000) comentam sobre o risco de contaminação da água no meio rural devido aos recursos se arranjam próximos a fontes com contaminantes potenciais como, pastagens com animais e acúmulo de resíduos orgânicos no solo, que acabam sendo conduzidos até as fontes de água em decorrência da chuva (MAROUELLI et al., 2014).

A esse respeito, Jenkins et al. (2011), relataram que o índice de sobrevivência de cepas patogênicas como *E. coli* O157: H7 é significativamente maior do que da *E. coli* nativa em águas superficiais. Outros achados como de Avery et al. (2008) onde células de *E. coli* O157: H7 foram detectadas em 45% das amostras de água de lago, poça, rio e bebedouros de animais mesmo após dois meses de armazenamento das amostras, exibindo maior persistência em águas lacustres com baixo nível de nutrientes e em águas contaminadas com alto teor fecal. Wang e Doyle (1998) também descreveram que *E. coli* O157:H7 sobreviveu em água estéril do reservatório e duas águas lacustres mantidas a 10 °C durante três meses.

Bactérias fecais detectadas em água podem ser um indicativo da presença de outros microrganismos patogênicos entéricos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2006).

A indução da resistência bacteriana é apontada como consequência do uso indiscriminado de medicamentos indicados no tratamento de doenças infecciosas causadas por bactérias como os antibióticos (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017). No entanto, o sequenciamento do genoma revelou que um grande número de genes de resistência está presente em todas as células bacterianas sejam patogênicas ou do ambiente, as quais podem demonstrar capacidades inatas ou especializadas na defesa contra agentes tóxicos (POOLE, 2001; PIDDOCK, 2006; FAJARDO; MARTÍNEZ, 2008; COSTA, 2016).

De acordo com Casadevall (1996) Países em todos os níveis de desenvolvimento enfrentam problemas de saúde pública no que diz respeito da resistência antimicrobiana, pelo fato da crescente utilização de antibióticos na

medicina humana e veterinária, nutrição de animais e agricultura (MATHUR; SINGH, 2005), com isso, Baquero, Martínez e Cantón (2008) lembram que a resistência a antibióticos em diferentes ambientes aquáticos tem sido constatada.

Rizzo et al. (2013) explicam que as bactérias resistentes a antibióticos e resíduos de antibióticos não absorvidos, são excretados na urina e fezes e, finalmente, chegam até as instalações de recuperação de águas residuárias.

Os fármacos têm propriedades medicinais e quando utilizados são parcialmente metabolizados pelo corpo e posteriormente excretado através da urina e fezes (HEBERER, 2002; IKEHATA et al., 2006). As substâncias componentes dos fármacos tem sido encontradas em concentrações consideráveis nos ecossistemas naturais em consequência dos resíduos domésticos que mesmo após o tratamento destes dejetos, os componentes dos fármacos não são eliminados por completo (STUMPF et al., 1999; TERNES et al., 1999). Esses poluentes emergentes podem ser evidenciados mesmo em baixas concentrações e podem comprometer o meio ambiente (TEIXEIRA; PONTE VIDA, 2013).

Segundo Van den Bogaard e Stobberingh (2000) a resistência promovida pelo uso de antibióticos pode selecionar tanto bactérias patogênicas quanto as comensais, que pertencem à flora intestinal normal. As infecções humanas são frequentemente tratadas por meio de antibióticos e, da mesma maneira, esses fármacos são utilizados na criação de gado, aves, peixes e suínos como forma de promover o crescimento e prevenir doenças (INGERSLEV et al. 2001; MARTINEZ, 2009).

Snow et al. (2009) informam sobre a existência de contaminantes emergentes em ambientes de agricultura, a exemplo dos produtos farmacêuticos, como hormônios, antibióticos veterinários, genes resistentes aos antibióticos decorrente muitas vezes do intensivo uso de antibióticos nas criações animais (MARTI; VARIATZA; BALCAZAR, 2014). Regitano e Leal (2010) afirmam que vestígios de moléculas não metabolizadas no organismo animal, têm sido detectados em amostras de solo, água superficial e subterrânea.

Uma implicação causada por antibióticos em ambiente aquático pode ser exemplificada quando ocorrem modificações no material genético entre as populações microbianas que normalmente acontece em transferência gênica vertical (entre a mesma espécie) ou horizontal (entre espécies ou gêneros diferentes) desenvolvendo fenótipos resistentes caso os efeitos não se mostrarem deletérios à célula receptora.

Nesse momento, se expostas a presença de traços de antibióticos isso pode induzir o desenvolvimento de resistência a fármacos (THOMAS; NIELSEN, 2005; FAJARDO; MARTÍNEZ, 2008; BAUMAN, 2009; MARTÍNEZ, COQUE; BAQUERO, 2015).

As transferências gênicas podem decorrer em um importante mecanismo de resistência a antibióticos que incluem as enzimas de espectro estendido ou ESBLs (*Extended Spectrum Beta-Lactamases*) que agem na ruptura do anel beta-lactâmico de fármacos tornando-os incapazes de agir. Os genes em plasmídios codificam as enzimas ESBLs e podem ser transferidos entre microrganismos durante a conjugação, transdução, transformação e transposição (WILLIAMS, 1999; FROST et al., 2005; THOMAS; NIELSEN, 2005).

Atribui-se a *E. coli* o papel de indicador útil para estimar níveis de resistência antimicrobiana esperado em bactérias patogênicas. As bactérias da flora natural podem servir como fonte de genes de resistência que podem ser facilmente transferidos para agentes patogênicos. Com isso, os microrganismos são capazes de adquirir informações genéticas referentes à resistência à drogas, às condições ambientais, à síntese de enzimas, à produção de toxinas (VAN DEN BOGAARD; STOBBERINGH, 2000; SÁENZ et al., 2001).

3.8 Parâmetros Físicos e Químicos Relacionados a Qualidade da Água

3.8.1 Potencial Hidrogeniônico - pH

Valores de potencial hidrogeniônico indicam a relação entre íons hidrogênio (H^+) e hidroxilas (OH^-) presentes em uma solução (SUU et al., 2015). Altas concentrações de íons H^+ elevam a acidez da água enquanto o oposto, promove elevação dos íons OH^- propiciando a alcalinidade da água, ou seja, a água torna-se básica. Valores de pH podem variar naturalmente diante da dissolução de rochas, absorção de gases atmosféricos, oxidação da matéria orgânica e fotossíntese, e também a fatores antropogênicos como despejo de esgotos domésticos (VON SPERLING, 2005).

Normalmente, a água de irrigação apresenta valores de pH entre 6,5 e 8,4. Águas com pH acima de 8,4 podem provocar encrustamento nos sistemas de irrigação, devido à precipitação do carbonato de cálcio ($CaCO_3$) (ELOI et al., 2014).

Por outro lado, águas com valores de pH baixos podem corroer rapidamente os componentes metálicos do sistema de irrigação por aspersão (LIBÂNIO, 2010).

3.8.2 Temperatura e oxigênio dissolvido

A temperatura é um parâmetro físico que demonstra a energia cinética das moléculas de um corpo, sendo seu gradiente o fenômeno responsável pela transferência de calor em um meio. A água pode sofrer mudanças de temperatura decorrente de fontes naturais como a radiação solar, das estações do ano ou antropogênicas (BRASIL, 2006). A temperatura determina vários processos químicos, físicos e biológicos que ocorrem em um sistema aquático, tais como o metabolismo dos organismos e a degradação da matéria orgânica. Desse modo, influencia na velocidade das reações químicas, nas atividades metabólicas dos organismos e na solubilidade de substâncias (BRASIL, 2014).

O parâmetro de oxigênio dissolvido tem papel decisivo na capacidade de um corpo d'água natural manter a vida aquática dos seres aeróbios. O fornecimento de oxigênio dissolvido é essencial para a manutenção dos processos naturais de autodepuração em sistemas aquáticos. As taxas de oxigênio dissolvido são reduzidas com as perdas para a atmosfera na troca gasosa e a respiração de organismos aquáticos, ou quando quantidades consideráveis de matéria orgânica são introduzidas nos ambientes aquáticos logo, esse parâmetro pode caracterizar os efeitos decorridos da poluição da água por despejo orgânico (VON SPERLING, 2005; VON SPERLING, 2007).

3.8.3 Turbidez

A turbidez está relacionada à presença de matéria ou partículas em suspensão na água como argila, silte, detritos orgânicos, algas e bactérias e plâncton em geral, o que pode alterar a cor da água (USEPA, 1997).

A determinação da turbidez pode ser realizada pelo método nefelométrico que baseia-se na comparação da intensidade de luz espalhada pela amostra em condições definidas, com a intensidade da luz espalhada por uma suspensão considerada padrão (SILVA JUNIOR et al., 2012). É expressa por meio de unidades

de turbidez ou ainda denominadas unidades de Jackson ou nefelométricas (USEPA, 1997; BRASIL, 2014).

Valores elevados de turbidez podem provocar o aumento da temperatura da água, uma vez que as partículas em suspensão absorverem mais calor, conseqüentemente, pode haver redução da concentração de oxigênio dissolvido. O material em suspensão diminui a transparência da água, limitando a entrada de luz disponível para os organismos fotossintetizantes (USEPA, 1997; TOMAZONI et al., 2005; FAY; SILVA, 2006).

Os usos doméstico, industrial e recreacional da água diante de altos níveis de turbidez também ficam comprometidas (ANDERSON, 2005; MURPHY, 2006). Conforme Secretaria de Vigilância em Saúde, as águas turvas são propensas a abrigar nos flocos de turbidez microrganismos patogênicos, como bactérias e protozoários, dificultando o processo de desinfecção da água (BRASIL, 2013).

Os valores de turbidez podem ser significativamente afetados pelas condições climáticas, nas quais valores elevados podem indicar processos erosivos, que por sua vez são causados por grandes volumes de precipitação (BRASIL, 2005; BRASIL, 2006).

3.8.4 Sólidos Totais

Conforme Fundação Nacional da Saúde (FUNASA) os parâmetros de turbidez e sólidos totais, ainda que estejam associados, não são equivalentes. A presença de maior quantidade de sólidos na água, incidirá em maior turbidez, portanto menor transparência (BRASIL, 2014).

Os sólidos correspondem a toda matéria presente em uma amostra que permanece como resíduo após a evaporação, secagem ou calcinação por tempo determinado, possibilitando obter diferentes frações de sólidos presentes na água após a finalização de cada uma das etapas mencionadas.

Os sólidos podem estar relacionados a características químicas ou biológicas. As fontes de sólidos totais incluem descargas industriais, esgoto, fertilizantes, escoamento rodoviário e erosão do solo. Concentrações elevadas de sólidos em suspensão podem transportar substâncias tóxicas, como pesticidas e metais pesados para o fundo de rios e lagos e lá se depositar (USEPA, 1997).

3.8.5 Nitrito e Nitrato

Fontes de nitrogênio são utilizadas no desenvolvimento microbiano, para a síntese de aminoácidos para construção de proteínas e outras substâncias orgânicas (ASSUNÇÃO, 2009).

O nitrogênio pode se apresentar basicamente de três formas: amoniacal, nitritos e nitratos. Esses compostos quando em níveis altos de concentrações podem causar danos para o meio ambiente, se despejados em receptores naturais (ABREU, 2013).

Formas reduzidas de sais de amônio e o gás amônia são oxidadas produzindo nitrito (NO_2^-) por meio de bactérias quimiossintetizantes do gênero *Nitrosomonas*, e esse posteriormente convertido a nitrato (NO_3^-) por bactérias do gênero *Nitrobacter*, durante o processo de nitrificação (COLT; ARMSTRONG, 1981; BRAGA et al., 2005; SUBBARAO et al., 2007; VAN HANDEL; KATO; VON SPERLING, 2009; RAHMAN et al., 2011; VESILIND; MORGAN, 2013).

O nitrogênio oferece indicativos do estágio da poluição decorrente de algum lançamento de efluente a montante. Logo, se a poluição for recente, predominará a forma de nitrogênio orgânico ou amônia (VON SPERLING, 2007), por outro lado, a presença de elevadas concentrações de nitrato na água pode representar cargas poluidoras ocorridas remotamente, devido essa forma ser o último estágio de decomposição aeróbia das substâncias orgânicas nitrogenadas (VESILIND; MORGAN, 2013).

Em águas subterrâneas, a forma de nitrito é encontrado em baixas concentrações devido ao fato da sua instabilidade diante do oxigênio, devido a isso, o nitrito é a forma intermediária, pois diante da condição mencionada é rapidamente convertido a nitrato (SILVA; OLIVEIRA, 2001).

O nitrato é a principal forma de nitrogênio encontrado nas águas. A inserção antropogênica desse elemento à água, decorre de despejos domésticos e industriais e fertilizantes agrícolas (VON SPERLING, 2007; MOTTIN, 2009). Os nitratos estimulam o desenvolvimento de plantas, e organismos aquáticos como as algas, causando interferência aos usos desejáveis do corpo d'água (CONAMA, 2005). Concentrações de nitratos superiores a 5 mg/L demonstram condições sanitárias inadequadas, uma vez que a principal fonte de nitrogênio na forma de nitrato são os dejetos humanos e animais.

Estudos indicam que em águas subterrâneas, o nitrato tem origem a partir do emprego inadequado de fertilizantes orgânicos como esterco animal, lodos, restos vegetais e efluentes urbanos, e uma vez lixiviado possui muita mobilidade no solo, e se deposita ao atingir águas subterrâneas (QUEIROZ, 2004; CAMPOS; ROHLFS, 2010).

O nitrato em água e alimentos, dependente da dose de exposição e da suscetibilidade individual, como idade, sexo e genética se ingeridas rotineiramente podem causar a metemoglobinemia, principalmente em bebês com menos de seis meses (CAMARGO; ALONSO, 2006; TRIVEDI; VEDIYA, 2012; USEPA, 2013, WONGSANIT et al., 2015). O nitrato convertido a nitrito no estômago durante a digestão, com isso, ocorre no sangue a oxidação dos íons Fe^{2+} da hemoglobina a Fe^{3+} transformando-a em metahemoglobina que é incapaz de transportar de O_2 no sangue acarretando um quadro de anaerobiose (LUNDBERG et al., 2008).

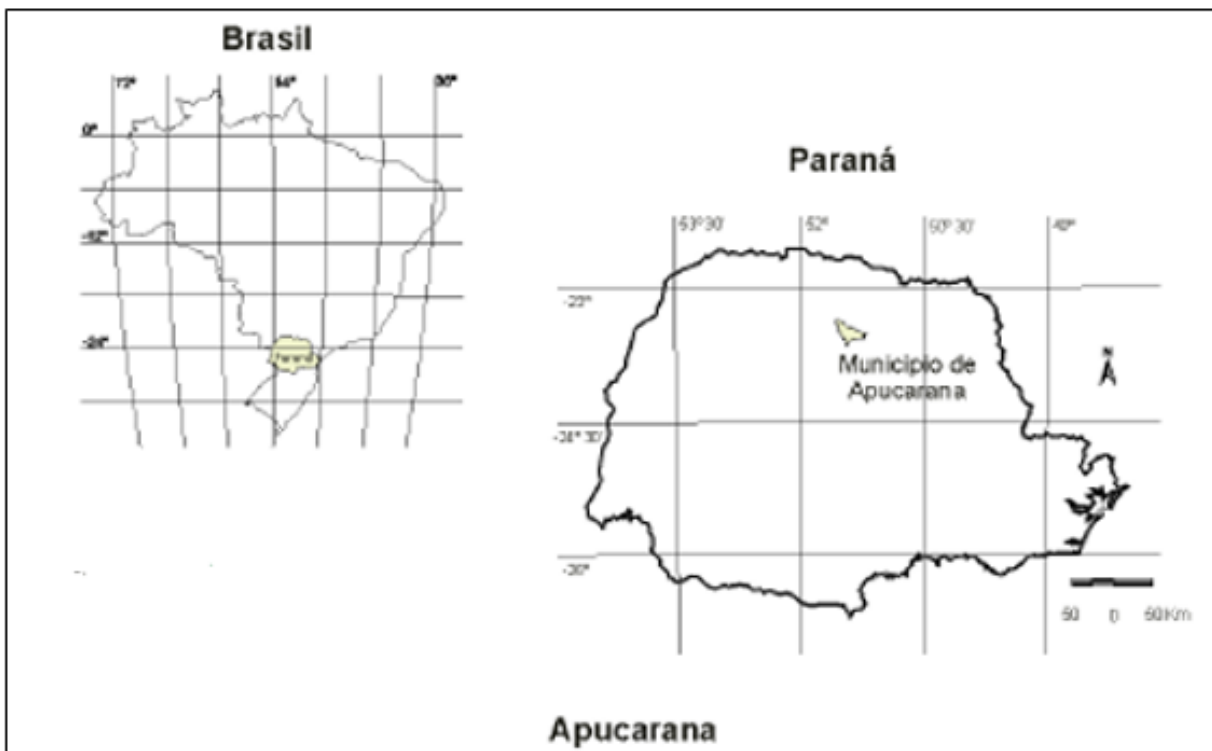
A ingestão excessiva de nitrito e nitrato são transformados em nitrosaminas e nitrosamidas, e ambas, apontam implicações como a incidência de câncer estomacal (BATALHA; PARLATORE, 1993). Devido as decorrências de danos ao homem e ambiente que o nitrito e nitrato podem acarretar tornam-se importantes a caracterização desses parâmetros em um corpo d' água para propiciar segurança a quem possa vir a consumi-la.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Área de Estudo

O município de Apucarana localiza-se na região norte do estado do Paraná, a 369 km da capital Curitiba, sob as coordenadas geográficas Latitude $23^{\circ} 33' 03''$ S e Longitude $51^{\circ} 27' 39''$ W, limitando-se ao norte com o município de Arapongas, ao sul com Rio Bom, Califórnia, Marilândia do Sul e Novo Itacolomi, a leste com Londrina e a oeste com Cambira (Figura 5). Possui uma área de 558 km^2 , com uma população estimada de 132.691 habitantes (IBGE, 2017). Apresenta uma altitude de 820 metros, predominando o clima subtropical úmido e bioma da Mata Atlântica (APUCARANA, 2016), com temperaturas médias anuais de 25°C , assinalando temperatura mínima em meses mais frios em torno de 0°C e máxima em torno de 36°C .

Figura 5 – Localização da cidade de Apucarana no estado do Paraná



Fonte: PROMOFIBRA, 2017.

A escolha dos locais de estudo ocorreu de forma aleatória e envolveu fontes hídricas de origens distintas como mananciais superficiais e subterrâneos. Após o levantamento do total de produtores, foi feito o convite de participação aos

horticultores que comercializam seus produtos na feira do produtor como também para outros horticultores intra-urbanos, não participantes da feira. A pesquisa avaliou amostras de águas de 9 propriedades produtoras de hortaliças que são consumidas *in natura*, sendo 7 de áreas rurais e 2 localizadas na região urbana de Apucarana que foram identificados como P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8 e P9.

Os produtores assinaram um termo de autorização para a liberação das coletas das amostras de água nas suas propriedades (Apêndice A), como ainda responderam a um questionário composto por 19 questões abertas e de múltipla escolha (Apêndice B) pertinentes aos usos das fontes de abastecimento como, manejo do solo, tipo de fonte de irrigação e lavagem, lavagem e acondicionamento das hortaliças, adubação, atividades exercidas no entorno e destinação da produção, entre outras questões que forneceram informações importantes ao estudo.

Dessa maneira, esta pesquisa foi submetida à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UTFPR, visando salvaguardar a dignidade, os direitos, a segurança e o bem-estar dos participantes da pesquisa, no que se refere à abordagem por meio do questionário, obtendo aprovação pelo Parecer de Nº 2.133.528 (Anexo A).

4.2 Coleta das Amostras de Água

As coletas das amostras de água ocorreram durante os meses de julho e setembro, sendo as amostras distribuídas da seguinte forma: 1 amostra em água empregada na irrigação e 1 amostra de água de lavagem de hortaliças em cada uma das propriedades em cada um dos períodos, totalizando 36 amostras ao final do estudo.

A coleta realizada no mês de julho ocorreu mediante a ausência de chuva, uma vez que nesse período foram registrados volumes baixos de chuva como esperado para a estação, desse modo, a coleta do estudo foi realizada sem incidência de chuva.

A segunda coleta foi efetivada em setembro, seguida de período chuvoso, após uma temporada de 39 dias de estiagem. Este mês manteve-se bem aquém dos volumes históricos, considerado pelo Simepar como anomalias negativas.

As amostras de água foram coletadas diretamente nos pontos de captação para irrigação e nos pontos da lavagem, ou seja, nas torneiras ou mangueiras onde ocorria a lavagem das hortaliças após a colheita.

Foram utilizados frascos de vidro de volume de 250 mL, previamente esterilizados em autoclave a 121°C por 30 minutos para a coletas da água. Para a coleta de amostra de água que recebia tratamento com cloro, foi acrescentado ao frasco de coletor 0,1 mL de solução de tiosulfato de sódio (1,8% para cada 100 mL amostrado).

As amostras de água de irrigação armazenadas em tanques ou represas foram coletadas a uma profundidade entre 15 a 30 cm da superfície para evitar os contaminantes superficiais, criando uma corrente artificial, por meio da movimentação do frasco na direção horizontal para o preenchimento dos frascos. As amostras que incidiram na captação direta em fonte lótica (rio), adotou-se a mesma profundidade, porém foi mantido o posicionamento da boca do frasco contraria a direção da corrente da água.

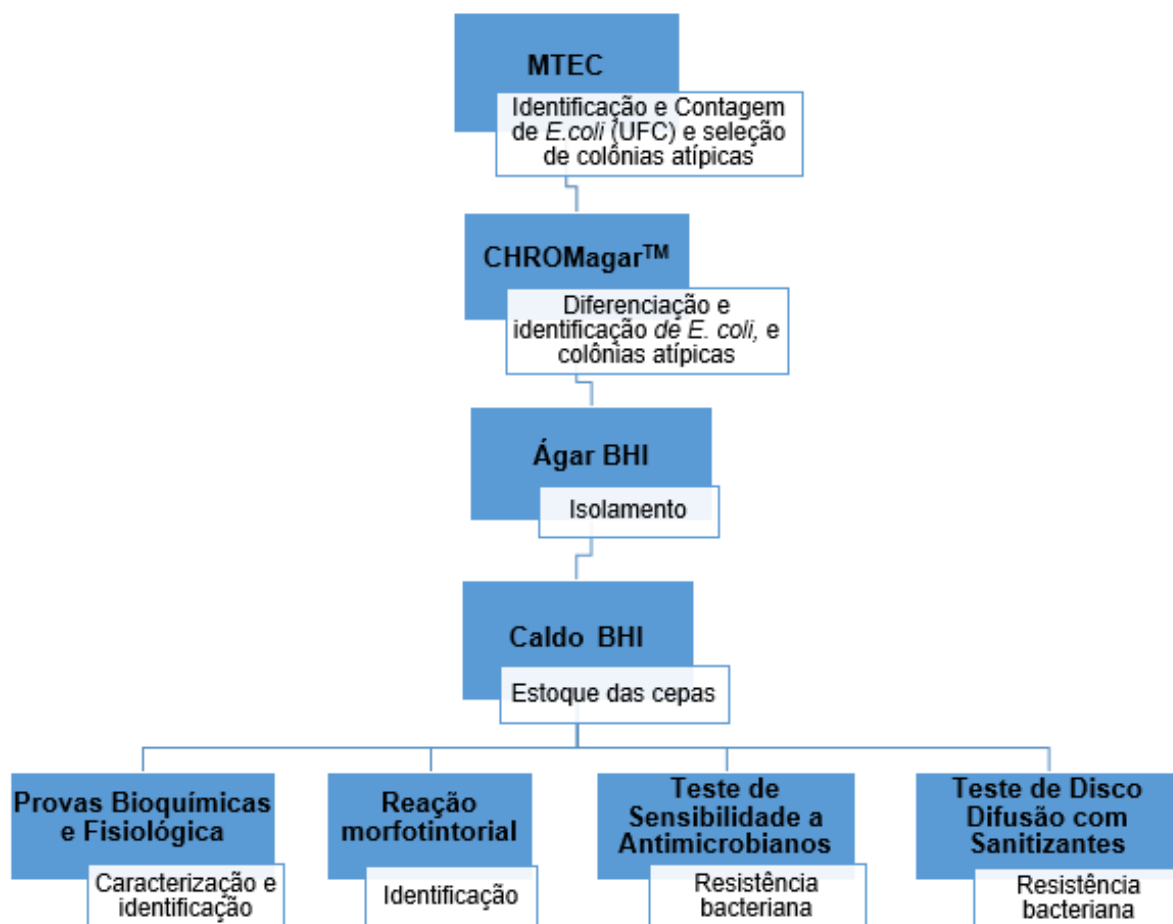
Antes de obter as amostras de água de lavagem das hortaliças em torneiras e mangueiras que conduziam água provenientes de poços e de minas ou reservatórios, foi realizada a assepsia com algodão embebido em álcool 70%, deixando a seguir a água escorrer por 5 a 10 minutos, dependendo do tipo de fonte, seguindo as recomendações propostas pelo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (2005) e USEPA (1998).

Após a coleta, os frascos foram acondicionados em caixa térmica sob refrigeração e encaminhados até o laboratório de Microbiologia da FAP - Faculdade de Apucarana, sendo analisados em um período inferior a 8 horas.

4.3 Análises Microbiológicas

A sequência dos procedimentos referente às análises microbiológicas das amostras do estudo são demonstradas a seguir na Figura 6.

Figura 6 – Diagrama sequencial das análises microbiológicas realizadas



Fonte: Autoria própria.

4.3.1 Identificação e contagem de *Escherichia coli*

As análises para isolamento e contagem de *Escherichia coli* foram realizadas pela Técnica de Membrana Filtrante (Método 1103.1), segundo metodologia descrita pela United States Environmental Protection Agency (USEPA, 2010).

Foi utilizado membrana individualizada estéril Millipore™ em meio de cultura ágar MTEC (m-TEC AGAR (7421A) (Membrane Thermotolerant *E. coli*) da Acumedia.

Todo material e sistema de filtração utilizados foram previamente esterilizados em autoclave por 30 minutos a 121°C. Após cada amostra filtrada, o recipiente do sistema de filtração foi enxaguado com 50 mL de água estéril, seguido de esterilização por radiação UV durante 5 minutos. Além disso, a cada 10 amostras sucessivamente filtradas, todo o sistema foi esterilizado em autoclave.

Os frascos contendo as amostras foram homogeneizados por 25 vezes antes dos procedimentos de filtração. Preparou-se diluições até 10^{-3} , para a obtenção de

uma densidade ótima para a contagem estimada em 20 a 80 UFC (Unidade Formadora de Colônia) por membrana, de acordo com o manual do meio de cultura ágar MTEC Acumedia.

Para o cálculo da contagem de *E. coli* em membrana foi utilizada a fórmula:

$$E. coli / 100 \text{ mL} = \frac{\text{Número de colônias de } E. coli}{\text{Volume filtrado da amostra}} \times 100$$

Após a filtração, a membrana foi retirada com auxílio de uma pinça estéril e transferida para o meio de cultura com cuidado para não ocorrer formação de bolhas. As placas foram pré-incubadas aerobicamente por 2 horas a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ para a recuperação dos organismos. Posteriormente, foram incubadas a temperatura de $44,5^\circ \pm 0,2^\circ\text{C}$, também em condição aeróbia, durante 22 ± 2 horas. O aumento da temperatura permite o crescimento de organismos termotolerantes. Para evitar o ressecamento do meio de cultura, foi depositado sob as placas almofadas de papel umedecidas com água destilada estéril.

Após a incubação prescrita, as membranas foram transferidas para um pad saturado de substrato de ureia formulado conforme o manual, consistindo em: 2 g de ureia e 10 mg de vermelho de fenol em 100 mL de água purificada sendo ajustado o pH para $5,0 \pm 0,3$.

As membranas permaneceram por um período de 15 a 20 minutos sobre os pads em temperatura ambiente em capela de fluxo laminar por 15 a 20 minutos. Em seguida, foi realizada a contagem das colônias de *E. coli* em um contador de colônias (Phoenix CP 600 Plus) respeitando a obtenção das cores características que as identificam como urease-negativas, representadas nas cores, amarela, verde amarelada a marrom amarelada, conforme a resposta esperada do cultivo do meio utilizado.

4.3.2 Testes de Confirmação de *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* e *Enterococcus faecalis*

4.3.2.1 Meio Difco CHROMagar™ Orientation

Para a sequência das análises, três colônias típicas de *E. coli* e três colônias atípicas (quando presentes) que resultaram do ágar MTEC foram selecionadas e repicadas no meio cromogênico Difco CHROMagar™ Orientation em triplicata, mais o grupo controle negativo sem a inoculação bacteriana para confirmar a esterilização do meio utilizado. As placas inoculadas foram incubadas em condições aeróbias, a uma temperatura entre $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 20 ± 4 horas.

Para não comprometer os pigmentos cromogênicos do meio de cultura, as placas foram protegidas com papel alumínio e não foram expostas a luz durante o processo de crescimento. Ao término da incubação, as placas foram examinadas de acordo com as características tintoriais indicadas pela Ficha Técnica do meio sendo: *E. coli* apresentando colônias transparentes, rosa escuro a vermelho claro, de tamanho médio a grande; *Enterobacter cloacae* com crescimento de colônias de tamanho médio, azul forte, com ou sem halos violetas; e *Enterococcus* com colônias pequenas, azul-esverdeado a azul.

4.3.2.2 Recuperação, isolamento e estocagem de *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Enterobacter cloacae*

Foram selecionados 339 isolados bacterianos a partir das culturas desenvolvidas no meio CHROMagar identificadas de acordo com a coloração característica para *E. coli*, *E. faecalis* e *E. cloacae*, foram inoculadas em tubos contendo 3 mL de caldo BHI (Brain Heart Infusion Broth - Himedia®) e incubados em estufa a uma temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas para crescimento dos microrganismos. A partir tubos de BHI com crescimento, realizou-se o isolamento pela técnica de esgotamento em placas de ágar BHI (Brain Herth Infusion - Himedia®) incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas.

Uma vez isoladas em ágar BHI, as colônias semelhantes em tamanho e morfologia passaram por testes adicionais de identificação. Realizados os testes, as colônias isoladas foram novamente inoculadas em caldo BHI e levados em estufa para se obter culturas reativadas para os procedimento de estoque.

A estocagem foi obtida a partir da retirada e transferência de 0,5 mL do caldo BHI com crescimento em 10% de glicerol em tubos de ependorf, sendo armazenados em freezer a temperatura de -20°C para estudos posteriores.

4.3.2.3 Testes bioquímicos

Três colônias isoladas de *E. coli*, *E. cloacae* e *E. faecalis* de cada amostra de água, provenientes das culturas confirmadas e isoladas em ágar BHI, foram estriadas em tubos contendo 4 mL de ágar de Citrato de Simmons, incubados a temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 18 a 48 horas com as tampas levemente frouxas.

O Inóculo foi feito em picada central no meio semissólido SIM inserindo a agulha de platina com até 2/3 do tubo para determinar a produção de indol e motilidade. Os tubos foram incubados com as tampas levemente frouxas em estufa a uma temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por até 24 horas. Após incubação, o teste fisiológico indica motilidade quando os microrganismos crescem deslocando-se da linha de inoculação, turvando o meio, e negativa quando os microrganismos ficam limitados ao local da picada sem turvar o meio.

Para a prova do indol foram adicionados 3 a 5 gotas do reativo de Kovacs pela parede interna do tubo. A positividade do teste é apresentada por um anel de cor rosa logo acima do meio da cultura, em poucos minutos.

Realizou-se testes de reação morfotintorial a partir dos isolados em ágar BHI pela técnica de coloração de Gram. Com uma alça bacteriológica flambada e resfriada, obteve-se um pequeno raspado da colônia teste que foi homogeneizado a uma gota de salina a 85% com movimentos rotatórios sobre uma lâmina limpa e desengordurada.

A lâmina foi cuidadosamente passada por sobre a chama do bico de Bunsen para promover a secagem do preparado. Após a fixação a lâmina foi depositada em cuba de coloração contendo Violeta cristal (corante) por 1 minuto. Em seguida, a lâmina foi retirada e lavada com fio de água destilada e colocada em cuba com lugol (mordente) por 1 minuto. A lâmina foi retirada do lugol para enxague com água destilada seguida de enxague com álcool absoluto (descolorante) até a retirada total do corante. Outro enxague foi realizado com água e em seguida a lamina foi mergulhada em cuba com Fuccina Fenicada (coloração de contraste) por 30 segundos, sendo lavada com filete de água. As lâminas coradas foram colocadas em estante de molas para a secagem natural, e posteriormente foi realizada a leitura em microscópio óptico na objetiva de 100x utilizando óleo de imersão.

4.3.2.4 Teste de sensibilidade a antimicrobianos (TSA) e sanitizantes comerciais

A escolha dos antibióticos testados se deu a partir da apresentação do amplo espectro de ação do fármaco e pelo uso comum no tratamento de infecções humana e animal, sendo eles, Tetraciclina 30 µg, Cloranfenicol 30 µg, Ampicilina 10 µg, Gentamicina 10 µg e Norfloxacinina 10 µg das marcas CECOM.

Dos isolados desenvolvidos em Agar BHI utilizados nos testes adicionais confirmados de cada uma das amostras analisadas (irrigação e lavagem) de cada propriedade nos dois períodos amostrais, selecionou-se três colônias de *E. coli*, *E. cloacae* e *E. faecalis* e com crescimento recente (18 a 24 horas) para determinar o perfil de resistência pelo método de difusão de discos seguindo protocolo CLSI (CLSI, 2015) e testes com sanitizantes comerciais.

Para a execução do teste, foi transferida uma porção da colônia bacteriana com auxílio de alça de platina flambada e resfriada para tubos com solução salina a 0,85% até obtenção de uma turvação compatível com um tubo aferido na escala 0,5 de Mac Farland (1×10^8 células/mL). Um swab estéril foi embebido e pressionado contra a parede do tubo para a retirada do excesso da suspensão. Realizou-se a inoculação sobre toda a superfície do Ágar Mueller Hinton (KASVI) fazendo a rotação da placa em 4 posições diferentes para que todo o meio recebesse o inóculo. Aguardou-se pelo menos 5 minutos para a secagem das placas para efetuar a inclusão dos discos de antibióticos com uso de pinça estéril, fazendo leve pressão para a sua aderência ao meio. Os antibióticos foram retirados do freezer pelo menos uma hora antes da utilização para que ocorresse o estabelecimento da igualdade térmica com o ambiente para a sua aplicação.

As placas foram incubadas a 36 °C, durante um período de 18 a 24 horas, segundo indicações do protocolo CLSI (2015). Os procedimentos foram realizados em triplicata juntamente com o grupo controle negativo.

Decorrido o período de incubação, foi analisado o padrão de crescimento ou de inibição encontrado ao redor dos discos. As zonas ou halos de inibição foram mensurados com auxílio de paquímetro e comparados com a tabela de desempenho padrão para testes de susceptibilidade a antimicrobianos (CLSI, 2015).

Do mesmo modo, procedeu-se o teste de sensibilidade dos isolados aos agentes sanitizantes disponíveis no comércio local. Foram testados três produtos de uso frequente: a água sanitária, com concentração de hipoclorito de sódio entre 2,0 a

2,5%; o vinagre de álcool (ou fermentado acético) com teor de acidez de 4% e um desinfetante para hortifrutícola, hortifruti, utensílios e água, que traz em sua composição 8,0 mg de cloro ativo, 0,1 mg de permanganato de potássio, água deionizada qsp 1 mL conforme o fabricante.

As diluições utilizadas foram preparadas com água destilada estéril, e seguiu-se as especificações recomendadas pelo fabricante quando informadas (Quadro 2).

Quadro 2 – Diluições utilizadas na análise de sensibilidade a sanitizantes

Sanitizantes	Diluição
Água sanitária ^a	8 mL/L = 1:60 = 200 ppm
Vinagre ^b	8 mL/L = 1:30
Desinfetante de alimentos ^c	20 gotas/L = 1mL/L

Fonte: Autoria própria.

Nota: *a*: recomendado por ANVISA (2004); *b*: diluição não informada pelo fabricante; *c*: recomendação do fabricante.

Foram preparadas as soluções sanitizantes de água sanitária utilizando 8 mL para 1,0 L de água obtendo uma proporção de 1:60 como recomendado pela ANVISA (2004), que recomenda uma solução de água sanitária a 200 ppm de cloro. Para o desinfetante de alimentos usou-se 20 gotas/L equivalente a 1mL para 1,0 L de água, e a solução de vinagre de álcool foi adotado 8 mL para 1,0 L de água, alcançando uma proporção de 1:30.

A metodologia adotada para o procedimento foi a utilizada por Barea de Paula (2015), a qual incluiu-se modificações. Foram utilizados discos de difusão de papel filtro com 6 mm, previamente esterilizados e impregnados com 10 µm de cada uma das soluções em seguida os discos foram aplicados sobre as placas de Mueller Hinton, previamente inoculadas com as bactérias de interesse. As placas foram incubadas seguindo os mesmos procedimentos utilizados para as análises de TSA. Para a interpretação dos resultados de sensibilidade foi considerada a formação de halos com diâmetro superior ao dos discos utilizados.

4.4 Análises físico-químicas

Os dados dos parâmetros de pH, Oxigênio Dissolvido e Temperatura foram obtidos nos locais pesquisados durante as coletas, o parâmetro de turbidez foi analisado no laboratório M105 da Universidade Tecnológica Federal do Paraná no campus de Apucarana, e os Sólidos Totais, Nitrito e Nitrato no laboratório de Química e Bioquímica da Faculdade de Apucarana.

As amostras foram analisadas dentro do prazo determinado para cada parâmetro conforme as recomendações do Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005) e USEPA (2007). Para a avaliação dos parâmetros físico-químicos foram coletados 1.000 mL de água em frascos de primeiro uso, previamente higienizados. As amostras de água foram identificadas e acondicionadas em caixa térmica com gelo.

As leituras dos parâmetros físicos e químicos foram analisados conforme Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005), de acordo com o Quadro 3.

Quadro 3 – Parâmetros e métodos utilizados

Parâmetros	Número do Métodos	Método
pH	Método 4500 B	Eletrométrico Phgmetro Digital (95 AKSO)
Temperatura		Oxímetro Portátil (Lutron, modelo DO-5519)
Oxigênio Dissolvido	4500 G	Oxímetro Portátil (Lutron, modelo DO-5519)
Sólidos Totais	2540 B	Gravimétrico
Turbidez	2130 B	Turbidímetro de Bancada Digital Microprocessado (Modelo: TB-1000)
Nitrito	4500-NO ₂ - A	Espectrofotômetro Femto 600
Nitrato	4500 NO ₃ - B	Espectrofotômetro Femto 600

Fonte: Autoria própria.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização sócio-ambiental das propriedades

Visando obter elementos para este estudo, foi aplicado um questionário com perguntas abertas e fechadas aos proprietários rurais, que inicialmente solicitava dados como o grau de escolaridade e o total de área cultivada na propriedade. Cinco produtores (55%) informaram ter concluído o ensino Fundamental, e 4 (44,5%) o ensino Médio. As áreas de cultivos das propriedades apresentam extensões que variavam entre 1.800 a 36.000 m².

Nas propriedades pesquisadas são cultivadas alface, almeirão, chicória, salsinha e cebolinha (cheiro verde), rúcula, couve, repolho, acelga, serralha. Também foram mencionados vegetais não folhosos e/ou que não são consumidos *in natura* como brócolis, couve-flor, tomate, frutas, cenoura, pepino, rabanete, beterraba, vagem, quiabo, alho, mandioca e batata doce. A variedade de produtos cultivados visa aumentar a oferta de produtos destinados ao mercado e, conseqüentemente, o produtor pode gerar mais renda.

Dos proprietários que recebem orientação técnica para o cultivo da horticultura totalizaram 77,8% enquanto 22,2% não recebem orientação técnica. Os proprietários P1, P2, P3, P4, P6, informaram que o apoio é dado por um profissional agrônomo da EMATER (Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural). A EMATER combina projetos de cunho finalísticos, direcionados ao aprimoramento dos sistemas de produção agrícolas do estado e dos agricultores familiares, buscando melhor produtividade, produtos seguros e de qualidade, possibilitando o acesso dos agricultores ao mercado, gerando maior renda ao agricultor e o abastecimento da população (SEAB, 2017). O P5 indicou a Rede Agroecológica Eco Vida como orientador no cultivo de seus produtos que recentemente recebeu o selo de produto "Orgânico", o P7 e P8 não recebem orientação no momento, e P9 tem orientação de um agrônomo particular.

No Quadro 4 são apresentados o dados levantados sobre a procedência da água utilizada na irrigação e lavagem das hortaliças de cada .

Quadro 4 – Levantamento e caracterização das fontes de água utilizadas na irrigação e lavagem das hortaliças das propriedades rurais do estudo

Produtor	Destinação	Tipo de fonte	Descrição
P1	Irrigação	mina	a água é bombeada da mina para ser represada e posteriormente usada na irrigação
	Lavagem	mina	a água é bombeada diretamente para a torneira do anque de lavagem
P2	Irrigação	riacho/mina	as águas das fontes é bombeada e armazenadas em caixas d'água e posteriormente usada pra irrigação
	Lavagem	mina	a água é bombeada diretamente para a torneira do tanque de lavagem
P3	Irrigação	rio	a água é bombeada do rio diretamente para a irrigação
	Lavagem	poço raso	a água é bombeada do poço diretamente até o tanque de lavagem
P4	Irrigação	mina	a água é bombeada da mina para ser represada e posteriormente usada na irrigação
	Lavagem	mina	a água é bombeada da mina para uma caixa d' água e posteriormente para o tanque de lavagem
P5	Irrigação/Lavagem	mina	a água é bombeada para um reservatório e posteriormente usada na irrigação e para o tanque de lavagem
P6	Irrigação	rio/poço artesiano	as águas das fontes são bombeadas para represamento tanques escavados e posteriormente para a irrigação
	Lavagem	poço artesiano	a água do poço é bombeada para o tanque de lavagem
P7	Irrigação	rio/poço artesiano	as águas das fontes são bombeadas para represamento tanques escavados e posteriormente para a irrigação
	Lavagem	poço artesiano	a água do poço é bombeada diretamente para o tanque de lavagem
P8	Irrigação	mina	a água da mina é bombeada para ser represada e posteriormente usada na irrigação
	Lavagem	poço artesiano	a água do poço é bombeada diretamente para o tanque de lavagem
P9	Irrigação	riacho	a água do riacho é bombeada para ser represada e posteriormente usada na irrigação
	Lavagem	mina	a água é bombeada para reservatórios de água e posteriormente para o tanque de lavagem

Fonte: Autoria própria.

Nas Figuras 7 e 8 são apresentadas imagens das fontes de água utilizadas para irrigação e lavagem das hortaliças.

Figura 7 – Apresentação dos tipos de fontes de água destinada a irrigação das hortaliças das propriedade rurais



Fonte: Autoria própria.

Nota: P1: mina represada; P2: água de riacho e mina em reservatório; P3: água de rio para irrigação; P4: água de mina represada; P5: água de mina em reservatório; P6 e P7: água de poço artesiano e rio em tanques escavados; P8: água de mina represada; P9: água de riacho represada.

Figura 8 – Apresentação dos tipos de fontes de água destinada a lavagem das hortaliças das propriedade rurais



Fonte: Autoria própria.

Nota: P1: mangueira de água que abastece a represa é acoplada à outra para o tanque de lavagem; P2: água da mina para o tanque de lavagem; P3: água de poço raso para a caixa de lavagem; P4: água de mina para a caixa de lavagem; P5: água de mina para o tanque de lavagem; P6 e P7: água de poço artesiano para os tanques de lavagem; P8: água de poço artesiano para a caixa de lavagem; P9: água de mina para reservatório e caixa de lavagem.

O sistema por aspersão foi o sistema mais empregado pelos produtores (67%), seguido do uso combinado entre os sistemas de aspersão e gotejamento (33%). Marouelli, Silva e Silva (2001) lembram que no Brasil, majoritariamente se faz o uso do sistema de irrigação por aspersão na irrigação de hortaliças sobretudo na agricultura familiar pois, o sistema de irrigação por aspersão pode ser instalado de acordo com a realidade de cada propriedade.

Na Figura 9 é mostrado o sistema de irrigação por aspersão, o método é adotado pela maioria dos proprietários das hortas.

Figura 9 – Exemplo de sistema Irrigação por aspersão utilizada pelos produtores de hortaliças da região de Apucarana



Fonte: A autoria própria, 2017.

Habitualmente os produtores P1, P2 e P3 realizam a irrigação diária nas culturas de hortaliças uma vez ao dia, em P6, P7 e P9 duas vezes, P5 duas a três vezes, P4 três vezes e P8 realiza a irrigação uma vez ao dia no período de inverno, e até quatro vezes no período do verão. Alguns produtores acrescentaram que diante das condições climáticas podem repetir ou não a irrigação por mais vezes.

Quanto a prática da adubação e qual o tipo de adubo utilizado os produtores P1, P2, P4, P8 e P9 afirmaram fazer a adubação orgânica e inorgânica, isto é, utilizam esterco animal (cama de frango) e calcário. Os produtores P3, P6 e P7 utilizam o adubo orgânico (cama de frango), P5 utiliza o mesmo tipo de adubação a partir da

compostagem de esterco de outros animais com cama de frango, e ainda, o esterco de aves.

Em relação ao despejo de esgoto doméstico foi questionado se existia fossa na propriedade, e qual o tipo de fossa e a quantos metros está localizada da produção. A maioria das respostas apontaram a existência de fossas comuns (fossa negra), e apenas em P2 existia fossa do tipo séptica. A distância mínima apontada entre a fossa e o local de cultivo de hortaliças foi de 20 metros em P1 e P5; 30 m em P6 e P8; 50 m em P3 e P7; 150 m em P9 e 200 m em P2 e P4.

A localização das fossas nas propriedades rurais é um fator muito importante para evitar a contaminação do lençol freático. Portanto, é aconselhável que as fossas sejam arranjadas no mínimo 30 metros de distância da captação de água para irrigação da plantação devido ao risco de contaminação do solo e a água (CULTI et al., 2013; SILVA, 2014).

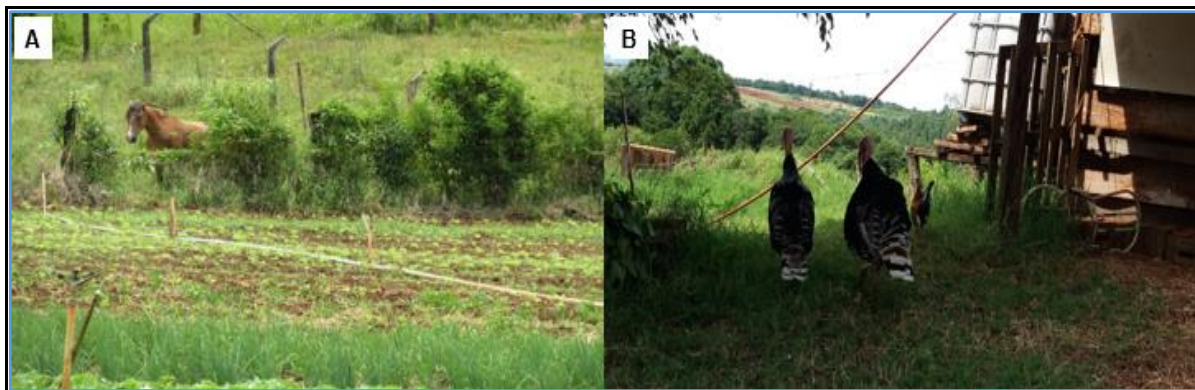
Abordados sobre a ocorrência ou não da criação de animais nas proximidades da produção, 5 produtores (P1, P4, P7, P8 e P9) afirmaram criar animais distantes de produção por 10, 20, 30, 50 e 300 metros respectivamente. Por outro lado, 4 produtores não o fazem (P2, P3, P5 e P6). Entretanto, conforme registros fotográficos, notou-se que a criação de animais realizada pelo produtor P8 ocorria a menos de 10 m da produção (Figuras 10 e 11 B). Também em P9 foi verificada a presença de animais pastejando próximos a cerca que limita a horta da propriedade vizinha (Figura 11 A).

Figura 10 – Local de criação de animais localizado de forma irregular próximo à produção de hortaliças do P8



Fonte: Autoria própria.

Figura 11 – Presença de animais próximos a cerca que divide a horta e outras propriedades



Fonte: Autoria própria.

É recomendado que todo o perímetro da horta seja bem cercado para evitar o trânsito de pessoas cachorros, vacas, porcos, galinhas ou outros animais (SETTI DE LIZ, 2006; SANTANA et al., 2006).

A criação de animais em propriedades rurais é muito comum, uma vez que essa prática oferece uma fonte de alimento para a família e até mesmo auxilia na geração de renda extra quando comercializam o excedente da produção como ovos, carne, leite, Tosetto, Cardoso e Furtado (2013) complementam que os de animais também podem ser de grande auxílio na realização de tarefas cotidianas.

Os proprietários abordados acerca da ocorrência da higienização das hortaliças após a colheita, e o uso de produtos químicos na água de lavagem dos vegetais, e qual seria o produto químico, 8 dos proprietários responderam que faziam a lavagem das hortaliças após a colheita. Apenas o P1 respondeu que fazia a lavagem em alguns dos seus produtos, já que o produtor cultiva outros vegetais e frutas como repolho, pepino, quiabo, morangos e tomate que normalmente não passam pelo processo de lavagem para diminuir o processo deterioração. Para esses casos Henz e Moretti (2005) recomendam a limpeza da superfície dos frutos com um pano úmido.

Quanto ao uso de produto químico na água de lavagem, a maioria respondeu que não faz uso de nenhum produto sanitizante na lavagem dos vegetais. Somente P5 adiciona água sanitária no tanque, porém a torneira fica aberta durante o processo de lavagem. O P3 respondeu fazer uso de cloro no tratamento da água no interior do poço, mas não era realizado a adição de qualquer outro produto de sanitização na água armazenada no tanque onde as verduras passavam por higienização.

Verificou-se que a lavagem dos vegetais ocorria em caixas ou tanques de lavar roupas sem adição de produtos desinfetantes, e em alguns locais, a água dos tanques eram utilizadas para a lavagem de toda a produção colhida no dia.

Antunes (2009) lembra que a sanitização deve ser realizada com água de boa qualidade para evitar que ocorra veiculação de contaminação, esse cuidado é pertinente diante de produtos que são ingeridos ao natural. A lavagem das hortaliças é um processo importante que ocorre logo após a colheita. Através da lavagem as sujidades visíveis podem ser removidas.

Moretti e Mattos (2008) esclarecem que as hortaliças depois da colhidas devem ser lavadas em água limpa, e para reduzir os riscos de contaminação cruzada um desinfetante deve ser utilizado durante as operações iniciais, e finalizar com enxágue com água potável, esses procedimentos auxiliam na prevenção da ocorrência e proliferação de patógenos.

Quanto aos procedimentos após a colheita e a lavagem das hortaliças, foi questionado como estas eram armazenadas após a lavagem. Todos os produtores armazenam os produtos em caixas plásticas. O P1 acrescentou que as caixas com as hortaliças ficam em um rancho (galpão), e P6 respondeu que cobre as caixas. Os produtores P2, P5, P8 e P9 acrescentaram que parte dos itens são embalados em pacotes ou bandejas em porções pré estabelecidas.

Os locais para o armazenamento das hortaliças após a lavagem deveriam ser bem higienizados, fechados e com refrigeração, essa parte do processo ajudaria na integridade do vegetal, no retardamento da proliferação de contaminação e contato com insetos. No entanto, as mudanças para adequar o armazenamento da produção até o momento do transporte podem ser onerosas para o produtor.

Referente ao meio de transporte utilizado e qual o tempo gasto no percurso até o destino final para a comercialização dos produtos. As respostas dos proprietários foram organizadas de acordo com o Quadro 5.

Quadro 5 – Meio de transporte e o tempo gasto para que os produtos cheguem ao ponto de comercialização ou entrega dos produtos

Produtor	Tipo de transporte	Tempo gasto até o destino de comercialização/entrega (minutos)
P1	Caminhonete	30
P2	Combi	10 a 15
P3	Caminhão	30
P4	Caminhonete	35
P5	Combi	20
P6	Belina	40
P7	Caminhão baú	até 90
P8	Fiorino	20
P9	*	*

Fonte: Autoria própria.

* Não faz entregas

O menor tempo apontado para o transporte está relacionado ao fato de que algumas das propriedades tem localização em áreas intra e peri-urbanas. Os demais têm suas propriedades localizadas na zona rural ou em distritos do município mais afastados. Em vista disso, vale lembrar que as condições das estradas rurais na maior parte do tempo se encontram em péssimas condições de tráfego, o que também interfere na qualidade do produto que pode sofrer avarias, e se contaminadas a internalização dos microrganismos nos tecidos vegetais podem ocorrer.

Para finalizar o questionário, foi indagado a respeito da distribuição das hortaliças para comercialização. As respostas dos produtores são apresentadas no Quadro 6.

Quadro 6 – Locais de distribuição e comercialização das hortaliças

Produtor	Feira do produtor	Escolas/ Merenda Escolar	Programa Fome Zero	Supermercado	Quitanda/ mercado/ mercearia	Comunidade do bairro	Outros
P1							
P2							
P3							
P4							
P5							

continuação do Quadro 6

P6							
P7							
P8							
P9							

Fonte: Autoria própria.

De acordo com o Quadro 6, observa-se que P8 e P9 comercializam seus produtos em estabelecimentos diferenciados dos demais, e não participam da feira do produtor, porém atendem a demanda da comunidade do bairro com a venda de hortaliças frescas na própria horta.

O P5 embora comercializa seus itens na feira e organiza vendas por intermédio da rede social WhatsApp com a montagem de cestas com diversos itens. Essa modalidade de venda foi incentivada pela Rede Ecovida a qual o produtor é um associado. Logo, os alimentos comercializados por P5 são produzidos ecologicamente e estão certificados com selo da Rede Ecovida de Agroecologia que une agricultores(as), técnicos(as), consumidores(as) e comerciantes em associações, cooperativas, ONGs e grupos informais que têm por objetivo organizar, fortalecer e consolidar a agricultura familiar ecológica em diversas regiões do país.

As fontes avaliadas no presente estudo determinaram a presença de microrganismos *E. coli* e outros coliformes como *E. cloacae* e *E. faecalis*, considerados de origem fecal. A contaminação observada pode estar vinculada ao modo de armazenamento das águas, como ainda pelas condições ambientais encontradas nos locais avaliados como o uso de adubos com material fecal animal, criação de animais e presença de fossas negras que geram contaminantes no ambiente e podem ser carregados em períodos chuvosos até os mananciais, que por sua vez contaminados, tem as águas conduzidas até a produção através da irrigação e do processo da lavagem dos vegetais.

O processo de lavagem das hortaliças realizado de forma inadequada, os meios utilizados para o armazenamento das hortaliças após a lavagem e o transporte até o momento da comercialização incluem etapas importantes e cruciais que determinam a redução ou a elevação de carga contaminante. Conseqüentemente, a qualidade da água está intimamente relacionada a qualidade sanitária dos vegetais,

em particular os consumidos crus, por essa razão considerando os locais de distribuição e comércio das hortaliças, torna-se indispensável o cumprimento da legislação vigente como forma de se obter alimentos mais seguros, e com isso contribuir na prevenção de possíveis surtos por causados por microrganismos patogênicos.

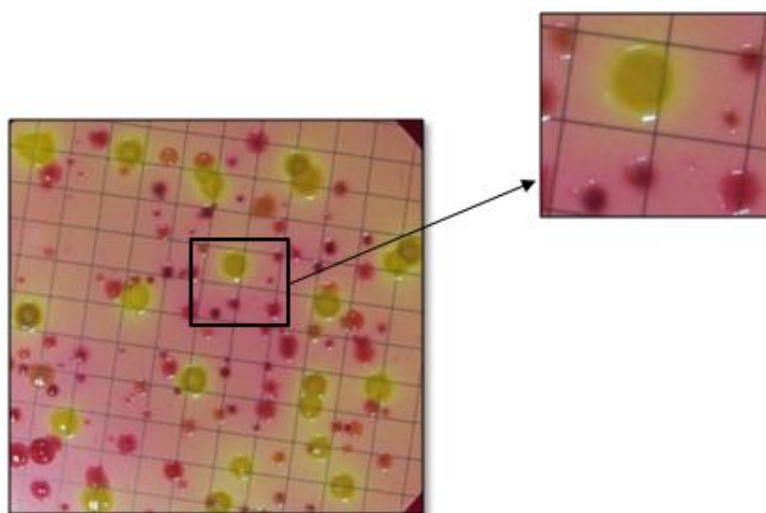
Apesar de alguns dos produtores receber assistência técnica especializada e estímulos do Município para o incremento da produção, notou-se que nem todos recebem esclarecimentos a respeito da problemática que envolve a contaminação dos produtos frescos, e que a partir disso podem ocorrer problemas de saúde pública.

5.2 Identificação, Contagem e Testes de Confirmação de *Escherichia coli*

Os resultados obtidos das análises microbiológicas e físico-químicas são apresentadas de forma sequencial como proposto na metodologia do trabalho.

Na avaliação da qualidade da água foi utilizada a técnica de membrana filtrante em meio ágar MTEC para identificação e quantificação das colônias de *E. coli* caracterizadas por apresentar colônias amarela, verde amarelada e marrom amarelada, conforme exposto na Figura 12.

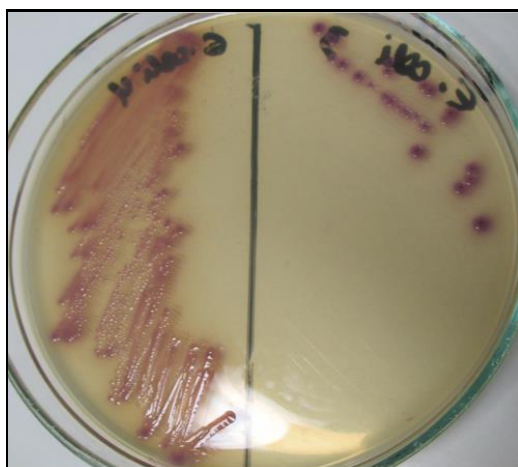
Figura 12 – Identificação e quantificação de Colônias típicas de *E. coli* em meio MTEC



Fonte: Autoria própria

Complementar ao primeiro processo de análise, realizou-se a diferenciação e identificação de *E. coli* com o uso do ágar CHROMagar Orientation, resultando em colônias do rosa claro ao pink conforme mostrado na Figura 13.

Figura 13 – Diferenciação e identificação de colônias de *E. coli* desenvolvidas no meio CHROMagar Orientation



Fonte: Autoria própria

As colônias de *E. coli* diferenciadas e identificadas no meio do CHROMagar passaram por isolamento, estoque, testes bioquímicos e coloração de Gram, em seguida os testes de sensibilidade a antimicrobianos e sanitizantes.

Os resultados da contaminação encontrada por *E. coli* durante o estudo podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1 – Contagem de bactérias *Escherichia coli* em água de irrigação e lavagem de hortaliças pela técnica de membrana filtrante

Pontos de coleta	Tipo de fonte	Destinação	1ª coleta (EST)		2ª coleta (CH)	
			<i>E. coli</i> - UFC/100mL		<i>E. coli</i> - UFC/100mL	
P1	Mina	Irr	430		1360	
	Mina	Lav	310		700	
P2	Riacho	Irr	180		680	
	Mina	Lav	90		110	
P3	Rio	Irr	730		1400	
	Poço raso	Lav	540*		370	
P4	Mina	Irr	250		410	
	Mina	Lav	160		270	
P5	Mina	Irr/Lav	120*		100	
P6	Poço artesiano/rio	Irr	900		1200	
	Poço artesiano	Lav	0		0	
P7	Poço artesiano/rio	Irr	190		270	
	Poço artesiano	Lav	0		0	
P8	Mina	Irr	630		600	
	Poço artesiano	Lav	140*		64	
P9	Riacho	Irr	190		2000	
	Mina	Lav	170*		190	

Fonte: Autoria própria.

Nota: Valor máximo permitido de coliformes termotolerantes/*E. coli* de acordo com CONAMA 357/05: 200 UFC/100 mL.; Irr: irrigação; Lav: lavagem; EST: estiagem; CH: chuvoso; * colônias atípicas.

No período da primeira amostragem em julho, a precipitação mensal apurada foi de 71 mm, volume considerado normal e esperado para a estação mais seca (CLIMATE-DATA.ORG., 2018). A coleta das amostras ocorreu sob condições climáticas estáveis, sem presença de chuva. Os resultados da avaliação da qualidade microbiológica das águas das diferentes fontes no período de estiagem, demonstraram níveis acima dos aceitáveis pela Resolução CONAMA 357/2005 que preconiza para esta finalidade até 200 UFC em 100 mL de água.

Os pontos com as maiores contagens de *E. coli* foram em P1, P3, P4, P6 e P8, e para as águas de lavagem no P1 em contagem de até 900 UFC/100 mL. Os pontos P5, P8 e P9 foram negativos para a contaminação por *E. coli* na água de lavagem durante o período de estiagem, contudo, houve a presença de indicadores de contaminação fecal como *Enterobacter cloacae*, e no P3 que faz uso de água de poço raso obteve-se ainda a presença de *E. faecalis* (540 UFC/100 mL) acima dos limites permitidos. De acordo com a Resolução CONAMA 396/2008 os coliformes termotolerantes devem estar ausentes em águas subterrâneas das Classes 1, 2 e 3.

A segunda coleta de amostras de água aconteceu no mês de setembro que mostrou-se atípico, com a redução drástica das chuvas incidindo um longo período de estiagem que permaneceu desde o mês anterior. Após precisamente 39 dias de estiagem, houve a ocorrência de chuva encerrando o mês com um índice de pluviosidade de 98 mm (CLIMATE-DATA.ORG., 2018), logo após as chuvas foi realizada a coleta da segunda amostragem das águas.

Nesse período foram obtidos os índices mais altos de contaminação quando comparados ao período de estiagem (Tabela 1). Após o período chuvoso os pontos críticos que apresentaram contagens mais elevadas de *E. coli* foram verificados respectivamente em P9, P3, P1, P6, P2, P8, P4 e P7, e para as águas de lavagem em P1, P3 e P4, assinalando a inconformidade com as resoluções CONAMA 357/2005 e 396/2008.

Um dos fatores que pode justificar os níveis de contaminação é a presença de fossa do tipo comum ou “negra” nas propriedades. Dentre as 9 propriedades do estudo, 8 têm fossas comuns, e destas, P1 e P5 possuem as fossas distanciadas a menos de 30 metros da produção e fontes de água.

Apesar das outras propriedades apresentarem as fossas localizadas em distância apropriada em relação a produção mas não distantes das fontes de água. Geralmente as fossas estão localizadas próximas as residências que estão

construídas em declividade ascendente, isto é, localizadas no ponto mais alto do terreno da propriedade em relação aos locais de produção e dos mananciais utilizados. Quanto a isso, Moura et al. (2009) mencionam sobre a importância que o desnível do terreno e às propriedades do solo exercem na ocorrência de contaminação da água de fontes rasas por fossas alocadas inadequadamente, e conseqüentemente, podem atingir e comprometer o lençol freático, uma vez que pode haver conexão entre as fontes (ANA, 2007; CULTI, 2013).

Aliado aos contaminantes das fossas, vale lembrar que os proprietários utilizam adubos orgânicos com esterco animal e cama de frango, praticam a criação de animais nas proximidades da área de produção, possuem animais de estimação com livre acesso a todos os pontos da propriedade como ainda a incidência de animais das propriedades vizinhas podem ser considerados prováveis contribuintes para as condições observadas de contaminação das fontes de água do presente estudo, especialmente durante o segundo período amostral da pesquisa quando incidiram as precipitações. Tal inferência é corroborada por e Fonseca et al. (2011) que confirmam que o escoamento superficial tem o potencial transportador da contaminação por *E. coli* até os sistemas aquáticos.

Notou-se que a localização dos sistemas de captação de água dos pontos de coleta (P1, P3, P4, P8 e P9) também favorecem a dessedentação de animais silvestres pelo fato das nascentes, rios ou represas estarem arrançadas nas adjacências de fragmentos florestais. Os mananciais ficam ainda acessíveis aos animais de criação, possibilitando a contaminação do seu entorno com fezes que conseqüentemente chegam até as águas. Essa hipótese tem respaldo com base no encontro da contaminação por microrganismos indicadores de origem fecal.

A avaliação da qualidade da água utilizada na irrigação e lavagem de hortaliças contemplada nesta pesquisa apontou 88,7% dos pontos amostrais oriundos de mina, riachos, rios e poço comum que apresentaram índices de *E. coli* superiores aos permitidos pela legislação vigente (CONAMA 357/2005) em ambos os períodos estudados, logo, essas águas são consideradas impróprias para o cultivo de vegetais folhosos e que não necessitam de cocção para sua ingestão.

Semelhante a esses resultados, Souza, Pio e Santana (2012) ao utilizar a mesma técnica desta pesquisa, avaliaram as águas de três fontes hídricas: poço, cacimba e igarapé utilizadas na irrigação e obtiveram 89,3% das amostras impróprias para uso na cultura de hortaliças, devido a contaminação por coliformes

termotolerantes como *E. coli*, e ausência em águas de alguns poços do estudo, mostrando proximidade aos resultados aqui encontrados com 88,9% das amostras de água de irrigação impróprias durante o período chuvoso.

Bender et al. (2016) ao avaliar a qualidade microbiológica de fontes de água utilizada para a irrigação de hortaliças verificaram que 50% das amostras das nascentes, poços superficiais e açudes estavam contaminadas por coliformes termotolerantes acima dos valores permitidos, todavia, os poços artesianos estavam livres de contaminação. Os resultados dos autores são semelhantes aos encontrados no presente estudo que verificou 66,7% das fontes de águas superficiais como minas represadas registradas como impróprias, e as subterrâneas profundas, negativas para *E. coli*.

A bactéria *E. coli* está presente nas fezes do homem e de animais de sangue quente, e de acordo com Wang, Zhao e Doyle (1996), foi evidenciado em estudos que cepas de *E. coli* O157: H7 mostraram-se capazes de sobreviver em fezes de gado por até 70 dias, outros estudos também mencionam a capacidade de sobrevivência prolongada de coliformes termotolerantes em solo e água (ISLAM et al., 2004; STEELE; ODUMERU, 2004, HOLVOET et al., 2013).

Scholten, Lopes e Amaral (2012) ao verificar a dinâmica da população de indicadores bacterianos como *Escherichia coli* e enterococos na água do Córrego Rico de Jaboticabal (SP), associaram os valores encontrados a ocorrência de contaminação recente, decorrida da entrada e escoamento de material fecal existente no solo das propriedades que foram carregadas para o leito do rio por meio da precipitação pluviométrica.

Nesse contexto, Jemec Parker (2017), observaram que as concentrações de bactérias indicadoras de contaminação fecal aumentaram rapidamente durante a precipitação. A mesma ocorrência pode ser notada nas avaliações durante período chuvoso do presente estudo, quando a qualidade das águas das fontes utilizadas para a horticultura apresentaram o acréscimo da contaminação de microrganismos. A condição exposta é confirmada por Amaral et al. (2003) e DELPLA et al. (2011), que explicam que as águas naturais podem perder a qualidade em períodos chuvosos.

A *E. coli* constitui um importante microrganismo inserido na cadeia alimentar em decorrência da irrigação com água fora dos padrões de qualidade recomendados (FONSECA et al., 2011; NDIAYE et al., 2011; ROSAS et al., 2012). Esse fato é preocupante uma vez que o consumo de hortaliças ingeridas cruas podem causar

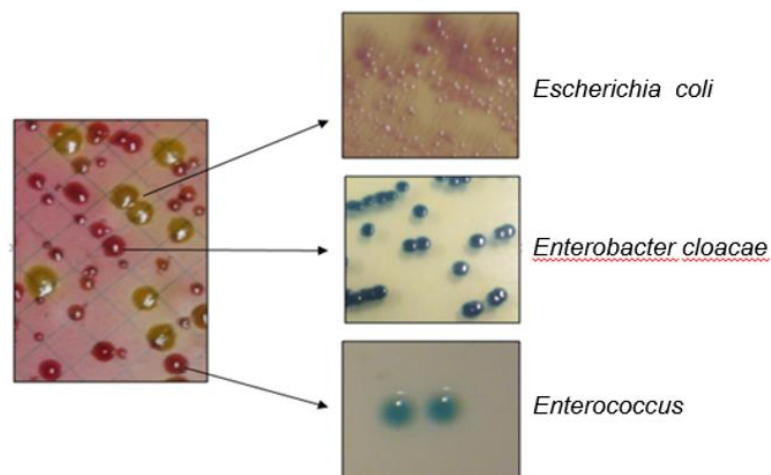
surtos alimentares na população. Ao analisar amostras de água subterrânea, Silva e Araujo (2003) observaram que o crescimento de coliformes termotolerantes estava associado a poços rasos com profundidade de até 10 metros o que corrobora com a contaminação da água de lavagem do P3.

As águas das fontes usadas na irrigação das hortaliças demonstraram maior contaminação quando comparadas as águas de lavagem nesse estudo. Esse fato pode estar relacionado ao tipo de fonte e modo de armazenamento da água. Alguns dos locais represam a água para posterior uso na irrigação, ficando esses pontos mais expostos a contaminação do entorno. O armazenamento também ocorria em reservatórios que podem acumular maior quantidade de matéria orgânica propiciando maior proliferação dos microrganismos, lembrando que esses reservatórios não passam por limpeza periódica. A lavagem das hortaliças por sua vez, era realizada com bombeamento da água das fontes diretamente para as torneiras.

5.3 Identificação e Testes de Confirmação das Bactérias Atípicas

Colônias atípicas derivadas do crescimento em membrana filtrante das amostras de água (Irr/Lav), foram repicadas em meio Ágar CHROMagar em triplicatas com finalidade de diferenciar e identificar gêneros bacterianos de interesse. As características de diferenciação e identificação das bactérias atípicas resultantes dos procedimentos das análises microbiológicas foram indicadas na Figura 14.

Figura 14 – Colônias de *E. coli* e colônias atípicas no meio MTEC estriadas em meio cromogênico CHROMagar™ *Orientation* para diferenciação e identificação das cepas *E. cloacae* e *Enterococcus faecalis*



Fonte: Autoria própria.

A partir do crescimento no meio CHROMagar, foram selecionadas três colônias de *E. cloacae* e três de *E. faecalis*, identificadas segundo as características tintoriais indicadas pela ficha técnica do produto Difco CHROMagar™ Orientation (2011). Posteriormente, realizou-se os mesmos procedimentos realizados com *E. coli*.

E. cloacae se apresenta na forma de bacilo Gram negativo, oxidase negativo e catalase positivo. Estão distribuídos na natureza, em água doce, solo, esgoto, plantas, vegetais, isoladas em fezes de animais e de humanos. Várias espécies, mais notavelmente *E. cloacae*, que por ocasião da baixa imunidade podem causar infecções oportunistas no trato urinário, em feridas cirúrgicas e eventualmente septicemias e meningites meningite (HOLT et al., 1994; TOLEDO, 2002).

Os enterococos são bactérias em forma de cocos, são micro-organismos resistentes e versáteis, gram-positivos, anaeróbios facultativos, formam cadeias e são capazes de crescer em temperaturas entre 5 - 45 °C e sobreviver em temperaturas superiores a 65°C (FISHER; PHILLIPS, 2009; ARIAS et al., 2012).

Fazem parte da microbiota normal do ser humano, sobretudo do trato gastrointestinal, com habilidade para sobreviver e se desenvolver em vários ambientes, sobretudo no solo e em ambientes aquáticos (PARADELLA; KOGA-ITO; JORGE, 2007; BYAPPANAHALLI et al., 2012).

De acordo com ANVISA (2004), *Enterococcus faecalis* é um dos microrganismos de importância médica, sendo identificados na maioria dos casos infecciosos (CATTOIR; LECLERCQ, 2013). Cerca de 85 a 90% dos enterococos isolados são *E. faecalis*, com isso, comumente causam infecção hospitalar a exemplo das infecções do trato urinário, uma vez que apresentam resistência natural e relacionados à multirresistência a antimicrobianos (TAVARES, 2000; ANVISA, 2004; (ARIAS et al, 2012; GÓMEZ-GIL et al., 2009).

O encontro de bactérias como *E. coli*, *E. cloacae* e *E. faecalis* podem confirmar a contaminação por dejetos humanos e ou de animais nas fontes de água do presente estudo.

5.4 Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA) por por *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* e *Enterococcus faecalis*

A seguir são demonstrados os resultados obtidos referentes ao grau de sensibilidade de isolados de *E. coli*, *E. cloacae* e *E. faecalis* presentes nas amostras de água de irrigação e lavagem obtidas nos dois períodos do estudo.

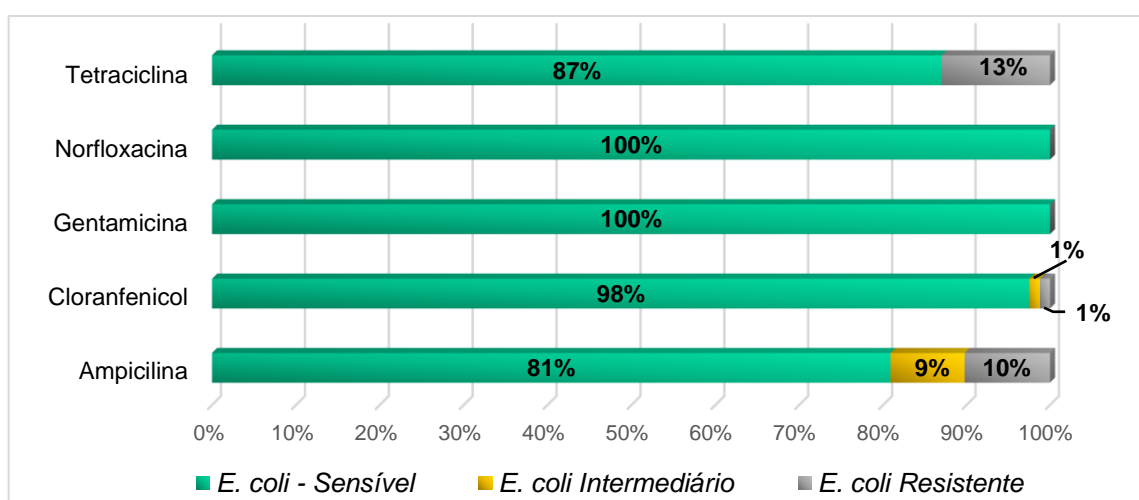
Utilizou-se cinco antimicrobianos de classes distintas sendo eles, Ampicilina (Penicilina), Tetraciclina (Tetraciclina), Cloranfenicol (Anfenicóis), Gentamicina (Aminoglicosídeos) e Norfloxacinina (Quinolona).

5.4.1 Sensibilidade a antimicrobianos por *Escherichia coli*

Foram obtidos um total de 234 isolados de *E. coli* das amostras de água de irrigação e de lavagem de hortaliças para a avaliação do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos.

A maioria dos isolados de *E. coli* das de água de irrigação e lavagem de hortaliças demonstraram-se sensíveis aos antibióticos testados conforme demonstrados na Figura 15.

Figura 15 – Perfil de sensibilidade de *E. coli* presentes em água de irrigação e lavagem de hortaliças a antimicrobianos



Fonte: Autoria própria.

Por outro lado verificou-se isolados resistentes a Tetraciclina (13%) nos pontos P1, P3, P4 e P6, P8 e P9. a Ampicilina (10%) em P1, P3, P8 e P9, e em menor

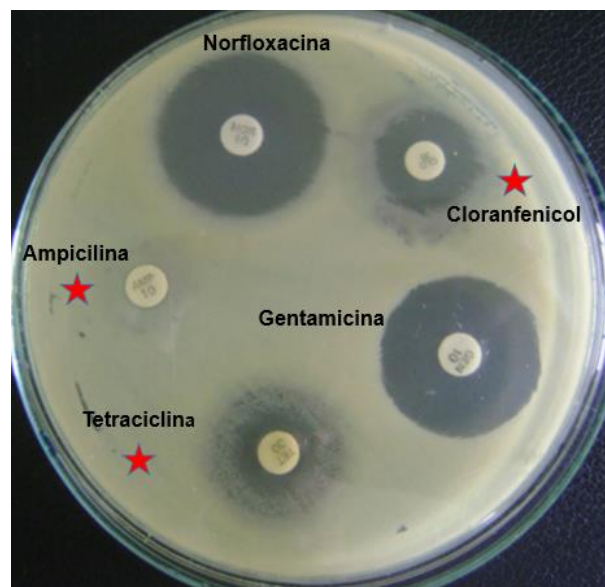
porcentagem a Cloranfenicol (1%) em P1. Os isolados intermediários foram obtidos com o uso de Cloranfenicol (1%) em P4 e Ampicilina (9%) P1, P2, P6 e P7.

Do total de isolados testados 11% mostraram-se resistentes a três antimicrobianos pertencentes a classes distintas, determinando o achado de multirresistência de *E. coli* nas amostras de água. Os dados embora menores que os encontrados por Canal (2010) se assemelha com o encontrado pelo autor que ao avaliar o perfil de resistência de *E. coli* na Lagoa dos Patos (RS), observou 54,5% dos isolados multirresistentes a duas ou mais classes de antibióticos.

Schneider, Nadvorny e Schmidt (2009) ao avaliar o perfil de resistência de *E. coli* provenientes de águas superficiais na região rural do Município de Concórdia (SC), observaram 37% dos isolados de *E. coli* resistentes a Ampicilina. A diferença entre os percentuais de resistência encontrados pelos autores e os obtidos nesta pesquisa pode estar relacionada as diferentes atividades exercidas nos locais avaliados, uma vez que os autores adotaram uma área de produção de suínos, na qual os animais podem receber tratamentos frequentes com diferentes fármacos, podendo ocorrer desse modo a indução a resistência bacteriana por pressão seletiva.

Na Figura 16 pode ser notado o comportamento de isolados de *E. coli* aos antimicrobianos.

Figura 16 – Comportamento de isolados de *E. coli* expostos a antimicrobianos



Fonte: Autoria própria.

Rasheed et al. (2014) ao determinar o padrão de sensibilidade a antibióticos de 150 isolados de *E. coli* de diferentes tipos de alimentos na Índia, notaram 14,7% com resistência múltipla a fármacos como Ampicilina, Tetraciclina e Cloranfenicol, e desse percentual, 20% foram provenientes de amostras de vegetais. Apesar da natureza das amostras avaliadas pelos autores serem distintas aos desta pesquisa, os fármacos são equivalentes, vale lembrar da importância que os processos envolvidos na produção de alimentos como a irrigação necessitam seguir as normas regidas pela legislação vigente.

A Ampicilina mesmo consistindo em um antibiótico de amplo espectro no presente estudo não foi eficaz para 10% dos isolados de *E. coli*, o que pode ter ligação a produção de ESBLs que hidrolizaram o fármaco, tornando-o ineficaz. As beta-lactamases de espectro estendido, ou ESBLs, são enzimas produzidas por certos tipos de bactérias como *E. coli* e outras Gram-negativas (LINCOPAN et al. 2006).

A Tetraciclina tem usos nas atividades da veterinária e agrícola e têm um papel importante na disseminação de resistência microbiana (ROBERTS, 2005; ANVISA, 2007; LIM, et al. 2009). A esse respeito, lembra-se que os pontos de coleta com achados de isolados de *E. coli* resistentes a três dos antimicrobianos testados, se deu em locais onde a criação de animais faz parte das atividades dos proprietários, além das fontes de água serem acessíveis a outros animais, logo a procedência de fezes deixadas no entorno da fonte pode ter influência diante do comportamento de *E. coli*.

A resistência a Tetraciclina é preocupante diante do fato do fármaco ser um bacteriostático amplo espectro de ação e uma alternativa de tratamento para muitas infecções porém, o surgimento de resistência e causam muitas restrições com relação a sua indicação (CHUKWUDI; GOOD, 2016; STEPANEK et al., 2016).

O Cloranfenicol age na síntese proteica bacteriana sendo funcional para Gram-negativas, visto nesse estudo que *E.coli* apresentou baixo percentual de resistência e sensibilidade intermediária a esse fármaco (KATZUNG, 2007; GOODMAN; GILMAN's, 2008).

A resistência encontrada nos isolados de *E. coli* nos períodos avaliados podem estar relacionados a diferentes mecanismo de resistência a exemplo das bombas de efluxo que são proteínas de membrana que retiraram os antibióticos do meio intracelular, diminuindo suas concentrações acumuladas e por fim, seu efeito,

mecanismo este que abrange todas as classes de antibióticos (DZIDIC; SUSKOVIC; KOS, 2008).

Os mecanismos de resistência podem ser de ordem cromossômica, mediada por plasmídeos ou transposons, que ocorrerem durante a transferência genética, resultante da interação entre duas bactérias diferentes (ROBERTS, 2005; PARTRIDGE, 2011).

Os isolados de *E. coli* desse estudo podem ter ainda ter apresentado o comportamento de resistência primária ou Intrínseca, que consiste na falta do alvo molecular ou não serem permeáveis a ação do fármaco em baixas concentrações (LIN; WEBB. 2005; TENOVER, 2006).

De amplo espectro de ação a Norfloxacin e Gentamicina possuem ampla ação bactericidas, e demonstraram eficácia máxima para o controle dos isolados de *E. coli* testados. Próximos ao encontrado, Lo et al. (2010) verificaram 98,2% de isolados *E. coli* expostos a Norfloxacin em amostras provenientes do trato urinário, caracterizando a Norfloxacin como uma das frequências mais baixas de resistência bacteriana.

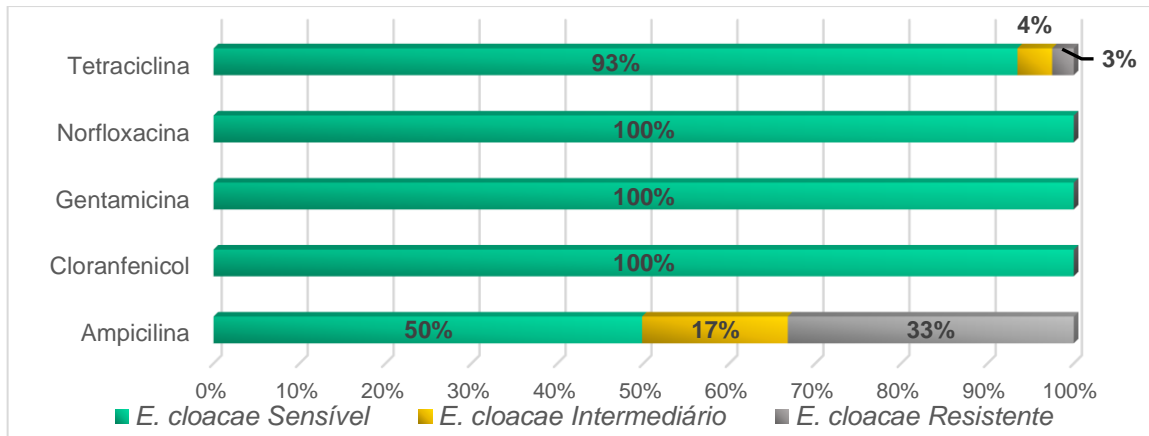
O encontro de *E. coli* resistente a antimicrobianos é preocupante devido o fato dos moradores fazerem o uso de algumas das fontes de água da propriedade para o consumo, ficando desse modo expostos a bactérias patogênicas.

5.4.2 Sensibilidade a antimicrobianos por *Enterobacter cloacae*

Foram realizados testes com 87 isolados de *E. cloacae* provenientes de água de irrigação e lavagem de hortaliças para a análise do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos.

O perfil de sensibilidade de *E. cloacae* presentes nas amostras de água de irrigação e lavagem analisados em ambos os períodos desta pesquisa é apresentado na Figura 17.

Figura 17 – Perfil de sensibilidade de *E. cloacae* presentes em água de irrigação e lavagem de hortaliças a antimicrobianos



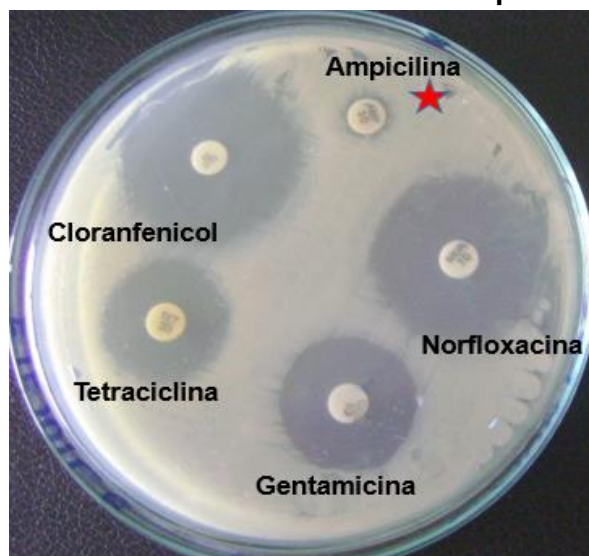
Fonte: Autoria própria.

Os isolados de *E. cloacae* testados com os antimicrobianos Norfloxacina, Gentamicina e Cloranfenicol apresentaram-se sensíveis. Por outro lado, o uso da Tetraciclina resultou em isolados sensíveis e intermediários em P4 e P7 (Irr) e P5 (Irr e Lav), e resistente em P2 (Lav), P5 (Irr e Lav).

Os testes com Ampicilina em *E. cloacae* constataram isolados sensíveis, e intermediários em P1 (Irr e Lav), P2 (Lav), P4 (Irr), P5 (Irr e Lav), P6 (Irr) e P9 (Lav) e resistentes isolados dos pontos P1 (Irr), P2 (Lav), P3 (Irr e Lav), P4 (Irr e Lav), P5 (Irr e Lav), P6 (Irr), P7 (Irr), P8 (Irr e Lav) e P9 (Irr e Lav).

Na Figura 18 pode ser observado os diferentes comportamentos de *E. cloacae* diante dos antimicrobianos testados.

Figura 18 – Comportamento de isolados de *E. cloacae* expostos a antimicrobianos



Fonte: Autoria própria.

Do total de isolados de *E. cloacae* testados com Ampicilina, 50% correspondem a resistência e sensibilidade intermediária que preocupa diante desses microrganismos serem considerados agentes de infecções oportunistas, apesar de estarem incluídos no trato gastrointestinal em adultos saudáveis.

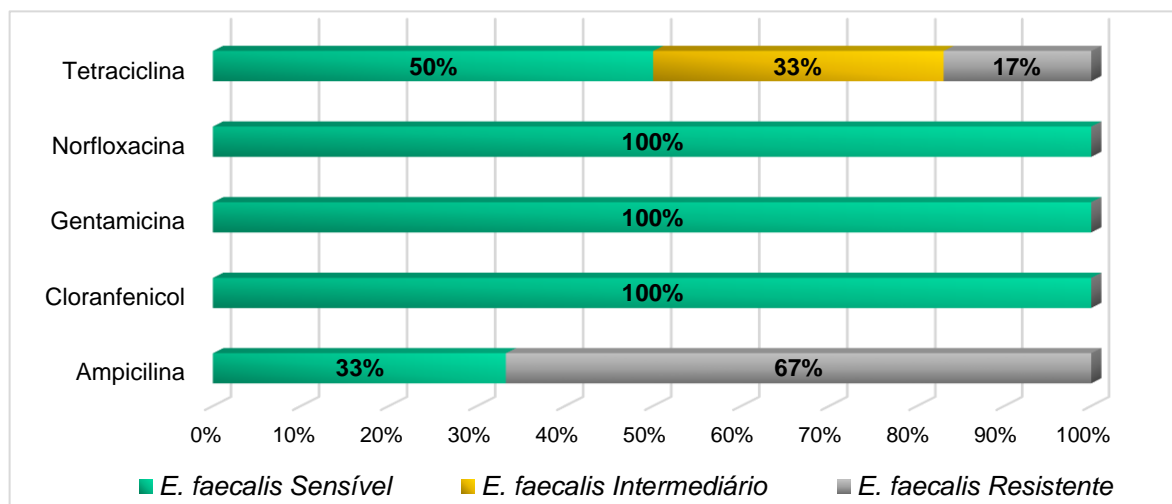
Akinde et al. (2016) ao investigar a qualidade da água de irrigação utilizada em ambientes agrícolas, no sudoeste da Nigéria, recuperaram isolados de diferentes gêneros bacterianos, inclusive *Enterobacter cloacae* em amostras de água e de hortaliças, que apresentaram-se sensíveis a Gentamicina e Cloranfenicol, e resistentes a Ampicilina e Teraciclina. Os resultados dos autores se assemelham ao achado desta pesquisa que obteve para Ampicilina o maior percentual de resistência, e resistência intermediária. A bactéria *Enterobacter cloacae* é relacionada à infecções nosocomiais e infecções oportunistas na urina em enfermos (TOLEDO, 2002; LEUNG, 2006).

5.4.3 Sensibilidade a antimicrobianos por *Enterococcus faecalis*

A presença de *E. faecalis* foi detectada por ocasião da primeira coleta no mês de julho, sendo único momento de registro de contaminação por esse gênero na água de irrigação (rio) e na água de lavagem de hortaliças (poço comum) do P3.

Foram submetidos ao teste com os antimicrobianos 18 isolados de *E. faecalis* conforme exposto na Figura 19.

Figura 19 – Perfil de sensibilidade de *E. faecalis* em água de irrigação e lavagem de hortaliças a antimicrobianos



Fonte: Autoria própria.

Quando expostos aos antibióticos Norfloxacina, Gentamicina e Cloranfenicol, verificou-se que os isolados de *E. faecalis* se mostraram sensíveis, mostrando a eficiência dos fármacos a esta bactéria.

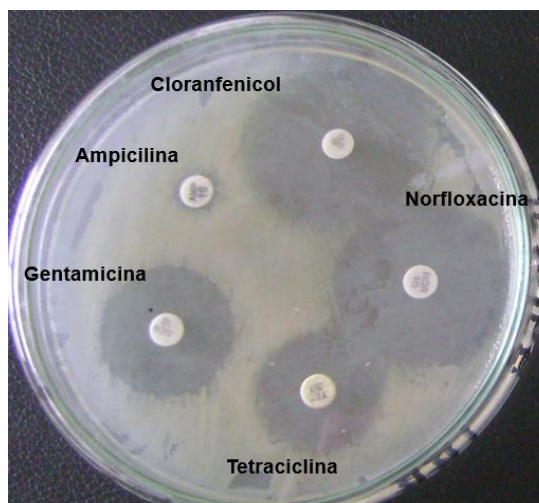
Com o uso da Tetraciclina foram observados isolados sensíveis, intermediários e resistentes. Com o uso da Ampicilina verificou-se isolados sensíveis e resistentes à droga nas amostras de água de irrigação e lavagem de hortaliças, todavia não houve apontamento de sensibilidade intermediária. A Ampicilina normalmente é efetiva contra muitas bactérias aeróbias gram-positivas, inclusive *E. faecalis* (KASIMOGLU-DOGRU; GENÇAY, AYAZ, 2010).

O encontro de isolados *E. faecalis* resistentes pode ter relação a resistência intrínseca a diversas classes de antimicrobianos, inclusive as tetraciclinas.

Com percentuais próximos aos obtidos nesse estudo, Beninca et al. (2015), observaram 59% dos isolados de *Enterococcus* spp. resistentes a Tetraciclina na água do Ribeirão Cambé de Londrina, PR. Sacramento (2015) ao utilizar a concentração inibitória mínima em cepas de *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina (VRE), isoladas de amostras de água superficial de rios urbanos, SP, obteve em seu monitoramento cepas de *E. faecalis* resistentes a maior parte dos antibióticos testados, dentre eles, Gentamicina, Ampicilina e Tetraciclina e intermediário ao Cloranfenicol, mostrando igualdade dos resultados para a resistência a dois antimicrobianos utilizados em comum.

A Figura 20 demonstra o registro do perfil de *E. faecalis* durante o teste com antimicrobianos.

Figura 20 – Comportamento de isolados de *E. faecalis* expostos a antimicrobianos



Fonte: Autoria própria.

A presença de gêneros importantes de bactérias nas águas de irrigação e lavagem de hortaliças frescas consumidas cruas desse trabalho, constitui em um sério problema higiênico sanitário, já que a água é um veículo de contaminação desses alimentos.

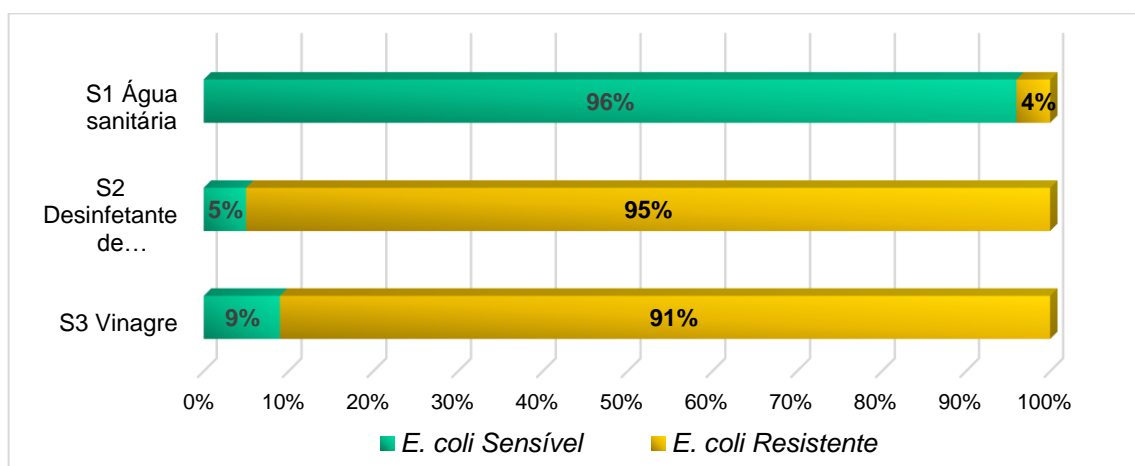
A avaliação da suscetibilidade aos antibióticos revelaram variabilidade no perfil dos isolados bacterianos. Mesmo com alto percentual de isolados sensíveis aos fármacos testados, foi observado a multirresistência a fármacos de uso rotineiros. Com isso, o monitoramento contínuo dos mananciais voltados para a finalidade de irrigação e lavagem de hortaliças deve ser visto como fundamental, para estabelecer a segurança da produção de alimentos seguros e que contribuam para a preservação da saúde pública.

5.4.4 Teste de sensibilidade de *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* e *Enterococcus faecalis* a Sanitizantes Comerciais

Os sanitizantes empregados nos experimentos foram caracterizados no decorrer da discussão dos resultados da seguinte forma: S1 (água sanitária), S2 (desinfetante de alimentos) e S3 (vinagre). Para verificar a inibição do crescimento dos isolados bacterianos em água de irrigação e lavagem de hortaliças, utilizou-se os produtos de sanitização disponibilizados para o uso no ambiente doméstico.

O perfil dos isolados bacterianos de *E. coli* das amostras de água de irrigação e lavagem de hortaliças são apresentados na Figura 21.

Figura 21 – Perfil de sensibilidade dos isolados de *Escherichia coli* diante dos sanitizantes utilizados



Fonte: Autoria própria.

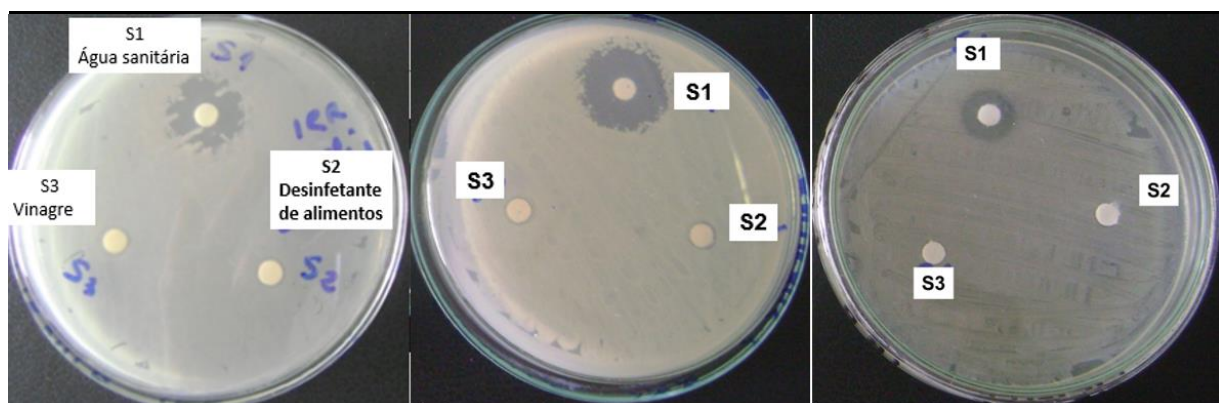
Isolados de *E. coli* quando expostos ao S1 apresentaram 96% sensíveis, enquanto 4% foram resistentes ao produto (P9) na concentração de 200 ppm de cloro livre conforme ANVISA (2004).

Para S2, obteve-se 5% de isolados sensíveis em pelo menos um dentre os três testados de cada amostra de P3, P4, P6 e P8, enquanto 95% foram resistentes a aplicação do produto em P1, P2, P3, P4, P5 e P8 (Irr e Lav), P6 e P7(Irr) e P9 (Lav), na concentração de recomendada pelo fabricante do produto. De forma semelhante para S3 (vinagre), foram obtidos 9% dos isolados sensíveis, e 91% resistentes, mostrando melhor desempenho quando comparado ao produto S2, porém de forma sutil, no controle do crescimento bacteriano. Isso pode ocorrer devido a acidez do produto interferir de forma negativa no crescimento microbiano (BJORNSDOTTIR et al., 2006).

Similar aos resultados encontrados com o uso de vinagre do presente estudo, Moreira Filho (2010) ao avaliar a sensibilidade de *E. coli* utilizando vinagre de álcool de 4,32% de acidez em diluição de 1 colher por litro de água, observou que não houve controle do crescimento da bactéria tal como nas placas controle.

O uso da água sanitária nas águas de irrigação e lavagem de hortaliças mostrou maior eficiência no controle de *E. coli* comparado aos outros sanitizantes comerciais (Figura 22).

Figura 22 – Comportamento dos isolados bacterianos expostos a diferentes sanitizantes



Fonte: Autoria própria.

De acordo com Antunes (2009) o ácido hipocloroso em forma livre é liberado quando um produto clorado é colocado em solução aquosa. O ácido hipocloroso exibe atividade bactericida, apresentando ação oxidativa em células vegetativas, proteínas

e ácidos nucleicos, originando alterações irreversíveis e interrompendo a síntese de proteínas. Santos et al. (2012) empregaram uma solução de água sanitária com cloro ativo (200 ppm) na higienização de alface. Os autores obtiveram redução de até dois ciclos logarítmicos da carga microbiana inicial de bactérias heterotróficas, coliformes termotolerantes e *E. coli* após 15 minutos de imersão.

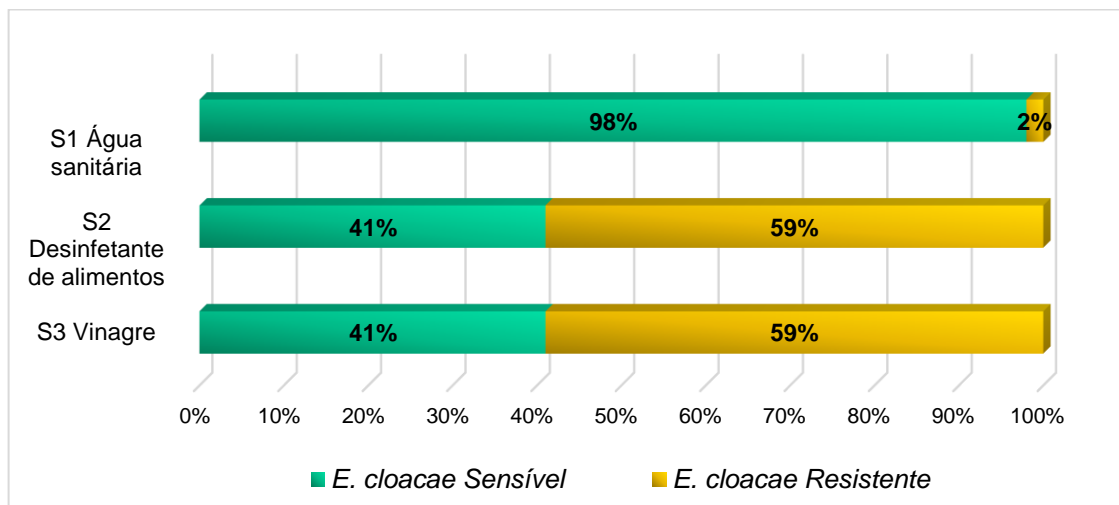
López-Gálvez et al. (2010), testaram a eficiência da higienização de alfaces lavadas com água da torneira e lavagem com solução hipoclorito de sódio com 100 mg/L de cloro ativo obtendo redução aproximada de 0,3 log e de 0,7 log UFC/g para ambos os tratamentos, respectivamente frente a inoculação inicial de $5,4 \pm 0,5$ log UFC/g. Os autores alegaram que a eficácia do hipoclorito de sódio na inativação de *E. coli* só ocorreu mediante as células estarem suspensas na água, mas pouco ou nenhum efeito quando estão agregadas ou internalizadas nos estômatos do vegetal.

Vijayakumar e Wolf-Hall (2002) no tratamento de alface iceberg com o vinagre branco a 20% por 10 minutos também observaram o murchamento das folhas e presença de sabor ácido na hortaliça. Chang e Fang (2007) realizaram o tratamento com vinagre comercial de arroz em alfaces picadas inoculadas com uma concentração de 10^7 UFC de *E. coli*, fazendo o uso de concentrações de 0%, 0,05%, 0,5% e 5% de ácido acético, obtendo com a solução de vinagre com 5% de ácido acético a redução em 3 log na população microbiana em relação a contaminação inicialmente, sendo as demais concentrações testadas consideradas sem efeito inibitório na eliminação da bactéria.

Oliveira (2005) recomenda o tratamento com hipoclorito de sódio a 200 ppm por 30 min como eficaz no controle de coliformes, por outro lado, o autor ressalta que a exposição da alface crespa ao vinagre 20%, por 15 minutos, comprometeu as características das folhas, causando um escurecimento em algumas partes do vegetal após o tratamento.

A avaliação dos sanitizantes na presença de isolados de *E. cloacae* são apresentados na Figura 23.

Figura 23 – Perfil de sensibilidade de isolados de *Enterobacter cloacae* diante dos sanitizantes utilizados



Fonte: Autoria própria.

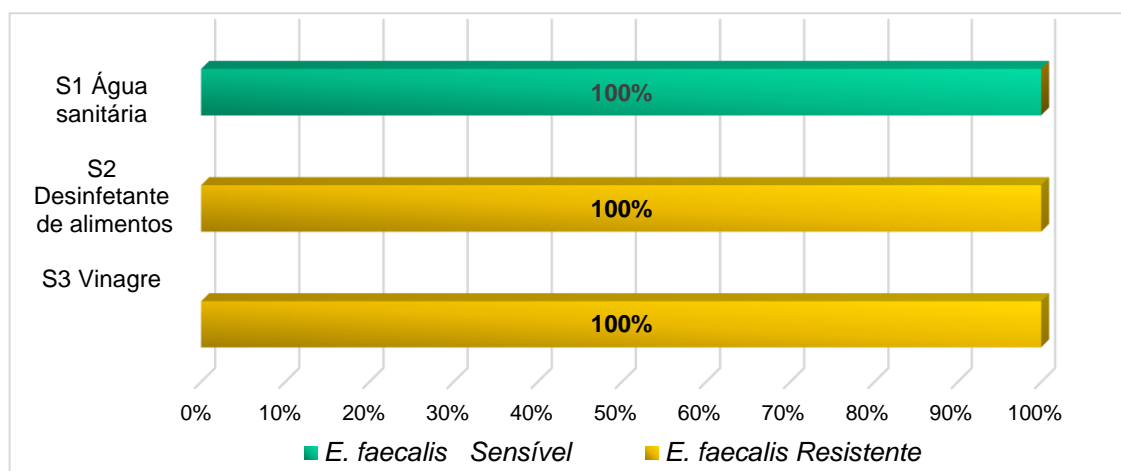
No uso do S1, foi verificado 98% dos isolados de *E. cloacae* sensíveis e apenas 2% de resistentes em P3 e P8. A água sanitária mostrou melhor efeito na redução do crescimento sobre os isolados das amostras de água.

Para S2 e S3 foram demonstrados resultados idênticos no controle de *E. cloacae* mostrando 41% de isolados sensíveis (P3, P4, P5, P8 e P9) e 59% de isolados resistentes, distribuídos em todos os pontos. O desinfetante de alimentos (S2) e o vinagre (S3) apresentaram melhor efeito no controle de *E. cloacae* se comparados aos resultados verificados em *E. coli*.

A presença de *E. faecalis* foi observada neste estudo em água de irrigação e lavagem de hortaliças em apenas uma propriedade.

Os resultados relacionados ao perfil dos isolados de *E. faecalis* aos sanitizantes utilizados são apresentados na Figura 24.

Figura 24 – Perfil de sensibilidade de isolados de *Enterococcus faecalis* diante dos sanitizantes utilizados



Fonte: Autoria própria.

Diante do sanitizante S1 os isolados de *E. faecalis* se mostraram totalmente sensíveis, enquanto para S2 e S3 apontaram um perfil oposto de 100% de resistência.

Ainda que S2 tenha em sua composição a presença do cloro, a recomendação da dose indicada pelo fabricante não foi suficiente para deter ou reduzir o crescimento de *E. faecalis* desta pesquisa. Da mesma maneira, o vinagre não produziu efeito, resultando em resistência de *E. faecalis*, que pode ser associado a alta tolerância dessa bactéria a condições adversas de crescimento, inclusive a ambientes ácidos.

Semelhante ao comportamento bacteriano desta pesquisa, Adami e Dutra (2011) testaram uma solução de vinagre de álcool na fração de 125 mL do produto em 1/L de água na sanitização de alfaces contaminadas por coliformes totais e termotolerantes, alcançando redução dos microrganismos comparado ao grupo não tratado, contudo não suficiente para atender aos padrões ANVISA (2001).

Enterococcus é encontrado em fezes humanas e animais consistindo em um indicador importante na informação da qualidade da água, uma vez que sugere a contaminação fecal (NAKAJO et al., 2006; CASAL et al., 2009; CAUWERTS, 2007).

Com os tratamentos realizados com o desinfetante de alimentos (S2) e o vinagre (S3) obteve-se melhores resultados sobre os isolados de *E. cloacae*, e sobre os isolados de *E. coli* apresentaram baixa eficiência, enquanto para *E. faecalis* foram inexistentes. Em contrapartida, a água sanitária (S1) foi o sanitizante que demonstrou melhor desempenho no controle dos microrganismos do estudo, podendo ser adotada na rotina doméstica durante a higienização de hortaliças. Do mesmo modo, essa

prática pode ser empregada pelos produtores no momento da lavagem dos vegetais na redução da contaminação.

Nascimento e Alencar (2014) ressaltam a importância de estabelecer meios profiláticos de higienização que visem a segurança alimentar, sendo a lavagem o meio comumente utilizado para se obter um alimento mais seguro (BERBARI et al., 2001; ABREU et al., 2010) diante disso, a ANVISA (BRASIL, 2004) recomenda após lavagem em água corrente que alimentos folhosos devem permanecer imersos em solução de água clorada a 200 ppm por 10 minutos para a desinfecção.

Vale lembrar que a prática de sanitização é um processo imprescindível e que a utilização doméstica dos produtos S2 e S3 na concentração indicada podem não oferecer um efeito que garanta um alimento seguro, e com isso, pode colocar em risco a saúde do consumidor.

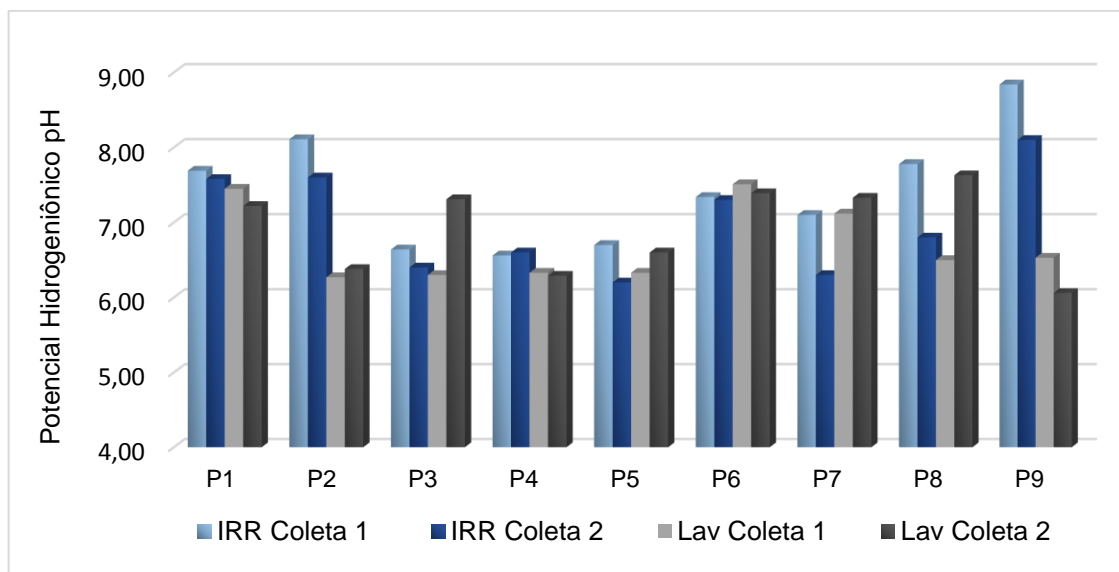
5.5 Parâmetros Físicos e Químicos

5.5.1 pH – Potencial Hidrogeniônico

As análises foram realizadas em dois períodos referidos como coleta 1 para o período de estiagem (julho) e coleta 2 para o período chuvoso (setembro) para água de irrigação e lavagem de hortaliças.

De acordo com a Resolução N° 357/05 do CONAMA os limites aceitos para o parâmetro pH para águas doces de Classe I devem ficar entre 6,0 e 9,0. A representação das variações encontradas de pH durante os dois períodos de coleta são encontradas na Figura 25.

Figura 25 – Variação do pH das águas de irrigação e lavagem de hortaliças nos períodos de estiagem e chuvoso



Fonte: Autoria própria.

As águas de irrigação no período de estiagem foram caracterizadas entre ácidas e alcalinas obtendo variações do pH entre 6,56 em P4 (mina) e 8,84 em P9 (riacho represado). Para as águas de lavagem no mesmo período, os índices ficaram entre 6,27 em P2 (riacho) e 7,51 em P6 (poço artesiano/rio).

Durante o período chuvoso, não foram observadas grandes variações para água de irrigação, sendo obtidos valores entre 6,2 em P5 e 8,1 em P9, ambas água de mina. As águas de lavagem apontaram 6,06 em P9 (mina) e 7,63 em P8 (poço artesiano) no período chuvoso, demonstrando conformidade do parâmetro de pH conforme indicado pela Resolução CONAMA (357/05) para águas doces de Classe I.

Dependente da constituição química das águas, o pH pode mostrar valores variados, decorrentes da formação geológica de onde ela está contida, pelo nível de contaminação e pelo sistema de captação a que está sujeita (CASALI, 2008).

Bem próximos aos resultados averiguados nesse estudo, Endler et al. (2013) avaliaram diferentes fontes de água de irrigação (rios, reservatórios naturais, minas e lagos) utilizada em propriedades rurais do município de Toledo-PR, verificaram que as amostras analisadas se encontravam dentro do intervalo de 6,09 a 8,4 de pH, desse modo, em conformidade com a legislação.

Os pH das águas de poços apresentaram variações de 6,30 a 7,63 (P3, P6, P7 e P8), mostrando valores mais altos do que os obtidos por Oliveira (2018) que

assinalaram variações entre 6,1 a 6,3 em águas subterrâneas, ao qual o autor relaciona ao pH baixo normalmente exibido em águas subterrâneas quando comparadas a águas superficiais por conta do aprisionamento do CO₂, que contribui com a redução desse parâmetro.

Silva et al. (2011) recomendam que a água de irrigação apresente o pH entre 6,5 a 8,4, uma vez que o parâmetro fora dessa faixa pode mostrar anormalidade na qualidade da água, causando efeitos negativos a biota aquática e contribuir para que ocorram reações químicas e precipitem em produtos tóxicos (CETESB, 2005).

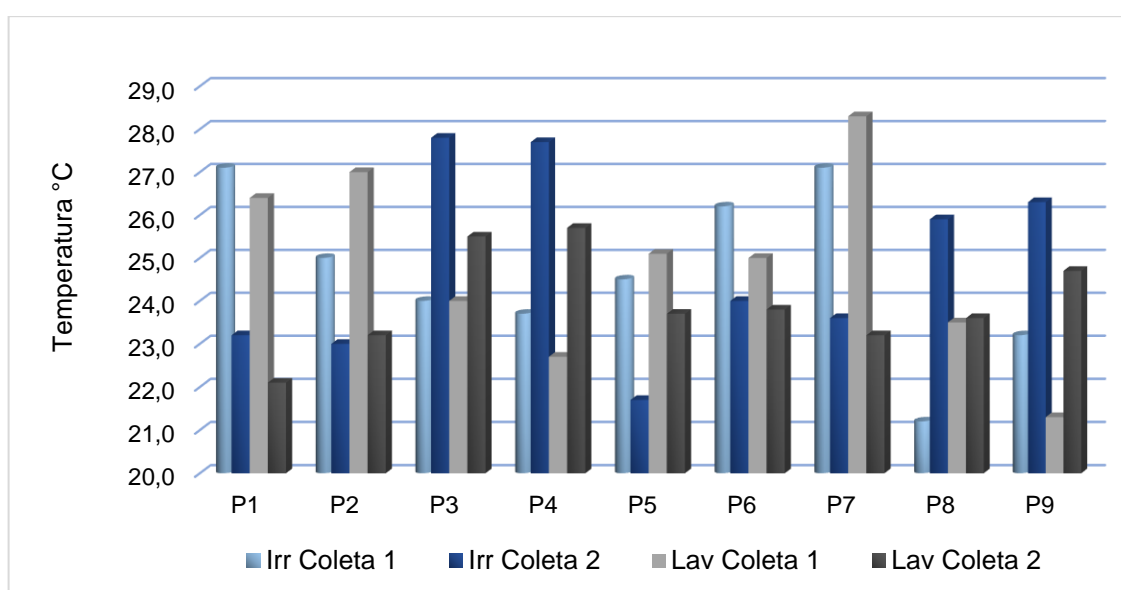
5.5.2 Temperatura

A temperatura está relacionada a medida de intensidade de calor, e tem influência na densidade, viscosidade, oxigênio dissolvido, além de uma importante função no controle da vida no meio aquático (SILVA et al., 2011).

A mudança da temperatura tem forte influência sobre distintos parâmetros físicos e químicos, que por sua vez, podem afetar a qualidade da água de irrigação (ALMEIDA, 2010).

As variações de temperaturas durante os períodos analisados são apresentados na Figura 26.

Figura 26 – Temperatura das águas de irrigação e lavagem de hortaliças nos períodos de estiagem e chuvoso



Fonte: Autoria própria.

Durante os períodos de amostragem, a temperatura das água para irrigação e lavagem apresentaram variações entre si que pode ser estar relacionadas as diferentes formas de captação e armazenamento das águas, bem como às condições climáticas verificadas durante os períodos avaliados e constituição do solo.

Pode-se observar as variações de temperatura tomadas nos diferentes tipos de fontes de água destinadas a produção das hortaliças. Durante a estiagem a maior temperatura foi observada no P3 com 27,8°C que usa água subterrânea que pode manter sua temperatura em períodos em que a temperatura do ar está mais baixa por decorrência do período amostral da estiagem contemplar a estação do inverno. Mesmo coincidindo a estação climática, o P7 demonstrou a maior temperatura do estudo que acondiciona a água de irrigação de poço artesiano e rio em represa escavada rasa sem sombreamento, ficando sob influência de radiação solar, uma vez que o fluxo e profundidade do manancial podem ter influência no parâmetro (PINTO; OLIVEIRA; PEREIRA, 2010).

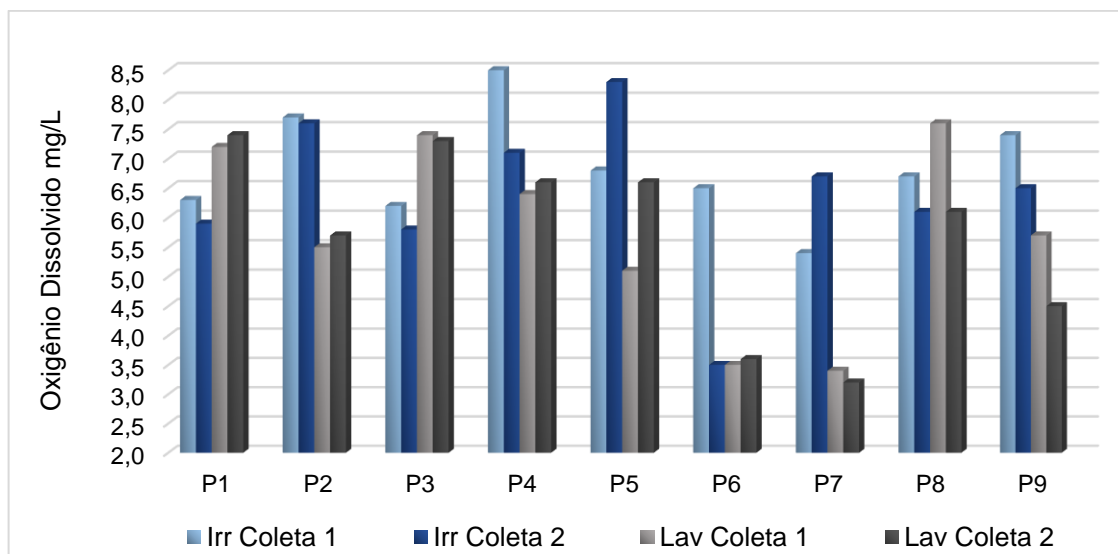
As fontes como minas e poços podem ter apresentado diferença de temperatura devido as características dos locais estão inseridas como seu entorno, com ou sem proteção de vegetação, disposição e tipo de camadas de solo e rochas que protegem a mesma do contato direto com a superfície do ar conforme esclarecido por Marion, Capoane e Silva (2007).

As variações de temperatura da água ocorrem naturalmente sendo que as flutuações dependem das condições atmosféricas, topografia, descarga de esgoto e condições do leito, ou ainda por perturbações antrópicas como represamento, desmatamento características do entorno como a cobertura e uso do solo, que pode fornecer maior ou menor exposição à incidência solar, e mudanças climáticas (BLEICH; SILVA; ROSSETE; 2009; FANTIN-CRUZ et al., 2010).

5.5.3 Oxigênio Dissolvido (OD)

Os resultados de oxigênio dissolvido analisados durante os períodos do estudo podem ser visualizados na Figura 27.

Figura 27 – Oxigênio dissolvido em água de irrigação e lavagem de hortaliças nos períodos de estiagem e chuvoso



Fonte: Autoria própria.

Para o parâmetro de oxigênio dissolvido a Resolução 357/05 preconiza que os valores para qualquer amostra, não devem ser inferiores a 6 mg/L em águas de Classe I (BRASIL, 2005).

A maioria dos pontos amostrais apresentaram o padrão de OD acima de 6 mg/L no período da estiagem. Entretanto, níveis de concentração de OD menores que o estabelecido pela Resolução 357/05 foram verificados nos pontos P1, P2, P3, P5, P6, P7 e P9, mostrando inconformidade para essas fontes de água.

Os pontos críticos foram verificados em P6 e P7 com uma variação de 3,2 a 3,6 mg/L de OD, o que compromete a qualidade da água. Essa ocorrência pode estar relacionada a elevação da temperatura registrada no período de estiagem que foi de 28,3°C, sendo o mais alta obtida no período, que pode ter contribuído para o decréscimo do parâmetro de OD.

A solubilidade do oxigênio na água está basicamente sujeita a dois fatores como temperatura e pressão. Com a elevação da temperatura e a diminuição da pressão, ocorre baixa solubilidade do oxigênio na água (BENETTI; LANNA; COBALCHINI, 2003; FIORUCCI; BENEDETTI FILHO, 2005; ESTEVES, 2011).

A água para irrigação dos pontos P6 e P7 são provenientes de poço artesiano e de rio que são acondicionadas em tanques escavados rasos com o fundo revestido com lonas plásticas. O tanque de P7 recebe incidência luz direta em toda a sua área, uma vez que não existe nenhum tipo de vegetação no seu entorno, com isso a

temperatura da água da irrigação foi a mais elevada no período da estiagem sendo uma condição para a justificar também a menor concentração de OD do período.

Ainda houve a observação da criação peixes nos tanques e que induz no aumento de matéria orgânica com o uso da ração para alimentá-los e juntamente com a fezes observou-se um alto crescimento de fitoplâncton, na água que afinal promoveu a baixa transparência da água.

Leite, Abreu e Sens (2017) explicam que uma baixa transparência no tanque de criação de peixes e a alta produção de fitoplânctons não é desejável, uma vez que ao mesmo tempo em que estes organismos disponibilizam oxigênio aos peixes eles também o consome em horários em que não é possível fazer fotossíntese.

A disposição das águas dos locais de coleta em represas, tanques escavados e reservatórios como caixas d'água, podem ser outro fator de interferência na perda de oxigênio diante do confinamento da água. Pode-se aliar a isso, a contaminação de coliformes encontrada que ao decompor a matéria orgânica também consome oxigênio do meio. Os valores de OD encontrados nesta pesquisa que estiveram abaixo dos limites permitidos são enquadrados nas águas de Classe 2, 3 e 4, conforme o CONAMA 357/05 (BRASIL, 2005).

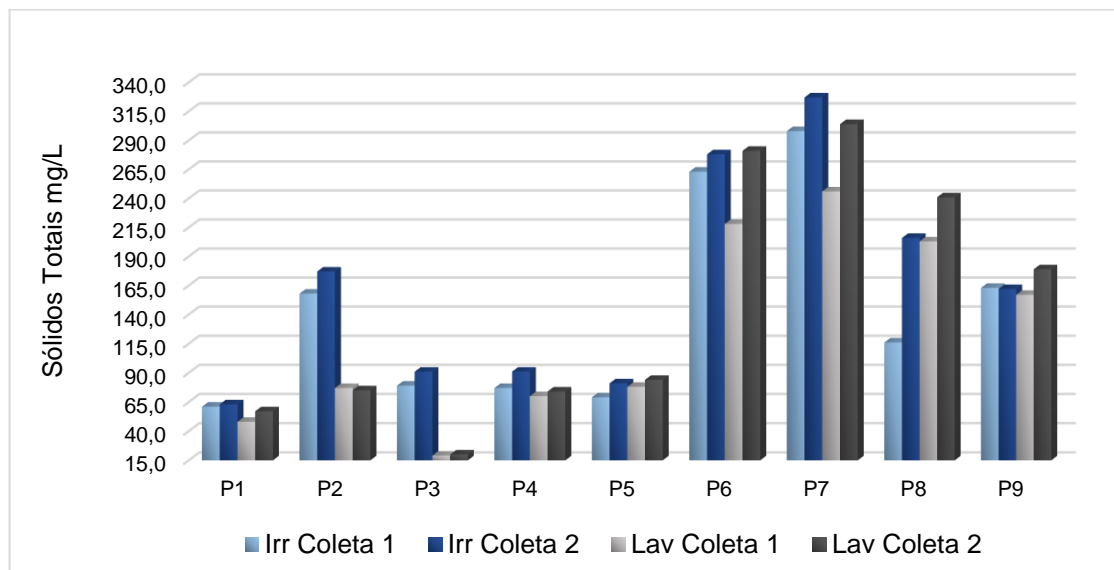
5.5.4 Sólidos totais

De acordo com a Legislação (CONAMA 357/05), o valor máximo admitido de sólidos para água de irrigação é de 500 mg/L (BRASIL, 2005).

Os maiores valores de sólidos totais foram detectados no P6 e P7 durante os períodos da estiagem e chuvoso nas águas de irrigação e lavagem. A maior concentração encontrada foi de 327 mg/L, portanto abaixo do valor máximo permitido pela legislação, mostrando que o parâmetro classifica a água de irrigação para os requisitos de água de Classe I.

Na Figura 28 são apresentadas as concentração de sólidos totais verificadas durante os períodos de estiagem e chuvoso.

Figura 28 – Concentração de sólidos totais em água de irrigação e lavagem de hortaliças nos períodos de estiagem e chuvoso



Fonte: Autoria própria.

O fato das coletas terem ocorrido em períodos distintos notou-se a alteração na concentração de sólidos totais no período chuvoso que provavelmente promoveu o carreamento de sedimentos do solo levando matéria orgânica até os mananciais alterando a concentração de sólidos. Nestes pontos obteve-se baixos teores de oxigênio dissolvido o que pode indicar a decomposição da matéria orgânica por bactérias aeróbias.

Martins (2009) ao analisar a qualidade de lagoas e riacho no município de Ilha Solteira, Estado de São Paulo, encontrou concentrações de sólidos totais no período de estiagem índices até 38 mg/L, e no período chuvoso variáveis até 65 mg/L. Da mesma forma que nesta pesquisa o autor considerou o aumento da concentração do sólidos como um resultado das chuvas, onde o aporte de partículas de solos de área de lavoura e pecuária chegaram até as fontes sendo revolvidas nas águas, ampliando os valores, concordando com os resultados aqui encontrados.

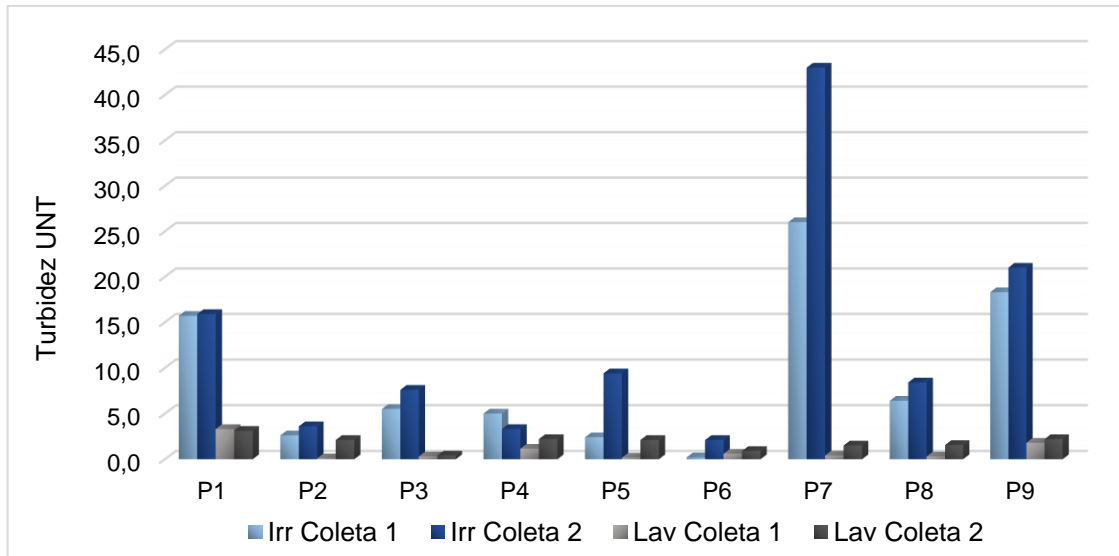
Mesmo com o aumento das concentrações de sólidos totais nos períodos de chuva, os valores permaneceram abaixo do valor estabelecido pela legislação. Além disso, este parâmetro deve ser observado como um parâmetro sinérgico à presença de bactérias conforme a Portaria do Ministério da Saúde 2914/2011 (BRASIL, 2011).

5.5.5 Turbidez

A Resolução CONAMA 357/05 admite-se até 40 unidades nefelométricas de turbidez (UNT) para águas de Classe I (BRASIL, 2005).

Na Figura 29 são apresentados os valores de turbidez das águas analisadas durante os períodos de julho e setembro.

Figura 29 – Concentração de turbidez em água de irrigação e lavagem de hortaliças em período de estiagem e chuvoso



Fonte: Autoria própria.

Os resultados apontaram o valor do parâmetro de turbidez para água de irrigação do P7 (43 UNT) além do limite permitido durante o período chuvoso. Para os demais pontos a turbidez na água de irrigação e lavagem durante os dois períodos amostrados mostrando acordo com as normas brasileiras.

A alta turbidez e a concentração de sólidos mais elevada em P7 deixa clara a relação entre os dois parâmetros que incidiram no mesmo ponto e período de amostragem. Almeida e Schwarzbald (2003) confirmam que a existência do comportamento análogo dessas duas variáveis.

Scherer et al. (2016), ao avaliar a qualidade da água para irrigação de açudes em três propriedades rurais do Vale do Taquari (RS), associaram índices de turbidez encontrados (63,0 UNT) à presença de partículas presentes na água, que podem ser constituídas por plâncton, bactérias, argila ou fontes de poluição.

O acréscimo da turbidez ainda pode ser explicado quando associado ao resultado microbiológico da água do P7 durante o período chuvoso, quando a

contagem de *E. coli* esteve acima do admitido pela Resolução CONAMA 357/05. Os microrganismos podem se instalar nas partículas em suspensão influenciando os teores de turbidez, ao usá-las como abrigo, e até mesmo como escudo no processo de desinfecção (BRASIL, 2006; PÁDUA; FERREIRA, 2006; BERNARDO, PAZ, 2010; LIBÂNIO, 2010). Da mesma maneira, Zerwes et al. (2015) ao avaliar a qualidade físico-química e microbiológica da água de dez poços da zona rural, no município de Imigrante (RS), encontraram irregularidades quanto aos parâmetros de turbidez e *E. coli*.

Os valores de turbidez encontrados nas águas represadas do presente estudo com excessão do P7 foram próximos ao encontrado por Belizário, Soares e Assunção (2014), que ao analisar a turbidez de água de represa para fins de irrigação em Uberlândia (MG) obtiveram variação entre 3,0 a 14,8 UNT, considerado dentro do padrão.

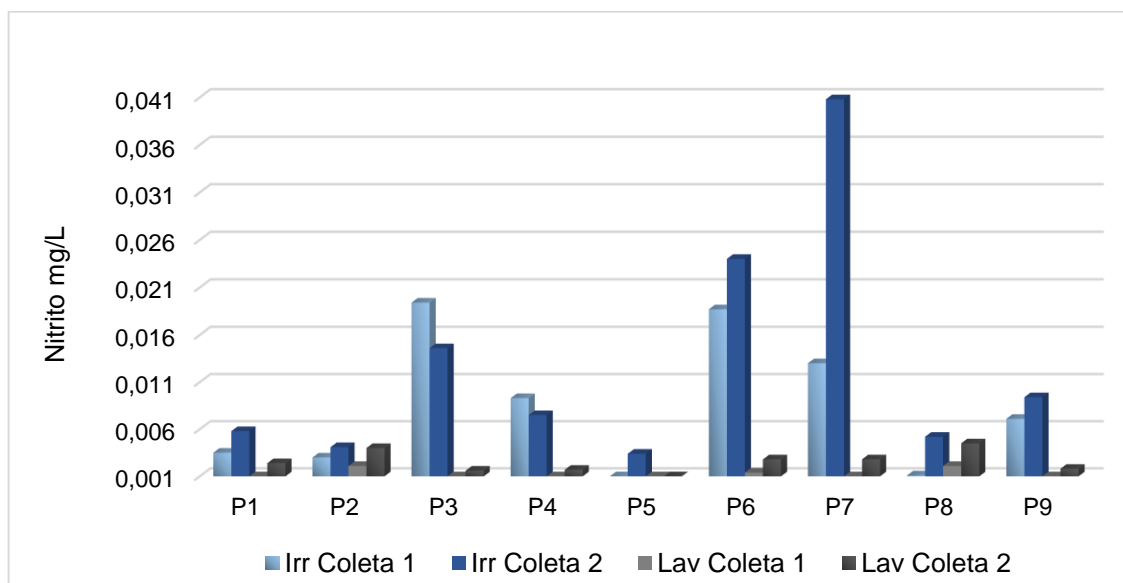
5.5.6 Nitrito e Nitrato

5.5.6.1 Nitrito

Na avaliação da concentração de nitrito das águas de irrigação e lavagem de hortaliças da região de Apucarana, foram verificados índices de concentração inferiores aos preconizados pela legislação em ambos os períodos avaliados, estando em conformidade com o CONAMA 357/05 que indica que a concentração desta substância não deve exceder a 1,0 mg/L, conforme Tabela 2.

No Gráfico 30 pode ser observado as variações de concentração obtidas durante os períodos amostrais.

Figura 30 – Concentração de nitrito em águas de irrigação e lavagem de hortaliças



Fonte: Autoria própria.

A concentração máxima de nitrito observada entre os períodos amostrais foi de 0,040 mg/L, indicando a conformidade com a legislação vigente conforme exposto na Tabela 2. Fravet e Cruz (2007) ao avaliar as concentrações de nitrito em águas de propriedades produtoras de hortaliças da região de Botucatu (SP), obtiveram dentre os locais pesquisados o maior valor médio com 0,048 mg/L de nitrito, valores esses maiores que os levantados nessa pesquisa.

Os índices de nitrito obtidos para águas de poços artesianos desta avaliação foram semelhantes aos encontrados por Lima et al. (2014) que avaliariam poços artesianos de hortas comunitárias em Terezina (PI) obtendo variação da concentração entre 0,0 a 0,005 mg/L. Esse fato pode estar relacionado a profundidade dos poços, pois conforme estudos mostraram que concentrações elevadas de nitritos são observados com maior frequência em poços rasos por conta da localização na zona do manto de intemperismo (ATOR; FERRARI, 2001; RESENDE, 2002).

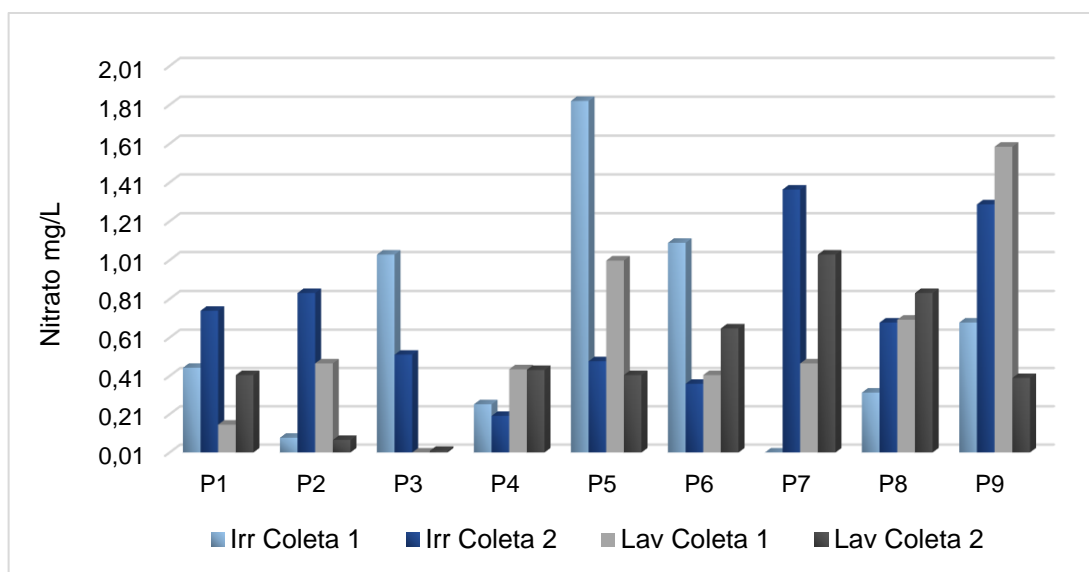
Ayres e Westcot (1991) esclarecem o nitrito raramente é encontrado em concentrações maiores que 1mg/L, entretanto, apesar do nitrito exibir baixas concentrações nas diferentes amostras pode ter relação com sua rápida oxidação, e que outras formas nitrogenadas não avaliados poderiam estar presentes (SILVA, 2012).

5.5.6.2 Nitrato

Pela Resolução Conama 357/05 a concentração máxima aceita de nitrato em águas de classe I destinadas a irrigação é de 10,0 mg/L, o mesmo determinado na Resolução CONAMA nº. 396/2008 que trata das águas subterrâneas (BRASIL, 2008).

As concentrações de nitrato dos períodos avaliados são apresentadas na Figura 31.

Figura 31 – Concentração de nitrato em águas de irrigação e lavagem de hortaliças



Fonte: Autoria própria.

As maiores concentrações de nitrato encontradas nas amostras de água de irrigação de hortaliças durante o período de estiagem e chuvoso estiveram entre 1,829 mg/L (P5) a 1,296 mg/L (P9) respectivamente.

A maior concentração de nitrato encontrada neste estudo ocorreu no P5 que faz uso de água de mina para irrigação. De acordo com Cook (2001) quanto mais próximo o corpo d'água estiver da superfície, menor será o caminho para que os íons nitrato possam atingir o manancial, diferente de mananciais profundos, que dependendo da constituição do solo, estão mais protegidos, e o lençol está abaixo de solos rochosos.

Santana et al. (2016) ao estudar as características físicas e químicas da água da nascente do rio Piauitinga (SE) encontraram as concentrações de nitrato abaixo de 10 mg/L. Igualmente para Lima et al. (2008) que ao realizar campanhas para a avaliação da série nitrogenada nos poços de Natal, no período de 2003 a 2007, não encontraram amostras com valores de nitrato acima do máximo estabelecido pela legislação.

No presente estudo foi verificado que os produtores utilizam fertilizantes de origem orgânica o que poderia contribuir para que ocorrem disparidades nos parâmetros analisados, contudo os valores de nitrito e nitrato estiveram em conformidade com a Resolução CONAMA 357/05.

Tabela 2 – Análise físico e química de diferentes fontes de águas destinadas a irrigação e lavagem de hortaliças dos locais do estudo

Parâmetros	Tipo de fonte	Padrão CONAMA 357/05	P1		P2		P3		P4		P5		P6		P7		P8		P9	
			1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
			EST	CH	EST	CH	EST	CH	EST	CH	EST	CH	EST	CH	EST	CH	EST	CH	EST	CH
pH	Irr	6,0 a 9,0	7,69	7,58	8,11	7,6	6,64	6,4	6,56	6,6	6,7	6,2	7,34	7,3	7,1	6,3	7,78	6,8	8,84	8,1
	Lav		7,45	7,22	6,27	6,38	6,3	7,31	6,33	6,29	6,33	6,6	7,51	7,39	7,12	7,33	6,5	7,63	6,53	6,06
Temperatura (C°)	Irr	não determinado	27,1	23,2	25	23	24	27,8	23,7	27,7	24,5	21,7	26,2	24	27,1	23,6	21,2	25,9	23,2	26,3
	Lav		26,4	22,1	27	23,2	24	25,5	22,7	25,7	25,1	23,7	25	23,8	28,3	23,2	23,5	23,6	21,3	24,7
OD	Irr	acima e 6 mg/L	6,3	5,9	7,7	7,6	6,2	5,8	8,7	7,1	6,8	8,3	6,5	3,5	5,4	6,7	6,7	6,1	7,4	6,5
	Lav		7,2	7,4	5,5	5,7	7,4	7,3	6,4	6,6	5,1	6,6	3,5	3,6	3,4	3,2	7,6	6,1	5,7	4,5
Sólidos Totais	Irr	500 mg/ L	61	63	158	177	79	91	77	91	69	81	263	278	298	327	116	206	163	162
	Lav		48	57	77	75	19	20	70	74	78	84	218	281	246	304	203	241	157	179
Turbidez	Irr	40 UNT	15,7	15,9	3	4	6	7,6	5	3,3	2,4	9,4	0,2	2	26	43	6,4	8,4	18,3	21
	Lav		3,3	3,1	0,1	2,1	0,3	0,4	1,15	2,2	0,17	2,1	0,6	0,9	0,4	1,5	0,3	1,55	1,8	2,2
Nitrito (mg/L)	Irr	0,1 mg/L	0,003	0,005	0,003	0,004	0,019	0,014	0,009	0,007	nd	0,003	0,018	0,024	0,013	0,040	0,001	0,005	0,007	0,009
	Lav		nd	0,002	0,002	0,004	nd	0,001	nd	0,001	nd	nd	0,001	0,002	nd	0,002	0,002	0,004	nd	0,001
Nitrato (mg/L)	Irr	10,0 mg/L	0,452	0,748	0,086	0,840	1,038	0,520	0,261	0,200	1,829	0,486	1,098	0,368	0,003	1,372	0,322	0,688	0,688	1,296
	Lav		0,155	0,41	0,474	0,075	nd	0,018	0,444	0,440	1,007	0,414	0,414	0,657	0,474	1,038	0,703	0,840	1,593	0,398

Fonte: Autoria Própria.

Nota: pH: Potencial Hidrogeniônico; T (C°): Temperatura; OD: Oxigênio dissolvido; ST: Sólidos totais; UNT: Unidade nefelométrica de turbidez; N₂: Nitrito; N₃: Nitrato; Irr: irrigação; Lav: lavagem; nd: não detectado.

6 CONCLUSÃO

Nesta pesquisa, foram verificados contagens significativas das bactérias *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* e *Enterococcus faecalis* em águas utilizadas na irrigação e lavagem de hortaliças de consumo *in natura*.

Os pontos de captação de águas utilizadas para a finalidade da produção de vegetais frescos como as hortaliças folhosas, exibiram níveis elevados de contaminação por *E. coli* de 2000 UFC/100mL em água de irrigação e 700 UFC/100 mL em água de lavagem, mostrando resultados acima dos padrões estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/05 e CONAMA 396/08.

Na avaliação de bactérias potencialmente patogênicas foram obtidos isolados de bactérias Gram-negativas como *E. coli* e *E. cloacae*, e Gram-positiva como *E. faecalis*. A maioria dos isolados bacterianos com potencial patogênico, resultantes das amostras de água de irrigação e lavagem de hortaliças, apresentaram-se sensíveis, entretanto quando expostos a Ampicilina, Tetraciclina e Cloranficol foi detectada multirresistência .

O sanitizante doméstico de maior efetividade no controle do crescimento dos isolados bacterianos foi a água sanitária na proporção 1:60 e de concentração de 200 ppm como indicada pela ANVISA, enquanto o desinfetante de alimentos na proporção recomendada pelo fabricante de 1mL/L de água não surtiu o efeito esperado, e da mesma forma para o vinagre com baixo efeito na proporção de 1:30, que se utilizado em altas concentrações pode tornar seu uso dispendioso no uso diário.

Os parâmetros físicos e químicos avaliados nas águas de irrigação e lavagem das hortaliças, tanto nos períodos de estiagem, quanto chuvoso, se enquadraram dentro dos limites propostos pela legislação, à exceção dos parâmetros de turbidez e oxigênio dissolvido em alguns pontos de coleta.

Os mananciais avaliados destinados a irrigação e lavagem de hortaliças estão expostos a contaminação de origem externa devido à criação de animais próximos a produção e fontes de água, adubação orgânica, e falta de conservação dos mananciais de reservação das águas. O período chuvoso foi um fator que indiscutivelmente contribuiu para o acréscimo de contaminação por *E. coli* e na alteração do parâmetro de turbidez neste estudo.

REFERÊNCIAS

ABADIAS, M. et al. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. **International Journal of Food Microbiology**. 123:121–129. 2008.

ABREU, L. S. Remoção de Nitrogênio de Efluentes Industriais e Novas alternativas de Tratamento. 40 p. Porto Alegre 2013. Disponível em: <
<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/108477/000946178.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 12 out. 2017.

ADAMI, A. A.V.; DUTRA, M. B. L. Análise da Eficácia do Vinagre como Sanitizante na Alface (*Lactuca sativa*, L.) **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, Vol. 3, 134-144. ISSN 2178-2091. 2011.

AKINDE, S. B. et al. Microbes in Irrigation Water and Fresh Vegetables: Potential Pathogenic Bacteria Assessment and Implications for Food Safety. Applied Biosafety: **Journal of ABSA International**. 2016.

ALLENDE, A., et al. Effectiveness of two-sided UV-C treatments in inhibiting natural microflora and extending the shelf-life of minimally processed 'Red Oak Leaf' lettuce. **Food Microbiology**, 23(3), 241–249. 2006.

ALLENDE, A.; MONAGHAN, J. Irrigation water quality for leafy crops: a perspective of risks and potential solutions. **International Journal of Environmental Research in Public Health**, v. 12, p. 7457-7477, 2015.
<http://dx.doi.org/10.3390/ijerph120707457>

ALLYDICE-FRANCIS, K.; BROWN, P. D. Diversity of antimicrobial resistance and virulence determinants in *Pseudomonas aeruginosa* associated with fresh vegetables. **International Journal of Microbiology**, v. 2012, 7 p. 2012.
<http://dx.doi.org/10.1155/2012/426241>.

ALMEIDA, M. A. B.; SCHWARZBOLD, A. Avaliação sazonal da qualidade das águas do Arroio da Cria Montenegro, RS com aplicação de um índice de qualidade de água (IQA). **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v.8, n.1, p.81-97, 2003.

ALMEIDA, O. A. de. **Qualidade da água de irrigação**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2010. 234p.

ALVES, E. C.; et al. Avaliação da qualidade da água da bacia do rio Pirapó - Maringá, Estado do Paraná, por meio de parâmetros físicos, químicos e microbiológicos. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil. **Acta Scientiarum. Technology**, vol. 30, n. 1, p. 39-48. 2008.

AMARAL, L. A.; et al. Água de Consumo Humano como Fator de Risco à Saúde em Propriedades Rurais. **Revista Saúde Pública**, São Paulo. v. 37, 4, 2003.

ANA. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS – ANA. **Panorama da Qualidade das Águas Subterrâneas no Brasil**. Brasília. 2007. 113p.

ANA. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. **Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil**: 2013. Brasília: ANA. 2013. 432 p.: li. ISBN 978-85-882100-15-8

ANA. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. **Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil**: Informe 2014. Brasília: ANA, 2015. 103 p.: il. ISBN: 978-85-8210-028-8

ANA. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. **Conjuntura dos recursos hídricos**: Informe 2016 - Brasília: ANA, 2016. 95 p. ISBN: 978-85-8210-030-1

ANA. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. **Quantidade de água**. 2017. Disponível em: <<http://www3.ana.gov.br/portal/ANA/panorama-das-aguas/quantidade-da-agua/quantidade-da-aguab>>. Acesso em: 22 de mai. 2017.

ANBUMOZHI, V.; RADHAKRISHNAN, J.; YAMAJI, E. Impact of riparian buffer zones on water quality and associated management considerations. **Ecological Engineering**, v.24, p.517- 523, 2005. doi: 10.1016/j.ecoleng.2004.01.007.

ANDERSON, C. W. Field measurements. In: WILDE, F.D. (Ed.). **National Field Manual for the Collection of Water - Quality Data**. USGS. 2005. Disponível em: <<http://water.usgs.gov>>. Acesso em: 01 out. 2017.

ANTUNES, M. A. **Contaminação crescimento e inativação de microrganismos na cadeia de produção da alface (*Lactuca sativa*) Propriedade de Santo Antônio**. 2009. 146 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia em Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2009.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Investigação e Controle de Bactérias Multirresistentes**. 2007. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/reniss/manual%20controle_bacterias.pdf>. Acesso em: 25 nov. 2017.

_____. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução – RDC nº12, 2 jan.**

2001. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php>>. Acesso em 02 fev. 2018.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004.** Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Cartilha. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 16 set. 2004.

APDA. Associação Portuguesa de distribuição e Drenagem de Água. FT-MB-02 **Bactérias Coliformes.** 2012. Disponível em: <http://www.apda.pt/site/ficheiros_eventos/201212041542-ft_mb_02__bacterias_coliformes.pdf>. Acesso em: 18 set. 2017.

APHA. American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 21st ed. Washington, 2005.

APHA, AWWA, WEF. **Standard Methods for examination of water and wastewater.** 22nd ed. Washington: American Public Health Association; 2012, 1360 pp. ISBN 978-087553-013-0.

APUCARANA. Prefeitura do Município de Apucarana. **Conheça Apucarana: Apucarana em dados.** 2016. Disponível em: <http://www.apucarana.pr.gov.br/site/?page_id=431>. Acesso em: 08 out. 2017.

APUCARANA. Prefeitura Municipal de Apucarana. **Minas e nascentes do Projeto Oásis são georreferenciada.** 2017. Disponível em: <<http://www.apucarana.pr.gov.br/site/Minas-e-nascentes-do-Projeto-Oasis-sao-georeferenciadas/>>. Acesso em: 29 jan. 2018.

ARIAS, C. A.; MURRAY, B. E. The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, p. 266 – 278, 2012. doi: 10.1038/nrmicro2761

ASSUNÇÃO, F. A. L. **Estudo de remoção de nitrogênio, com ênfase na volatilização de amônia, em lagoas de polimento de efluentes de reatores UASB tratando esgotos urbanos de Belo Horizonte/MG.** Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia. 2009. 89 f.

ATOR, S. W.; FERRARI, M. I. Nitrate and selected pesticides in ground water of the Mid-Atlantic Region: United States Geological Survey. **Environmental Protection Agency**. 2001. Disponível em: <<http://md.usgs.gov/publications/wrir-97-4139>>. Acesso em: 18 de jan. 2018.

AVERY, L. M. et al. Survival of *Escherichia coli* O157: H7 in waters from lakes, rivers, puddles and animal-drinking troughs. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 389, n. 2-3, p.378-385, 2008. Elsevier. BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.08.049>

AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. **A qualidade da água na agricultura**. 2.ed. Campina Grande: UFPB, 153 p. FAO. Estudos Irrigação e Drenagem, 29. 1999.

BACCI, D. De La C.; PATACA, E. M.. **Educação para a água**. Estudos Avançados 22 (63), 2008.

BAQUERO, F.; MARTÍNEZ, J. L.; CANTÓN, R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. **Current Opinion in Biotechnology**. v. 19, p. 260 - 265. 2008.

BARAK, J. D.; SCHROEDER, B. K. Interrelationships of Food Safety and Plant Pathology: the life cycle of human pathogens on plants. **Annual Review Phytopathology**. 50: 241–266. 4. 2012. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-172936>.

BAREA DE PAULA, K. B. **Avaliação da ação Antimicrobiana do Hipoclorito de Sódio e Hipoclorito de Cálcio por meio de diferentes modelos experimentais**. 2015. 60f. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica e Endodontia) Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Grande do Sul, Porto Alegre. 2015.

BATALHA, B. H. L.; PARLATORE, A. C. **Controle da qualidade da água para consumo humano**: bases conceituais e operacionais. São Paulo, CETESB, 1993.

BATISTA, B. G.; FUCKS, M. B. Avaliação Microbiológica da Água do Arroio Pessegueirinho de Santa Rosa, Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. **Revista Monografias Ambientais**. v.9, nº 9, p. 2031-2037, 2012. e-ISSN: 2236-1308

BELIZÁRIO, T. L.; SOARES, A. M.; ASSUNÇÃO, W. L. Qualidade da Água para Irrigação no Projeto de Assentamento Dom José Mauro, Uberlândia - MG. **Revista Getec**, v.3, n.5, p.53-73, 2014.

BENDER, A. C. et al. Qualidade Microbiológica das Águas Utilizadas para Irrigação pelos Horticultores da Cidade de Xanxerê, SC. **Unoesc & Ciência** - ACBS Joaçaba, v. 7, n. 2, p. 207-214, jul./dez. 2016.

BENETTI, A. D.; LANNA, A. E.; COBALCHINI, M. S. Metodologias para a Determinação de Vazões Ecológicas em Rios. **RBRH – Revista Brasileiras de Recursos Hídricos**, v. 8, 149-160. Abr/Jun 2003.

BENINCA, A. O. Perfil de Resistência e Virulência *Enterococcus spp* Isolado de Rede de Abastecimento de Água de Londrina – PR. In.: V Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia. 2015, Londrina. **Anais....** Londrina – UEL, 2015. p. 111-114 .

BERBARI, S. A. G.; PASCHOALINO, J. E.; SILVEIRA, N. F. A. Efeito do cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, p.197- 201, mai./ago. 2001.

BERNARDO, L. D.; PAZ, L. P. S. **Seleção de tecnologias de tratamento de água**. São Carlos: LDiBe, 2010. p. 868.

BETTEGA, J. M. P. R., et al. Métodos analíticos no controle microbiológico da água para consumo humano. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 30, n. 5, p. 950-954. 2006. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/cagro/v30n5/v30n5a19.pdf>> Acesso 30 out. 2017.

BLEICH, M. E.; SILVA, C. J.; ROSSETE, A. N. Variação temporal e espacial das características limnológicas de um ecossistema lótico no Cerrado do Mato Grosso. **Biotemas**, 22 (2): 161-171, jun. 2009. ISSN 0103 - 1643

BRACKETT, R. E. Incidence, contributing factors, and control of bacterial pathogens in produce. **Postharvest Biology and Technology**.15:305-311, 1999.

BRAGA, B. et al. **Introdução à engenharia ambiental: o desafio do desenvolvimento sustentável**. 2. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2005.

BRAGA, E. O. et al. Atividades Antrópicas e o uso da Água. In.: **12ª Semana de Iniciação Científica e 3ª Semana de Extensão** – Unileste – Coronel Fabriciano - MG "Inovação a serviço da vida e ambientes saudáveis". 2011.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. CONAMA. **Resolução Conselho Nacional do Meio Ambiente nº 357, de 17 de março de 2005** - Dispõe sobre a

classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e da outras providências. Diário Oficial da União, Brasília – DF, março de 2005.

_____. Conselho Nacional do Meio Ambiente. CONAMA. **Resolução nº. 396, de 03 de abril de 2008**. Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas e dá outras providências. Brasília, DF, 2008.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de controle da qualidade da água para técnicos que trabalham em ETAS**. FUNASA. Brasília - DF. 2014. 112 p.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **Manual prático de análise de água**. FUNASA – 4. ed. – Brasília: Funasa, 2013. 150 p.

BRASIL. **Lei nº. 9.433, em 8 de janeiro de 1997**. Institui a Política Nacional de Recursos Hídricos, cria o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, regulamenta o inciso XIX do art. 21 da Constituição Federal, e altera o art. 1º da Lei nº. 8.001, de 13 de março de 1990, que modificou a Lei nº. 7.990, de 28 de dezembro de 1989. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 9 de janeiro de 1997. Disponível em: <<http://www.planalto.gov.br/CCIVIL/LEIS/L9433.htm>>. Acesso em: 10 jul. 2017.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Água um recurso cada vez mais ameaçado**. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/secex_consumo/_arquivos/3%20-%20mcs_agua.pdf>. Acesso em: 19 de mai. 2017.

BRASIL. MMA/ MEC/ IDEC. **Consumo Sustentável: Manual de educação**. Brasília: Consumers International, 2005. 160 p. Disponível em: <<http://portal.mec.gov.br/dmdocuments/publicacao8.pdf>>. Acesso em: 23 set. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria CVS 5, de 09 de abril de 2013. **Aprova o regulamento técnico sobre Boas Práticas para serviços de alimentação, e o roteiro de inspeção**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 19 de abril de 2013.

_____. Ministério da Saúde. **Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília: Ministério da Saúde, 2011. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt291412_12_2011.html>. Acesso em: 10 nov. 2016.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 212 p. ISBN 85-334-1240-1.

BYAPPANAHALLI, M.N.; et al. Enterococci in the environment. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.76, n.4, p.685-706, 2012.

CAMARGO, J. A.; ALONSO, A. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: a global assessment. **Environment International**, 32 (6), 831–849. 2006.

CAMPOS, T. S.; ROHLFS, D. B. **Avaliação dos valores de nitrato em águas subterrâneas e sua correlação com atividades antrópicas no município de Águas Lindas de Goiás**. Goiânia. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) - Programa de Pós-Graduação em Biociências Forenses, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2010. Disponível em: <<http://www.cpgls.ucg.br/arquivosUpload/1/File/.../SAUDE/86.pdf>>. Acesso em: 05 jan. 2018.

CANAL, N. **Caracterização de resistência a antimicrobianos e diversidade genética em *Escherichia coli* isolada de amostras de água da Lagoa dos Patos, RS**. 98f. Dissertação (Mestrado do Programa de Pós Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) UFRGS. 2010.

CARDOSO, H. E. A.; MANTOVANI, E. C.;, L. C. As águas da agricultura. **Agroanalysis**. Instituto Brasileiro de Economia. Centro de Estudos Agrícolas. Rio de Janeiro, v. 19, p. 27-28. 1998.

CASADEVALL, A. Antibody-based therapies for emerging infectious diseases. **Emerging Infectious Diseases**, 2(3):200-8, 1996.

CASAL M. M., et al. Investigación de las resistências a antimicrobianos a antimicrobianos en *Enterococcus faecalis*. **Revista Espanola De Quimioterapia**. 22:3, 117-119. 2009.

CASALI, C. A. **Qualidade da água para consumo humano ofertada em escolas e comunidades rurais da região central do Rio Grande do Sul**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

CATTOIR, V.; LECLERCQ, R. Twenty-five years of shared life with vancomycin-resistant enterococci: is it time to divorce? **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.68, p.731- 742, 2013.

CAUWERTS, K. High prevalence of tetracycline resistance in *Enterococcus* isolates from broilers carrying the erm(B) gene. **Avian Pathology**, 36(5), pp.395-399. 2007.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC. **Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks United States, 2006**. June 12, 2009 / 58(22);609-615. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5822a1.htm>>. Acesso em: 13 de jan. 2016.

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo 2004**. São Paulo, CETESB, 2005. 297p.

CEUPPENS, S., et al. Risk factors for *Salmonella*, Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and *Campylobacter* occurrence in primary production of leafy greens and strawberries. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 12, 9809 e 9831. 2015.

CHANG, J. M.; FANG, T. J. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovars *Typhimurium* in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E. coli* O157:H7. **Food Microbiology**, v. 24. P. 745-751. 2007.

CHUKWUDI, C. U. GOOD, L. Interaction of the tetracyclines with double-stranded RNAs of random base sequence: new perspectives on the target and mechanism of action. **Journal of Antibiotics**. Tokyo. 69, 622–630. 2016.

CLIMATE-DATA.ORG. **Climate data for cities worldwide**. Disponível em: <<https://pt.climate-data.org/>>. Acesso em: 26 fev. 2018.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**; Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI document M100-S25. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.

COLT, J. E., ARMSTRONG, D. A. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and mollusks. In: Allen LJ, Kinney EC, editors. **Proceedings of the Bioengineering Symposium for fish Culture. Bethesda (MA)**: Fish Culture Section of the American Fisheries Society; p. 34-47. 1981.

COOK, M. G. **Good soil management helps protect groundwater**. The North Carolina Agricultural Extension Service.1990. Disponível em: < <https://content.ces.ncsu.edu/good-soil-management-helps-protect-groundwater> >. Acesso em 21 jan. 2017.

COSTA, W. F. et al. Análise bacteriológica da água e o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das *Escherichia Coli* isoladas. **Journal Healt NPEPS**. 1 (2): 160-177. 2016.

COSTA, A. L. P.; SILVA JUNIOR, A. C. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Macapá**, v. 7, n. 2, p. 45-57. 2017. DOI: 10.18468/estcien.2017v7n2.p45-57.

CULTI, M. N., et al. Implantação das tecnologias sociais: produção agroecológica Integrada sustentável- pais (horta mandala), cisterna e fossa Séptica biodigestora como meio de sustentabilidade para Agricultura familiar. 31º SEURS - **Seminário de Extensão Universitária da Região Sul, Florianópolis, SC**, 2013 – Universidade Federal de Santa Catarina.

DANTAS, I. L. A. et al. Viabilidade do uso de água residuária tratada na irrigação da cultura do rabanete (*Raphanus sativus* L.). **Revista Ambiente & Água**, v. 9, n. 1, 2014. <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1220>.

DELPLA, I. et al. Impactos da mudança climática na qualidade da água da superfície em relação à produção da água de beber. **Revista de Saúde Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v. 6, n. 2, p.85-107, ago. 2011.

DZIDIC, S.; SUSKOVIC, J.; KOS, B. Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Bio chemical and Genetic Aspects. **Food Technology and Biotechnology**. v. 46, n. 11, p. 11-21, 2008.

EDBERG, S. C. et al. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection s.c. **Journal of Applied Microbiology**. 88, 1068-11683. 2000.

EDUARDO, M. B. P. et al. Principais Doenças Emergentes e Reemergentes - Atualização e Perspectivas Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. In: **III Simpósio Internacional de Vigilância das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar**, Centro de Convenções Rebouças, São Paulo, SP, 2005.

EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 2 (*Salmonella* and norovirus in leafy greens eaten raw as salads). **EFSA Journal**. 11, 3600. 2014. Disponível em: <<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2014.3600>>. Acesso em: 22 out. 2017.

ELOI, W. M. et al. Sazonalidade na Qualidade da Água de Irrigação em Açudes da Bacia do Rio Acaraú, Ceará. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**. v. 8, nº.3, Fortaleza, p. 247-255, Mai-Jun, 2014.

ENDLER, D. T. K. et al. Avaliação da Qualidade da Água de Irrigação Utilizada em Propriedades Rurais do Município de Toledo - PR. In: III Encontro Paranaense de Engenharia e Ciência. 2013, Toledo. **Anais...Paraná: UNIOESTE**, 2013. p. 45-51.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciência. 2011. 826 p.

FAJARDO, A.; MARTINEZ, J. L. Antibiotics as signals that trigger specific bacterial responses. **Current Opinion in Microbiology**. 11:161167. 2008. <https://doi:10.1016/j.mib.2008.02.006>. PubMed.

FANTIN-CRUZ, I. et al. Regime Térmico em Águas Correntes e sua Importância na Estrutura do Habitat e na Biologia de Organismos Aquáticos. **Caminhos de Geografia** - Uberlândia v. 11, n. 36, dez. p. 295 - 307. 2010.

FAY, E. F.; SILVA, C. M. M. S. **Índice de uso sustentável da água (ISA – Água) na região do sub - médio São Francisco**. 1. ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006.p. 157.

FAYER, R.; MORGAN, U.; UPTON, S.J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identificación. **International Journal of Parasitology**, London, v.30, p.1305-1322, 2000.

FENG, P. W.; JINNEMAN, K. Bacteriological Analytical Manual on line. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Food and Drug Administration – FDA/CFSAN**. 2011.

FENG, P. et al. Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. In: FDA/Center for Food Safety & Applied Nutrition, 8th ed. **Bacteriological analytical manual**. 8th ed. 2002. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html>>. Acesso em: 28 fev. 2018.

FIORUCCI, A. R.; BENEDETTI FILHO, E. A Importância do Oxigênio Dissolvido em Ecossistemas Aquáticos. **Revista Química Nova na Escola**. n. 22, nov. 2005.
FISHER, K.; PHILLIPS, C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. **Microbiology**, v.155, n.6, p.1749-1757, 2009.
doi: 10.1099/mic.0.026385-0

FONSECA, J. M.; et al. *Escherichia coli* survival in lettuce fields following its introduction through different irrigation systems. **Journal of Applied Microbiology**, v. 110, p. 893-902, 2011.

FORSYTHE, S, J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

FRANCO, R. A. M.; VANZELA, L. S.; HERNANDEZ, F. B. T. Avaliação biológica da qualidade da água para irrigação do córrego Três Barras, Marinópolis, SP. In: Congresso Nacional de Irrigação e Drenagem, 16, 2006, Goiânia. **Anais...** Brasília: Associação Brasileira de Irrigação e Drenagem, 2006.

FRAVET, A. M. M. F. de; CRUZ, R. L. Qualidade da água utilizada para irrigação de hortaliças na região de Botucatu - SP. **Revista Irrigação**, Botucatu - SP, v. 12, n. 2, p. 144-155, 2007. ISSN 1808-3765

FUNDAÇÃO GRUPO BOTICÁRIO DE PROTEÇÃO À NATUREZA. **Oásis Apucarana**. Disponível em: <<http://www.fundacaogrupoboticario.org.br/pt/o-que-fazemos/oasis/pages/apucarana.aspx>>. Acesso em 12 jan. 2018.

GAZAL, L. E. S. et al. Pesquisa da Resistência Antimicrobiana de *Escherichia coli* Patogênica Extraintestinal (ExPEC) em Adubo Orgânico de Origem Aviária da Região de Londrina-PR. In: **Anais do 12º Congresso Latino Americano de Microbiologia e Higiene de Alimentos - MICROAL 2014**. Blucher Food Science Proceedings, n.1, vol.1. São Paulo: Editora Blucher, 2014. doi: 10.5151/foodsci-microal-336.

GEORGE, M.; GARRITY, R.; eds. **The gammaproteobacteria. Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2. ed. New York: Williams; 2005. 1.108 p.

GERMANO, P. M. L., GERMANO M. I. S. A água: um problema de segurança nacional. **Revista higiene alimentar**, 15(90/91): 15-18, nov - dez. 2001.
GIL, M. I. et al. Pre and post-harvest preventive measures and intervention strategies to control microbial food safety hazards of fresh leafy vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 55, 453–468. 2015.

GÓMEZ-GIL, R. et al. Nosocomial outbreak of linezolid-resistance *Enterococcus faecalis* in a tertiary care hospital. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, 65 (2), pp.175-179. 2009.

GOODMAN & GILMAN'S. **Manual of Pharmacology and herapeutics**. Nova Iorque: McGraw Hill. 2008.

HENZ, G. P.; MORETTI, C. L. **Manejo Pós colheita**. Embrapa Hortaliças. Cultivar HF Fev./Mar, p. 24-28. 2005.

HOLT, J. G. et al. Facultatively anaerobic gram-negative rods. In: **Bergey's Manual of determinative bacteriology**. 9. ed., Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 787p.

HOLVOET, K. et al. Moderate Prevalence of Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Isolates from *Lettuce*, Irrigation Water, and Soil. **Applied and Environmental Microbiology**. nov; 79(21): 6677–6683. 2013. <http://dx.doi:10.1128/AEM.01995-13>

HU, Y. Y. Molecular typing of ctx-m-producing *Escherichia coli* isolates from environmental water, swine feces, specimens from healthy humans, and human patients. **Appl Environ Microbiol**. 79(19):5988-96. 2013.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/apucarana/panorama>>. Acesso em 20 set, 2017.

INGERSLEV, F. et al. Primary biodegradation of veterinary antibiotics in aerobic and anaerobic surface water simulation systems. **Chemosphere**. aug;44 (4):865-72. 2001.

INGERSON-MAHAD, M.; HEID, A. *E. coli*: Good, bad, & deadly. **American Academy of Microbiology**, p. 1-3. 2011.

INSTITUTO MINEIRO DE GESTÃO DAS ÁGUAS. Portal Meio Ambiente. MG. **Enquadramento**. Disponível em: <http://www.igam.mg.gov.br/gestao-das-aguas/enquadramento>>. Acesso em: 10 de junho de 2014.

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO – Meios em Placas Prontos a Usar. **BD CHROMagar Orientation Medium PA-257481.03 Rev.:** Sep 2011. Disponível em: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=9114>>. Acesso em 29 out. 2016.

ISLAM, M. et al. Persistence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on lettuce and parsley and in soils on which they were grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. **Foodborne Pathogens and Disease**. 1:27–35. 2004. DOI: 10.1089/153531404772914437

JEMEC PARKER, K. Spatial and temporal analysis of fecal indicator bacteria concentrations in beach water in San Diego, California. In: **Master Thesis in Geographical Information Science**. Dept of Physical Geography and Ecosystem Science. 2017.

JENKINS, M. B. et al. Comparative Die-off of *Escherichia coli* O157: H7 and Fecal Indicator Bacteria in Pond Water. **Environmental Science & Technology**, 1;v. 45, n. 5, p.1853-1858. 2011. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/es1032019>

KASIMOGLU-DOGRU, A.; GENÇAY, Y. E.; AYAZ, N. D. Prevalence and antibiotic resistance profiles of *Enterococcus* species in chicken at slaughter level: absence of vanA and vanB genes in *E. faecalis* and *E. faecium*. **Research in Veterinary Science**. 89:153-158. 2010.

KLEPKA, V. Qualidade da Água na Bacia do Rio Pirapó: Uma Análise das Condições Bióticas e Abióticas. **Diálogos & Saberes**, Mandaguari, v. 7, n. 1, p. 9-17, 2011.

KATZUNG, B. **Farmacologia Básica e Clínica**. 10ª ed. Brasil: McGraw Hill. 2007.

LEITE, R. A.; ABREU, P. C.; SENS, D. R. Avaliação dos Parâmetros de Qualidade da Água em Viveiros Escavados Utilizados no Cultivo de Tambaqui (*Colossoma macropomum*). **8ª Jornada de Iniciação Científica. Instituto Federal do Tocantins**. 2017. ISSN 2179-5649.

LEMOS, M.; FERREIRA NETO, M.; DIAS, N. da S. Sazonalidade e variabilidade espacial da qualidade da água na Lagoa do Apodi, RN. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, p.155–164, 2010.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de qualidade e tratamento de água**. 3. ed. Campinas: Átomo, 2010. ISBN: 978-85-7670-165-1

LIM, K. T. et al. Characterization of multidrug resistant ESBL-producing *Escherichia coli* Isolates from hospitals in Malaysia. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**. v. 2009, n. 165637, p. 1-10. 2009.

LIMA, A. M. et al. Avaliação da Série Nitrogenada na Rede Poços de Abastecimento da Cidade de Natal. In: XV Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas. 15, 2008 São Paulo – **Anais...** Revista Águas subterrâneas, 2008.

LIMA, J. E. F. W.; FERREIRA, R. S. A.; CHRISTOFIDIS, D. O uso da irrigação no Brasil. In: FREITAS, M. A. V. de (Org.). **O estado das águas no Brasil**: perspectivas de gestão e informação de recursos hídricos. Brasília: ANEEL/MME/MMA-SRH/OMM/PNUD, p. 73-82. 1999.

LIMA, N. A. et al. Qualidade da Água de Irrigação das Hortas Comunitárias em Teresina, PI. **V Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental Belo Horizonte/MG**. 2014.

LIN, S. M.; WEBB, S. A. Nosocomial bacterial infection in intensive Care Units. I: Organisms and mechanisms of antibiotic resistance. **Anesthesia**, Bethesda, v. 60, n. 9. p. 887-902. 2005.

LINCOPAN, N. et al. *Enterobacteria* producing extended spectrum beta-lactamases and IMP-1 metallo-beta-lactamases isolated from Brazilian hospitals. **Journal of Medical Microbiology**, v. 55, n. 11, p. 1611-3, 2006.

LO, D. S. et al. Infecção urinária em menores de 15 anos: etiologia e perfil de sensibilidade antimicrobiana em hospital geral de pediatria. **Revista Paulista de Pediatria**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 299-303, 2010.

LÓPEZ-GÁLVEZ, F., et al. Cross-contamination of fresh-cut lettuce after a short-term exposure during pre-washing cannot be controlled after subsequent washing with chlorine dioxide or sodium hypochlorite. **Food Microbiology**. 27(2):199-204. 2010.

LUNDBERG, J. O.; WEITZBERG, E.; Gladwin, M. T. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. **Nature Reviews Drug Discovery**. 7:156167. 2008.

MADIGAN, Michael T. **Microbiologia de Brock**. 14 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 1032 p. ISBN: 9788582712979

MANDRELL, R. Enteric human pathogens associated with fresh produce: sources, transport, and ecology. In: Fan X, Niemira BA, Doona CJ, Feeherry FE, Gravani RB, editors. **Microbial Safety of Fresh Produce**. Ames, Iowa: Blackwell Publishing and the Institute of Food Technologies. 2009.

MANTOVANI, E. C.; BERNARDO, S.; PALARETTI, L. F. **Irrigação: princípios e métodos**. Viçosa: UFV, 2006. 328 p.

MANUAL DE INSTRUÇÕES E ORIENTAÇÕES DO ÁGAR MTEC m-TEC AGAR (7421). Disponível em:
<http://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia_pi/7421_pt_pi.pdf>. Acesso em: 12 mai. 2017.

MARION, F. A.; CAPOANE, V.; SILVA, J. L. S. Avaliação da qualidade da água subterrânea em poço no campus da UFSM, Santa Maria – RS. **Ciência e Natura**, UFSM, 29 (1): 97 - 109, 2007.

MARQUELLI, W. A. et al. **Qualidade e segurança sanitária da água para fins de irrigação**. Circular Técnica 134. Embrapa. Brasília, DF, 2014.

MARQUELLI, W. A.; SILVA, W. L. C.; SILVA, H. R. **Irrigação por aspersão em hortaliças**: qualidade da água, aspectos do sistema e método prático de manejo. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica: Embrapa Hortaliças, 111 p. 2001.

MARQUES, R; SOUZA, L.C. Matas ciliares e áreas de recarga hídrica. In: ANDREOLI, C; CARNEIRO, C. **Gestão integrada de mananciais de abastecimento eutrofizados**. Curitiba: Capital, 2005.

MARTI, E.; VARIATZA, E.; BALCAZAR, J. L. The role of aquatic ecosystems as reservoirs of antibiotic resistance. **Trends in microbiology**. v. 22, n. 1, p. 36-41. 2014.

MARTÍNEZ, J. L. Antibiotics and antibiotics resistance genes in natural environments. **Science**, v. 321, p. 3665- 367 . 2008.

_____. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. **Environmental Pollution**. v.157:2893-2902. 2009.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.05.051>

MARTÍNEZ, J. L.; COQUE, T. M.; BAQUERO, F. What is a resistance gene? Ranking risk in resistomes. **Nature Reviews Microbiology**. v. 13, n. 2. p. 116-123. 2015.

MARTINS, M. **Variação e tendências dos parâmetros de qualidade de água do ecossistema aquático da microbacia hidrográfica Córrego da Onça no município de Ilha Solteira/SP**. 2009. 56f. Dissertação (mestrado em Recursos

Hídricos e Tecnologias Ambientais) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. 2009.

MATHUR, S.; SINGH, R. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria – a review. **International Journal Food of Microbiology**, v.105, p. 281-295, 2005.

MATOS, M. A. J. et al. **Análise da Qualidade Microbiológica de Águas de Córregos Utilizadas na Irrigação de Hortaliças. Anais ... CONPEEX. 2013.12037-12041**, Disponível em: <eventos.ufg.br/SIEC/portalproec/sites/site7201/.../seminário-pesquisa_miolo_03.pdf>. Acesso em: 05 jan. 2016.

McEGAN, R. et al. Predicting *Salmonella* populations from biological, chemical, and physical indicators in Florida surface waters. **Applied and Environmental Microbiology**. 79:4094–4105. PubMed]. 2013.

MIERZWA, J. C.; HESPANHOL, I. **Água na indústria: uso racional e reuso**. Oficina de Textos, 2005. 143p.

MORETTI, C. L.; MATTOS, L. M. **Processamento mínimo de alface crespa**. Comunicado Técnico 36. Embrapa. Brasília, DF. 2008.

MOTA, S. B.; VON SPERLING, M. **Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção**. Rio de Janeiro: ABES, 428 p. 2009. ISBN: 978-85-7022-164-3

MOTTIN, T. S. **Bioquímica do Tecido Animal**. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.

MOURA, M. H. G. et al. **Análise das águas dos poços artesianos do campus CAVG - UFPEL**. 2ª Mostra de Trabalhos de Tecnologia Ambiental. Rio Grande do Sul: Pelotas, 2009.

MURPHY, S. **General information in turbidity**. City of Boulder/USGS/Water Quality Monitoring. 2006. Disponível em: <<http://bcn.boulder.co.us/basin/data/BACT/info/Turb.html>>. Acesso em: 30 set. 2017.

MURRAY, P. R. et al. **Microbiologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.

NAKAJO, K. et al. Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen *Enterococcus faecalis*. **Oral Microbiology Immunology**, 21(5), p. 283-288. 2006.

NASCIMENTO, E. D.; ALENCAR, F. L. S. Eficiência antimicrobiana e antiparasitária de desinfetantes na higienização de hortaliças na cidade de Natal – RN. **Ciência e Natura**, v. 36 n. 2 mai-ago. 2014, p. 92–106.

NATAL, D.; MENEZES, R. M. T.; MUCCI, J. L. N. Fundamentos de Ecologia humana. In: PHILIPPI JR, A. (Ed). **Saneamento, Saúde e Ambiente**. Barueri/SP; Manole, 2005.

NDIAYE, M. L. et al. Effect of irrigation water and processing on the microbial quality of lettuces produced and sold on markets in dakar (Senegal). **Irrigation and Drainage**, v.60, p.509-517, 2011.

ODONKOR, S. T.; AMPOFO, J. K. *Escherichia coli* as an Indicator of Bacteriological Quality of Water: An Overview. **Microbiology Research**. Vol 4, n.1. 2013. doi: 10.4081/mr.2013.e2

OLIVEIRA, A. B. A. **Comparação de diferentes protocolos de higienização de alface (*Lactuca sativa*) utilizada em restaurantes de Porto Alegre - RS**. 2005. 58 f. Dissertações (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) - Faculdade de Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 2005.

OLIVEIRA, R. **Avaliação da contaminação microbiológica durante as etapas do ciclo de produção do morangueiro**. 2009. (Monografia apresentada à disciplina de Estágio em Patologia (BP024)), curso de Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

OLIVEIRA, V. S. **Qualidade de Água de Poços Tubulares Utilizada no Cultivo de Hortaliças**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 2018.

OLIVO, A. M.; ISHIKI, H, M. **Brasil Frente a Escassez de Água**. **Colloquium Humanarum**, Presidente Prudente, v. 11, n. 3, p.41-48. 2014. doi: 10.5747/ch.2014.v11.n3.h170.

PÁDUA, V. L. DE; FERREIRA, A. C. DA S. Qualidade da água para consumo humano. In: **Abastecimento de água para consumo humano**. Belo Horizonte: UFMG, 2006. p. 153-221.

PARADELLA, T. C.; KOGA-ITO, C. Y.; JORGE, A. O. C. *Enterococcus faecalis*: considerações clínicas e microbiológicas. **Revista de Odontologia da UNESP**. 36(2): 163-68. 2007.

PARTRIDGE, S. R. Analysis of antibiotic resistance regions in Gram-negative bacteria, **FEMS Microbiology Veterinary**. 35(5): 820-55. 2011.

PESSOA, I. C. **Perfil de resistência a antimicrobianos de bactérias isoladas de amostras de águas das escolas estaduais de Boa Vista-RR**. 2011. 101p. Dissertação (Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais). Boa Vista: Universidade Federal de Roraima.

PIDDOCK, L. J. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 19, n.2, p. 382 - 402, Jan. 2006.

PINTO, A. L.; OLIVEIRA, G. H.; PEREIRA, G. A. Avaliação da Eficiência da Utilização do Oxigênio Dissolvido como Principal Indicador da Qualidade das Águas Superficiais da Bacia do Córrego Bom Jardim, Brasilândia/MS. **Revista GEOMAE**, v.1, n.1, p.69 – 82. 2010. ISSN 2178-3306

POOLE, K.; SRIKUMAR, R. Multidrug efflux in *Pseudomonas aeruginosa*: components, mechanisms and clinical significance. **Current Topics in Medicinal Chemistry**. v.1, p. 59 - 71, 2001.

RAHMAN, M. S.; ENCARNACION, G.; CAMPER, A. K. Nitrification and potential control mechanisms in simulated premises plumbing. **Water Research**, v. 45, n. 17, p. 5511-5522, 2011.

RASHEED, M. U. et al. Antimicrobial Drug Resistance in Strains of *Escherichia coli* Isolated From Food Sources. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.56, n.4, p.341-346, 2014. doi:10.1590/S0036-46652014000400012

RATTI, B. A., BRUSTOLIN, B. F., SIQUEIRA, T. A., TORQUATO, A. S. **Pesquisa de coliformes totais e fecais em amostras de água coletadas no bairro zona sete, na cidade de Maringá-PR**. Anais do VII EPCC - Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar, Maringá, Brasil, 2011. Disponível em:

<[http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2011/anais/bianca_altrao_ratti%20\(1\).pdf](http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2011/anais/bianca_altrao_ratti%20(1).pdf)>. Acesso em: 30 de dez. 2017.

REBOUÇAS, A. **Uso inteligente da água**. São Paulo: Escrituras Editora, 2004.

REGITANO, J. B.; LEAL, R. M. P.. Comportamento e Impacto Ambiental de Antibióticos Usados na Produção Animal Brasileira. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, 34:601-616, 2010.

RESENDE, A. V. **Agricultura e Qualidade da água: contaminação da água por nitrato**. Planaltina: EMBRAPA: Cerrados, 29 p. 2002. ISSSN 1517-5111; n.57.

RIZZO, L. et al. Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: a review. **Science Total Environment**. Mar 1;447:345–360. 2013. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.01.032

ROBERTS, M. C. Update on acquired tetracycline resistance genes. **FEMS Microbiology Letters**. 245(2):195-203. 2005. Review.

RODRIGUES, J. *Escherichia coli* e o surto de colite na Europa. **Universo Feminino**, Botucatu, p. 284/3 - 286/3. 12 ago. 2011. Disponível em: <<https://www3.fmb.unesp.br/emv/pluginfile.php/15479/mod.../escherichiaColi.pdf>>. Acesso em: 11 de ago. 2017.

ROSAS, J. C.. et al. Presence of faecal coliforms, *Escherichia coli* and diarrheagenic *E. coli* pathotypes in ready-to-eat salads, from an area where crops are irrigated with untreated sewage water. **International Journal of Food Microbiology**, v.156, p.176–180, 2012.

SACRAMENTO, A. G. **Caracterização molecular de *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina em amostras clínicas, ambientes aquáticos e alimentos**. 112p. Tese de (Doutorado) Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. 2015.

SÁENZ, Y. et al. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates obtained from animals, foods and humans in Spain. **International Journal Antimicrobiology Agents**. 18:353-358, PubMed. 2001.

SALOMONI, S. E.; ROCHA, O.; LEITE, E. H. Limnological characterization of

Gravataí river, Rio Grande do Sul State, Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**. v.19, n. 1, p. 1 - 14, 2007.

SANTANA, L. R. R. et al. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. v. 26, n.2, 264-269, 2006.

SANTANA, N. R. F. et al. Índice de Qualidade da Água nas Nascentes do Rio Piauitinga - SE por Análise Multivariada e o uso na Irrigação. **Revista Brasileira Agricultura. Irr.** v. 10, nº 6, Fortaleza, p. 999 – 1010. 2016. doi: 10.7127/rbai.v10n600441

SANTOS, F. R. **Qualidade da Água na Bacia Hidrográfica do Rio Ivaí, Estado do Paraná, a Partir da Utilização de Parâmetros Físico, Químicos e Microbiológicos**. 2013. 46f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental) Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão.

SANTOS, H. S., et al. Avaliação da eficácia da água sanitária na sanitização de alfaces (*Lactuca sativa*). **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, 71(1):56-60. 2012.

SANTOS, Y. O. et al. Hygienic-sanitary quality of vegetables and evaluation of treatments for the elimination of indigenous *E. coli* and *E. coli* O157:H7 from the surface of leaves of lettuce (*Lactuca sativa*L.). **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 1083-1098, 2010.

SCHERER, K. et al. Avaliação bacteriológica e físico-química de águas de irrigação, solo e alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista Ambiente & Água**, v. 11, n. 3, 2016. <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1829>

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**. 22:11-7. 2009.

SCHOLTEN, C.; LOPES, L.G.; AMARAL, L.A. Dinâmica da Poluição Fecal nas Águas do Córrego Rico, Manancial de Abastecimento da Cidade de Jaboticabal-SP. **ARS Veterinaria**, Jaboticabal, SP, v.28, n.3, 177-184, 2012. ISSN 2175-0106.

SEAB – Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. DERAL - Departamento de Economia Rural. **Olericultura - Análise da Conjuntura Agropecuária**. Outubro de 2013.

SEAB – Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. DERAL - Departamento de Economia Rural. **Olericultura - Análise da Conjuntura Agropecuária**. Março de 2015.

SEAB – Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. DERAL - Departamento de Economia Rural. **Olericultura - Análise da Conjuntura Agropecuária**. Novembro de 2017.

SEMA. Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos. **Bacias Hidrográficas do Paraná**. Série Histórica. Curitiba, 2010. Disponível em: <http://www.meioambiente.pr.gov.br/arquivos/File/corh/Revista_Bacias_Hidrograficas_do_Parana.pdf>. Acesso em: 5 set 2017.

SETTI DE LIZ, R. **Etapas para o planejamento e implantação de horta urbana**. Comunicado Técnico 39. Embrapa. Brasília, DF. ISSN 1414-9850 Dezembro, 2006.

SILVA, B. C.; CALHEIROS, H. C. Águas Superficiais. In: Nogueira, L. A. H.; Capaz, R. S. (Org(s)). **Ciências ambientais para engenharia**. Rio de Janeiro: Elsevier. p. 85-121. 2014. ISBN 978-85-352-7739-5, ISBN (versão eletrônica) 978-85-352-7743-2.

SILVA, F. V. **Avaliação da contaminação das águas subterrâneas por atividade cemiterial na cidade de Maceió - AL**. 2012. 150 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia: Recursos Hídricos e Saneamento). Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Maceió, 2012.

SILVA, I. N. et al. Qualidade de água na irrigação. **ACSA – Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 07, n. 3, jul./set. p. 01-05, 2011. ISSN 1808-6845

SILVA JUNIOR, V. P. E. et al. Calibração de turbidímetro para estimativa da concentração de sedimento em suspensão como parâmetro de qualidade. In: **Simpósio de Recursos Hídricos do Nordeste**, 11. 2012. João Pessoa. Anais...Paraíba, XI Simpósio de Recursos Hídricos do Nordeste.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica da água**. 5 ed. São Paulo: Blusher, 2017. 560 p. ISBN: 978-85-212-1225-6

SILVA, R. C. A.; ARAUJO, T. M. Qualidade da água do manancial subterrâneo em áreas urbanas de Feira de Santana (BA). **Revista Ciência & Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro. v. 8, n4, p.1019-1028. 2003.

SILVA, S. A.; OLIVEIRA, R. de. **Manual de análises físico-químicas de águas de abastecimento e residuárias**. Campina Grande, Paraíba: O Autor, 2001.

SILVA, W. T. L. **Saneamento básico rural** – Brasília, DF: Embrapa, ABC da Agricultura Familiar, 37. 68 p. 2014. ISBN 978-85-7035-376-4

SLAVCHEV, G.; PISAREVA, E.; MARKOVA, N. Virulence of Uropathogenic *Escherichia coli* Virulence factors (VFs). **Journal of Culture Collections**, v. 6, p. 3-9, 2009.

SNOW, D. D. et al. Detection, Occurrence, and Fate of Emerging Contaminants in Agricultural Environments. **Water Environment Research**, v 81, n10, 941–958. 2009. Disponível em: <<http://digitalcommons.unl.edu/watercenterpubs/9>>. Acesso em: 21 set. 2017.

SOUZA, J. R. **Avaliação da qualidade da água em trechos do Rio Almada (Sul da Bahia) e seus usos múltiplos**. Dissertação (Mestrado) – Ilhéus, BA: UESC, 2013. 90f. Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós – Graduação em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente

SOUZA, J. R. et al. A Importância da Qualidade da Água e os seus Múltiplos Usos: Caso Rio Almada, Sul da Bahia, Brasil. **REDE - Revista Eletrônica do Prodepa**, v.8, n.1, p. 26-45, abr. 2014, Fortaleza, Brasil, ISSN: 1982-5528. Disponível em: <<http://www.revistarede.ufc.br/revista/index.php/rede>>. Acesso em: 25 de jan. 2017.

SOUZA, K..S.; PIO, M. C. S.; SANTANA, G. P. Análise química e bacteriológica da água de irrigação utilizada na Comunidade Agrícola Nova Esperança, Manaus – AM. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 6, n. 3, p. 242-249, setembro-dezembro, 2012. ISSN 1982-8470.

STEPANEK, J. J. et al. Dual mechanism of action of the atypical tetracycline chelocardin. **Biochimica et Biophysica Acta**. Proteins Proteomics, 1864, 645–654. 2016.

STEELE, M.; ODUMERU, J. Irrigation water as source of foodborne pathogens on fruit and vegetables. **Journal of Food Protection**. 67:2839–2849. 2004.

STUMPF, M. et al., Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **The Science of the Total Environment**. 225: 135-141. 1999.
Disponível em:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969798003398>. Acesso em: 02 abr.de 2017.

SUBBARAO, G. V. et al. Scope and Strategies for Regulation of Nitrification in Agricultural Systems-Challenges and Opportunities. **Critical Reviews in Plant Sciences**, 25: 303-335. 2007.

SUU, A. et al. Unified pH Values of Liquid Chromatography Mobile Phases. **Analytical Chemical**, 87, 2623-2630, 2015.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 33(3):281-301, mai-jun, 2000.

TEIXEIRA, A. C. S. C.; PONTE VIDA, T. **Tratamento de Água Contaminada com o Antibiótico Ciprofloxacina por Meio de Oxidação por Ozônio**. Departamento de Engenharia Química- Escola Politécnica - Universidade de São Paulo (USP) 21º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP. 2013.

TENOVER, F. C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bactéria. **American Journal of Medicine. Bethesda**. v.34, n. 5, p. 3-10. 2006.

TERNES, T. A. et al. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Science Total Environment**. 225, 81.1999.

TOLEDO, M. R. F. Edwardsiella-Citrobacter-Klebsiella-Enterobacter-Hafnia-Serratia-Morganella-Providencia. In.: TRABULSI, L.R. et al. **Microbiologia**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, p.247-249. 2002.

THOMAS, C. M.; NIELSEN, K. M. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. **Nature Reviews Microbiology**, Londres, v. 3, p. 711– 721, 2005.

TOMAZONI, J. C.; et al. Utilização de medidas de turbidez na quantificação da movimentação de sólidos por veiculação hídrica nas 70 bacias dos rios Anta Gorda, Brinco, Coxilha Rica e Jirau - sudoeste do estado do Paraná. **Boletim Paranaense de Geociências**, v.57, p. 49-56, 2005.

TOSETTO, E. M.; CARDOSO, I. M.; FURTADO, S. D. C.. A importância dos animais nas propriedades familiares rurais agroecológicas. **Revista Brasileira de Agroecologia**. 8(3): 12-25. 2013. ISSN: 1980-9735. Disponível em: <http://orgprints.org/26046/1/Toseto_A%20importancia%20dos%20Animais.pdf>. Acesso em: 11 set. 2017.

TRIVEDI, H. B.; VEDIYA, S. D. Assessment of nitrate contamination of the groundwater samples in Bhiloda Taluka of Sabarkantha district, Gujarat. **International Journal of Pharmacy and Life Sciences**. v. 3, n.11, p. 2103–2106. 2012.

TRUCHADO, P. et al. Suitability of different *Escherichia coli* enumeration techniques to assess the microbial quality of different irrigation water sources. **Food Microbiology**. 58, 29 e 35. 2016.

TUNDISI, J. G. **Recursos hídricos no Brasil: problemas, desafios e estratégias para o futuro / (coordenador)**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 2014. 76 p.

TUNDISI, J. G. **Recursos Hídricos**. Instituto Internacional de Ecologia, São Carlos, 2003. Disponível em: <http://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_01/A3_Tundisi_port.PDF>. Acesso em: 17 mai. 2018.

USEPA. Environmental Protection Agency. **Basic information about nitrate in drinking water**. 2013. Disponível em: <<http://water.epa.gov/drink/contaminants/basicinformation/nitrate.cfm>>. Acesso em: 21 jan. 2018.

_____. Environmental Protection Agency Office of Water. **Method 1103.1: Escherichia coli (E. coli) in Water by Membrane Filtration Using membrane-Thermotolerant Escherichia coli Agar (mTEC)**. 2010. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-08/documents/method_1103-1_2010.pdf>. Acesso em: 20 set. 2017.

_____. Environmental Protection Agency. **Monitoring water quality. Volunteer stream monitoring: a methods manual**. Office of Water 4503F. EPA 841 B 97003.

1997. Disponível em: <<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/stream.pdf>>. Acesso em 17 de set 2017.

_____. Environment Protection Authority. **Guidelines Regulatory monitoring and testing Water and wastewater sampling**. ISBN 978- June 2007. ISBN 978-1-921125-47-8

UYTTENDAELE, M. L. A. et al. Microbial Hazards in irrigation Water: Standards, Norms, and Testing to Manage Use of Water in Fresh Produce Primary Production. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, vol.14:336-356. 2015. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12133>.

VAN DEN BOGAARD, A. E.; STOBBERINGH, E. E. Epidemiology of resistance to antibiotics links between animals and humans. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.14, p.327-335, 2000.

VAN DYK, B. N. et al. Microbiological Food Safety Status of Commercially Produced Tomatoes from Production to Marketing. **Journal of Food Protection**, vol. 79, n. 3, 392-406. 2016. doi:10.4315/0362-028X.JFP-15-300

VAN HANDEL, A.; KATO, M.; VON SPERLING, M. In: MOTA, F. S. B.; VON SPERLING, M. **Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção**. v. 2, PROSAB, Fortaleza, 2009.

VESILIND, P. A.; MORGAN, S. M. **Introdução à engenharia ambiental**. 2 ed. São Paulo: Cengage Learning, 2013.

VICTORINO, C. J. A. **Planeta água morrendo de sede: uma visão analítica na metodologia do uso e abuso dos recursos hídricos**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007. 231 p. ISBN 978-85-7430-661-2.

VIJAYAKUMAR, C.; WOLF-HALL, C. E. Minimum bacteriostatic and bacterial concentration of household sanitizers for *Escherichia coli* strains tryptic soy broth. **Food Microbiology**, v. 19, p. 383-388. 2002.

VOGT, R. L.; DIPPOLD, L. *Escherichia coli* O157:H7 Outbreak Associated with Consumption of Ground Beef, June-July 2002. **Public Health Reports**. v. 120 Mar.–Apr. 2005.

VON SPERLING, M. **Estudo e modelagem da qualidade da água de rios**. Belo Horizonte: UFMG, 588 p., 2007.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3. ed. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG/Departamento de Engenharia Sanitária, 2005. v.1, 452p.

WALDNER, D. N.; LOOPER, M. L. Water for dairy cattle. Cooperative Extension Service, New Mexico State University. **Guide D-107**, p. 1-5. 2007. Disponível em: <<http://osuextra.com/pdfs/F-42>. Acesso em: 25 jan. 2018.

WANG, G.; DOYLE, M. P. Survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in water. **Journal of Food Protection**. 61: p. 662-667. 1998. PubMed

WANG, G.; ZHAO, T.; DOYLE, M. P. Fate of enterohamorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovine feces. **Applied and Environmental Microbiology**. 62, 2567-2570. 1996.

WILLIAMS, J. D. β -lactamases and β -lactamase inhibitors. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.12, n. 3-7, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(99\)00085-0](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(99)00085-0)

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for drinking-water quality**. 2006. Disponível em: <http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq0506.pdf>. Acesso em: 17 jan. 2018.

WOLKMER, M. F. S.; PIMMEL, N. F. Política nacional de recursos hídricos: governança água e cidadania ambiental. **Revista Sequência**, Florianópolis, v. 34, n. 67, Dez. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2177-70552013000200007&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 22 jul. 2014.

WONGSANIT, J. et al. Contamination of nitrate in groundwater and its potential human health: a case study of lower Mae Klong river basin, Thailand. **Environmental Science & Pollution Research**. v. 22 n.15, p.11504-11512. 2015.

ZERWES, C. M. et al. Análise da qualidade da água de poços artesianos do município de Imigrante, Vale do Taquari/RS. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 37, n.4 set-dez. p. 651-663. 2015. doi: <http://dx.doi.org/105902/2179460X17385>

ZULPO, D. L. et al. Avaliação microbiológica da água consumida nos bebedouros da Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n 1, p. 107-110, 2006.

APÊNDICE

APÊNDICE A



Ministério da Educação
 Universidade Tecnológica Federal do Paraná
 Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
 Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental¹
 Câmpus Apucarana e Londrina



APÊNDICE A – TERMO DE AUTORIZAÇÃO INSTITUCIONAL

Apucarana, 25 de novembro de 2016.

Aos Srs. Produtores:

1. Orlando Carlos Lorenzini
2. Carlos Terada
3. Virginia Piacentini
4. Elenice Fatobeni dos Santos
5. Claudio Gerelus
6. Claudinei Braga
7. Gilmar Rodrigues Alves
8. Jurandir Messias da Machado
9. João Marcelo Barbosa
10. Leonilda Ananias Costa

Eu Vera Lúcia Delmônico Vilela, aluna do Curso de Pós Graduação em Engenharia Ambiental - Câmpus Apucarana e Londrina da UTFPR, tendo como requisito, apresentar a Dissertação de Mestrado com o seguinte título: **Qualidade da Água de Mananciais Empregados na Irrigação e Lavagem de Hortaliças da Região de Apucarana, Paraná** venho por meio deste, solicitar a permissão para realizar esta pesquisa que tem por objetivo principal "Avaliar a qualidade microbiológica e físico-química de águas destinadas à irrigação e lavagem de hortaliças em propriedades rurais da região de Apucarana, Paraná".

O estudo será realizado através da coleta de amostras de água dos locais supracitados bem como pela aplicação de um questionário, pelo qual obterei informações adicionais pertinentes e necessárias que muito contribuirão com a pesquisa.

A sua participação será voluntária e de total importância, no entanto você poderá retirar seu consentimento a qualquer momento, caso seja sua vontade. Pela

¹ Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental (40006018023PE) – UTFPR/Câmpus Apucarana e Londrina. Nível: Mestrado Acadêmico. Reconhecimento: Homologado pelo CNE com Conceito 3. Portaria MEC nº 1.324 de 08/11/2012, DOU 09/11/2012, sec. 1, pg. 8.

ul



Ministério da Educação
 Universidade Tecnológica Federal do Paraná
 Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
 Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental
 Câmpus Apucarana e Londrina



participação no estudo, a pesquisadora e o participante da pesquisa não se responsabilizarão por quaisquer ônus, bem como não será oferecido qualquer bônus.

Esclareço que os dados de pesquisa são para objetivo único de estudo e estarão disponíveis para serem apresentadas a vossa pessoa quando solicitar.

Certo de poder contar com vossa colaboração, antecipo meus agradecimentos.

Atenciosamente,


 Pesquisadora/Aluna de Pós-Graduação


 Proprietário(a) 1


 Proprietário(a) 2



 Proprietário(a) 3


 Proprietário(a) 4


 Proprietário(a) 5

 Proprietário(a) 6


 Proprietário(a) 7


 Proprietário(a) 8


 Proprietário(a) 9


 Proprietário(a) 10



APÊNDICE B**QUESTIONÁRIO SEMIESTRUTURADO**

Caro(a) produtor (a),

Este questionário é parte de minha pesquisa de dissertação de mestrado do Curso de Pós Graduação em Engenharia Ambiental da UTFPR Campus de Londrina, intitulado: “QUALIDADE DA ÁGUA DE MANANCIAIS EMPREGADOS NA IRRIGAÇÃO E LAVAGEM DE HORTALIÇAS DA REGIÃO DE APUCARANA, PARANÁ”. Suas respostas serão importantes para a fase exploratória deste estudo. Por favor, responda as questões abaixo e em data previamente combinada, voltarei para recolhê-lo.

Desde já agradeço a sua colaboração.

Aluna do Programa de Pós-Graduação de Engenharia Ambiental - Vera Lúcia Delmônico Vilela

Apucarana – Julho de 2017

Área Cultivada:

Nome do proprietário:

Grau de Escolaridade:

1) Quais as hortaliças são produzidas na propriedade?

2) Recebe alguma orientação para o cultivo?

() Sim () Não

3) Se sim, de quem?

4) Qual o tipo de fonte de água usada na irrigação das hortaliças?

5) Qual o sistema utilizado para irrigação das hortaliças?

() aspersão () gotejamento () por canais

6) Quantas vezes é realizada a irrigação durante o dia?

7) Utiliza adubação na cultura?

() Sim () Não

8) Se sim, qual o tipo de adubo utilizado?

9) Existe fossa na propriedade?

() Sim () Não

10) Se sim, que tipo de fossa?

11) A quantos metros está localizada da produção?

12) Existe ou mantém algum tipo de criação de animais nas proximidades da produção?

() Sim () Não

Se sim, a quantos metros? _____

13) As hortaliças passam por lavagem após a colheita?

() Sim () Não () Algumas

14) Qual o tipo de fonte de água é utilizado para a lavagem das hortaliças?

15) Faz uso de algum produto químico na água de lavagem?

() Sim () Não

16) Se sim, qual produto utiliza?

17) Como são armazenadas as hortaliças após a lavagem?

18) Qual o meio de transporte utilizado e qual o tempo gasto para chegar até o destino de venda?

19) A distribuição das hortaliças é feita para quais tipo(s) de local(ais) de comercialização?

ANEXO

ANEXO A

UNIVERSIDADE
TECNOLÓGICA FEDERAL DO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: QUALIDADE DA ÁGUA DE MANANCIAIS EMPREGADOS NA IRRIGAÇÃO E LAVAGEM DE HORTALIÇAS DA REGIÃO DE APUCARANA, PARANÁ

Pesquisador: Vera Lucia Delmonico Vilela

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 67919717.4.0000.5547

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.133.528

Apresentação do Projeto:

Segundo autora cada vez mais comprometida, a qualidade dos recursos de água doce evidencia a necessidade de se atentar para a adoção de medidas que garantam as propriedades físicas, químicas e microbiológicas da água. Tais critérios com base em seus usos podem assegurar a qualidade da água compatível com os usos a que forem destinadas (BORTOLI, 2016). Distintas fontes hídricas podem ser utilizadas para a produção primária dependendo da disponibilidade e da sua qualidade. Predominantemente, a água superficial de rios, córregos, represas, lagos, canais e poços subterrâneos (MARQUELLI et al., 2014) são fontes de maior utilização para diversas atividades, incluindo o abastecimento das populações e a irrigação na maioria dos países (SILVA; CAVALHEIROS, 2014; UYTENDAELE et al., 2015; ALLENDE; MONAGHAN, 2015). Considera-se que a água de irrigação é a principal fonte de risco de contaminação de microrganismos patogênicos na produção primária de produtos frescos (EFSA, 2014; GIL, 2015). Bactérias, protozoários, vírus e parasitas são microrganismos que geralmente estão presentes em águas contaminadas ou alimentos (GERMANO; GERMANO 2001). As primeiras quando patogênicas são responsáveis por casos de enterites, diarreias e doença como a febre tifoide, que pode causar morte (EDUARDO, 2005). As hortaliças folhosas predominam expressivamente como um veículo de contaminação alimentar (NÓBREGA, 2002), já que oferecem condições apropriadas, a exemplo de suas estruturas

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-001

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-4404

E-mail: coep@utfpr.edu.br

Continuação do Parecer: 2.133.528

morfológicas foliares ou lesões ocorridas no tecido vegetal, por inclusão em biofilmes na filosfera ou internalização dentro da planta, que permitem a retenção e a sobrevivência de patógenos entéricos que nelas se depositam (ROLIM; TORRES, 1992; GÓMEZ-LÓPEZ et al., (2008).

Hipótese

Segundo a autora os mananciais destinados irrigação em questão podem estar perdendo a integridade devido a ocupação e uso do seu entorno.

METODOLOGIA

Segundo a autora os recursos hídricos serão provenientes de 10 propriedades rurais da região de Apucarana, sendo selecionados dentro do critério de mananciais superficiais e subterrâneos, incluindo rios, minas e poços respectivamente. As coletas de amostras serão realizadas durante os meses de julho e setembro de 2017, conforme autorização prévia dos proprietários, totalizando 20 amostras de água por período. As coletas serão realizadas na ausência de chuva por pelo menos 72 horas visando minimizar a contaminação decorrente desta. As amostras de água serão coletadas em frascos de vidro de volume de 250 mL, previamente esterilizados em autoclave a 121°C. Para a identificação e quantificação das bactérias potencialmente patogênicas presentes nas amostras de água de irrigação e lavagem de hortaliças será utilizado o meio BD Difco CHROMagar Orientation. O meio BD Difco CHROMagar Orientation é destinado ao cultivo de bactérias que permite a diferenciação e identificação de *Escherichia coli* e *Enterococcus* sem necessidade de realizar testes confirmativos, como ainda, possibilita a identificação presuntiva da maioria das estirpes de *Staphylococcus saprophyticus* e *S. agalactiae*, bem como dos grupos *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* (-KES) e *Proteus-Morganella-Providencia* (-PMP) através da coloração da colônia e do meio. Após a homogeneização das amostras, será retirada uma alíquota de 0,1 mL de água efetuando o espalhamento nas placas com auxílio de swab. O processo será executado em triplicata para cada uma das amostras de água. Posteriormente, as placas inoculadas serão incubadas em posição invertida em condições aeróbias, a uma temperatura entre 35±2 °C, durante 20 a 24 horas. O passo seguinte será a contagem e identificação das colônias de acordo com suas características tintórias indicadas na Ficha Técnica do Produto BD Difco CHROMagar Orientation Medium (2011). A contagem de coliformes totais será dada pelo método nº 9222-B-9-54 da Técnica de Filtração em Membrana, recomendado pelo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, com uso do meio M-Endo, e realizada a confirmação em Caldo Bile Verde Brilhante incubado a 35 °C por 48 horas. A contagem é dada pela contagem

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3185

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-901

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-4404

E-mail: coe@utfpr.edu.br

Continuação do Projeto: 2-133.538

direta das placas do meio Endo em unidade formadora de colônia/100mL (UFC/100mL). As colônias Indicativas de bactérias potencialmente patogênicas serão selecionadas para a realização de isolamento de culturas puras para posterior procedimento de testes de susceptibilidade a antibióticos. As colônias Isoladas passarão por testes de coloração de Gram. Com a obtenção das culturas puras, os Isolados serão estocados em meio de cultura Ágar BHI com 10% de glicerol em temperatura de -20°C, e posteriormente Incidirão os testes de susceptibilidade. Para as análises físico-químicas das amostras serão coletados 2000 mL em frasco com tampa, previamente higienizados. As amostras de água serão acondicionadas em caixa térmica com gelo a fim de manter as amostras refrigeradas, garantindo a conservação de suas propriedades até o momento da análise. Os resultados de ambas as análises serão comparados aos parâmetros preconizados pela Portaria do CONAMA nº 357/2005 para a atividade da Irrigação. Serão avaliados o Potencial Hidrogeniônico (pH - Método 4500 B), Temperatura, Oxigênio dissolvido (OD - Método 4500 G), Turbidez (Método 2130 B), Sólidos Totais (ST - Método 2540 B), Nitrito (Método 4500-NO₂- A) e Nitrato (Método 4500 NO₃- B), seguindo a metodologia indicada por Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2012) e posteriormente que serão comparados aos limites preconizados pela Resolução Conama (2005) para a atividade de Irrigação. Pretende-se também aplicar um questionário aos proprietários rurais para a tomada de dados referentes aos usos das fontes de abastecimento como, consumo de água e características dos sistemas de abastecimento e uso e ocupação do solo do entorno após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UTFPR. Serão obtidas as médias e desvios-padrão para os parâmetros tomados entre todas as coletas realizadas, sendo submetidas à análise de variância ANOVA, caso a distribuição dos dados seja próximo da Normal será feito um teste específico. Em seguida passará pelo teste de Tuckey ao nível de confiança de 5%, para verificar se ocorre diferença significativa nos índices de contaminação entre os tipos de mananciais, utilizando-se o software Bioestatística 5.0. Em casos de Inconformidade nos padrões da qualidade de Irrigação será formulado um planejamento que vise ações minimizadoras.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO:

INCLUSÃO

Segundo autora os participantes da pesquisa devem se ajustar ao critério de: produtores de hortaliças de consumo In natura que fazem uso de água de mananciais superficiais e subterrâneos na Irrigação, sendo eles, maiores de 18 anos, Independente do gênero e que residam na região de Apucarana, Paraná.

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-901

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-4464

E-mail: coep@utfpr.edu.br

Continuação do Parecer: 2.130.520

EXCLUSÃO

A autora estão excluídos os produtores de hortaliças que não sejam consumidas cruas, uma vez que estes alimentos passam por cocção fazendo com que o produto fique livre da contaminação presente anteriormente. Produtores que fazem irrigação de hortaliças com água que recebam cloração, não serão inseridos na pesquisa, visto que o tratamento prévio também interfere na microbiota da água a ser analisada. Justifica-se a exclusão nesses termos, diante da relação a ser feita entre os resultados das análises com os padrões recomendados pela resolução Conama para a finalidade de irrigação de hortaliças que não utilizam qualquer processo de preparo antes da sua ingestão, salvo a sua higienização.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Segundo autora avaliar a qualidade microbiológica e físico-química de águas destinadas à irrigação e lavagem de hortaliças em propriedades rurais da região de Apucarana, Paraná.

Objetivo Secundário:

Segundo autora, como objetivos secundários serão de quantificar a presença Coliformes Totais e *Escherichia coli* em águas de irrigação; verificar a presença de bactérias potencialmente patogênicas; avaliar a ocorrência de resistência a antibióticos dos isolados bacterianos; avaliar as possíveis causas da origem da contaminação existente; verificar o atendimento ao enquadramento dos padrões da água definidos pela resolução vigente; apresentar propostas de ações preventivas/cometivas que contribuam com a minimização da contaminação por microrganismos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Segundo autora pode ocorrer um risco mínimo no momento de responder ao questionário, podendo causar ao participante da pesquisa um certo stress ou outro desconforto. Dessa forma, o questionário foi constituído por questões de fácil entendimento e que requerem respostas objetivas e sucintas, visando à prevenção do incômodo, e assim evitar ou minimizar qualquer alteração nas variáveis fisiológicas, psicológicas ou sociais dos participantes envolvidos no estudo. Mesmos assim, para suprimir quaisquer que sejam os desconfortos, o questionário poderá se

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-901

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-4404

E-mail: coep@utfpr.edu.br

Continuação do Parecer: 2.133.528

levado para casa, afim de que seja preenchido com total tranquilidade, de acordo com a disponibilidade que houver para seu preenchimento.

Benefícios:

Segundo autora a participação no preenchimento do questionário será de extrema importância, pois as informações dadas auxiliarão na compreensão e conclusão dos resultados obtidos, que decorrerão também das análises de campo. Ao final da pesquisa, os resultados das análises demonstrarão as condições da qualidade da água utilizada na irrigação e na lavagem de hortaliças da propriedade. Será dado ao participante, o suporte na adoção de medidas que garantam a preservação, ou que auxiliem no controle da qualidade microbiológica do manancial utilizado, tal como na qualidade da sua produção. A pesquisa poderá originar uma maior conscientização quanto à preservação de mananciais hídricos para que estes estejam adequados à finalidade proposta, exibindo os padrões necessários exigidos pela resolução Conama. A pesquisa fornecerá ainda como contribuição um alerta de vigilância quanto ao risco de exposição da saúde dos produtores e consumidores frente à contaminação microbiológica da água na produção de alimentos, fato esse de importância na Saúde Pública.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto tem relevância em sua execução, pois por meio do mesmo buscar-se analisar a qualidade da água utilizada em hortaliças podendo com isso evitar problemas de Saúde Pública e de conscientização quanto à preservação de mananciais hídricos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Atende a resolução 456/2012.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Conforme solicitado no parecer consubstanciado (arquivo denominado PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_2058462.pdf)

1 – Incluir no TCLE item objetivo da pesquisa que a mesma será em propriedades rurais da região de Apucarana, Paraná, ou seja, deve-se padronizar a informação apresentada no objetivo primário

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-901

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-4404

E-mail: coep@utfpr.edu.br

Continuação do Parecer: 2.130.528

preenchido na plataforma Brasil. Atendido.

2 – Apresentar o questionário a ser aplicado em documento anexo na plataforma Brasil de forma Individualizada, ou seja, em documento único. Atendido.

3 – Padronizar as informações e itens apresentados nos cronogramas dos documentos anexados na plataforma Brasil denominados PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_658462 e QUALIFICACAO_VERA_2017. Atendido.

4 – Foi exposto na metodologia apresentada na Plataforma Brasil (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_658462) e no cronograma dos documentos apresentados na plataforma Brasil que haveria coleta de água em abril, lembro que é necessário alterar tal informação, pois o CEP não aprovará nenhum projeto já em execução. Atendido.

5 – No TCLE, Item 8 - Ressarcimento e Indenização. Explicitar neste item, a garantia de ressarcimento e como serão cobertas as despesas tidas pelos participantes da pesquisa e dela decorrentes, como também a explicitação da garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa, conforme Resolução 466 de 2002 Item IV 3. Letras g e h. Atendido.

6 - Favor incluir no final do TCLE a informação que deve conter duas vias iguais de tal documento, sendo uma pertencente ao pesquisador e outra ao sujeito de pesquisa (Ver modelo Página CEP-UTFPR). Atendido.

7- Incluir na metodologia da proposta dentro da plataforma a aplicação do questionário aos produtores rurais. Atendido.

Considerações Finais a critério do CEP:

Lembramos aos senhores pesquisadores que, no cumprimento das atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) deverá receber relatórios anuais sobre o andamento do estudo, bem como a qualquer tempo e a critério do pesquisador nos casos de relevância, além do envio dos relatos de eventos adversos, para conhecimento deste Comitê. Salientamos ainda, a necessidade de relatório completo ao final do estudo. Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-901

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-4494

E-mail: coep@utfpr.edu.br

Continuação do Parecer: 2.103.528

apresentadas ao CEP-UTFPR de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_658462.pdf	28/05/2017 00:56:48		Acelto
Outros	QUESTIONARIO_produtores.pdf	28/05/2017 00:43:55	Vera Lucia Delmonico Vilela	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	QUALIFICACAO_VERA_2017.pdf	28/05/2017 00:42:20	Vera Lucia Delmonico Vilela	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_alimentos.pdf	28/05/2017 00:41:52	Vera Lucia Delmonico Vilela	Acelto
Folha de Rosto	FOLHADEROSTO1.pdf	30/04/2017 22:27:23	Vera Lucia Delmonico Vilela	Acelto
Outros	AUTORIZACAO_PROP.pdf	30/04/2017 22:17:59	Vera Lucia Delmonico Vilela	Acelto

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CURITIBA, 22 de Junho de 2017

Assinado por:
Frieda Saldia Barros
(Coordenador)

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

CEP: 80.230-901

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-4404

E-mail: coep@utfpr.edu.br