

ANÁLISE BACTERIOLÓGICA DA ÁGUA E O PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS DAS ESCHERICHIA COLI ISOLADAS

WATER BACTERIOLOGICAL ANALYSIS AND THE ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY PROFILE OF ISOLATED ESCHERICHIA COLI

ANÁLISIS BACTERIOLOGICO DEL AGUA Y EL PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS ESCHERICHIA COLI AISLADAS

Wellington Felipe da Costa¹, Karoline Rosa da Silva Teixeira², Rafaela Rodrigues de Mello³, Andreza Auxiliadora de Arruda Marques⁴, Tainara Medeiros Lima Ajuz⁵, Erenita Dias dos Santos⁶, Leticia Souza dos Santos⁷, Viviane Karolina Vivi⁸

RESUMO

Objetivo: analisar a qualidade microbiológica das águas residenciais e dos rios Cuiabá e Coxipó, assim como determinar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das estirpes de *Escherichia coli* isoladas. **Método:** foram coletadas 42 amostras de água no município de Cuiabá-MT, sendo 40 residenciais e uma de cada rio. Realizou-se testes para coliformes totais e termotolerantes, semeadura em ágar EMB, prova de indol e teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA). **Resultados:** 2,5% das amostras residenciais e as duas amostras fluviais foram positivas para coliformes totais e termotolerantes. Através dos testes bioquímicos, foram isoladas e identificadas sete estirpes de *E. coli* das amostras dos rios. No TSA, constatou-se que as bactérias de estudo foram sensíveis a oito antimicrobianos testados, demonstrando resistência somente à penicilina G. **Conclusão:** mesmo com as intempéries inerentes ao sistema de distribuição, a qualidade da água que chega nas residências cuiabanas é majoritariamente ideal. As águas dos rios estão sendo impactadas pelo despejo de esgotos *in natura*. A alta sensibilidade das estirpes dos rios aos antimicrobianos indica

¹ Biomédico. Mestrando em Ciências (Microbiologia) pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Departamento de Microbiologia Médica. Rio de Janeiro - RJ - Brasil. E-mail: wellfecosta@gmail.com. **Autor principal** - Endereço para correspondência: Av. Pedro Calmon, 550 - Cidade Universitária, Rio de Janeiro - RJ, CEP 21941-901.

² Biomédica. Bacharel em Biomedicina. Centro Universitário Cândido Rondon - Unirondon. Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. E-mail: karolinerosast@hotmail.com

³ Biomédica. Bacharel em Biomedicina. Centro Universitário Cândido Rondon - Unirondon. Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. E-mail: rafaela-esp@hotmail.es

⁴ Biomédica. Bacharel em Biomedicina. Centro Universitário Cândido Rondon - Unirondon. Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. E-mail: Marques_Andreza@hotmail.com

⁵ Biomédica. Bacharel em Biomedicina. Centro Universitário Cândido Rondon - Unirondon. Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. E-mail: taiinaraajuz@hotmail.com

⁶ Biomédica. Bacharel em Biomedicina. Centro Universitário Cândido Rondon - Unirondon. Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. E-mail: erenita_dias@hotmail.com

⁷ Biomédica. Bacharel em Biomedicina. Centro Universitário Cândido Rondon - Unirondon. Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. E-mail: souzaleticia2012@gmail.com

⁸ Bióloga. Mestre em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada). Centro Universitário Cândido Rondon - Unirondon. Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. E-mail: karolinvivi@gmail.com

que ou se originaram de animais silvestres ou de humanos e animais domésticos que pouco entraram em contato com antimicrobianos para produzir pressão seletiva nas estirpes de *E. coli* da microbiota.

Descritores: Análise Bacteriológica; *Escherichia coli*; Coliformes; Poluentes da Água; Resistência Microbiana a Medicamentos

ABSTRACT

Objective: to evaluate the microbiological quality of residential and Cuiabá and Coxipó rivers water, and to determine the antimicrobial susceptibility profile of isolated *Escherichia coli* strains. **Method:** 42 water samples were collected in the city of Cuiabá-MT, 40 residential and one in the river. We conducted tests for total and thermotolerant coliforms, sowing on agar EMB, indole test and susceptibility testing to antimicrobial (STA). **Results:** 2.5% of residential samples and two river samples were positive for total and thermotolerant coliforms. By means of biochemical tests, they were isolated and identified seven strains of *E. coli* from rivers samples. In the TSA, it was found that the study of bacteria were sensitive to eight antimicrobials tested, showing only resistance to penicillin G. **Conclusion:** even with the elements inherent to the distribution system, the quality of water arriving at cuiabanas homes is mostly ideal. The rivers' waters are being impacted by the disposal of sewage in natura. The high sensitivity of the strains from rivers to antimicrobials indicates that either originated from wild animals or humans and domestic animals that came little into contact with antimicrobials to produce selective pressure on strains of *E. coli* microbiota.

Descriptors: Bacteriological Analysis; *Escherichia coli*; Coliforms; Water Pollutants; Drug Resistance, Microbial.

RESUMEN

Objetivo: evaluar la calidad microbiológica del agua residencial y ríos Cuiabá y Coxipó, así como determinar el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli* aisladas. **Método:** se recogieron 42 muestras de agua en la ciudad de Cuiabá, 40 residenciales y una en cada río. Se realizaron pruebas para coliformes totales y termotolerantes, siembra en agar EMB, prueba de indol y pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos (PSA). **Resultados:** el 2,5% de las muestras residenciales y dos muestras de los ríos fueron positivos para coliformes totales y termotolerantes. Por medio de pruebas bioquímicas, se aislaron y se identificaron siete cepas de *E. coli* en las muestras de ríos. En el PSA, las bacterias en estudio fueron sensibles a ocho antimicrobianos analizados, mostrando sólo resistencia a la penicilina G. **Conclusión:** incluso con los elementos inherentes al sistema de distribución, la calidad del agua que llega a los hogares cuiabanos es, en su mayoría, ideal. Las aguas de los ríos están siendo afectados por la eliminación de aguas residuales in natura. La alta sensibilidad de las cepas de los ríos a los antimicrobianos indica que, o bien se originó a partir de animales salvajes o de humanos y animales domésticos que poco contactaron con antimicrobianos para producir una presión selectiva sobre las cepas de *E. coli* de la microbiota.

Descriptor: Análisis Bacteriológico; *Escherichia coli*; Coliformes; Contaminantes del Agua; Farmacorresistencia Microbiana.

INTRODUÇÃO

A água é um elemento fundamental para a sobrevivência da espécie humana¹. Ao ser disponibilizada, não deve demonstrar alterações em sua composição química, física ou biológica, pois, caso contrário, estaria em condições inadequadas para a utilização, e o seu consumo seria prejudicial à saúde individual e coletiva.

Segundo a Organização Mundial de Saúde, a ausência de saneamento básico somada à falta de higiene, podem causar a presença de bactérias, fungos, vírus e parasitas, o que ocasiona cerca de 842.000 mil mortes/ano por doenças diarreicas².

Uma parcela expressiva desses organismos carregados pela água são microrganismos patogênicos de origem fecal e, por isso, são chamados patógenos entéricos³, sendo, o principal grupo indicador de contaminação da água, o grupo coliforme.

Este grupo, também chamado de coliformes totais, é formado por bacilos Gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não esporulantes, oxidase-negativos, capazes de crescer na presença de sais biliares ou agentes tensoativos, fermentadores de lactose com produção de ácido, gás e aldeído a $35,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ em 24/48 horas, e que podem apresentar a enzima β -galactosidase⁴⁻⁶. É constituído principalmente por bactérias pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella*⁵. Vários desses coliformes podem não ter origem fecal, e por isso, esse grupo não pode não demonstrar fidedignamente a contaminação das águas por fezes. Com isso, os coliformes termotolerantes, um grupo mais estrito, é utilizado como indicador.

Os coliformes termotolerantes constituem-se um subgrupo do coliformes, e além das características compartilhadas, são capazes de se desenvolver e/ou fermentar a lactose com produção de gás a $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ em 24 horas. A espécie representante é a *Escherichia coli*⁴⁻⁶, que apesar de ocorrer normalmente no intestino de seres humanos e animais de sangue quente, está também associada frequentemente a diferentes patologias intestinais e extra-intestinais, tais como infecções do trato urinário (ITU), bacteremia, pneumonia e meningite⁷⁻⁹. Dada a sua elevada importância para a saúde pública, a presença de *E. coli* em água remete a outra preocupação: a possibilidade de resistência aos antimicrobianos.

Estirpes de *E. coli* resistentes a antibióticos têm sido isoladas de diversas fontes de água, tais como as subterrâneas, de rios e de esgoto¹⁰⁻¹¹. Caso o tratamento de água não seja eficaz ou a bactéria resista ao mesmo, essas poderão estar presentes na rede

de distribuição que chegam ao consumidor. Por isso, o monitoramento intermitente dos mananciais e redes de distribuição tornam-se essenciais.

A cidade de Cuiabá, capital do estado de Mato Grosso, possui uma população estimada em 585.367 habitantes¹², abastecida, principalmente pelos rios Cuiabá e Coxipó. Dentre essas fontes, as águas do rio Cuiabá suprem as necessidades de aproximadamente 95% da população do município, sendo que das oito estações de tratamento de água (ETA) presentes, sete estão localizadas no rio Cuiabá e uma, no rio Coxipó¹³.

O sistema de abastecimento de água de Cuiabá atende 99% da população e possui um índice de perdas durante a distribuição chegando a 60%, enquanto o sistema de esgotamento sanitário atende aproximadamente 38% da população, sendo que somente 28% conta com os serviços de coleta e tratamento. Dessa maneira, há um expressivo volume de esgoto *in natura* sendo despejados nos Rios Cuiabá e Coxipó todos os dias¹³.

Diante da situação apresentada, o objetivo do presente estudo foi analisar a qualidade microbiológica das águas que chegam às residências e das águas dos rios Cuiabá e Coxipó, assim como determinar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das estirpes de *Escherichia coli* isoladas.

MÉTODO

O experimento foi realizado durante o período entre os dias 21 de Junho e 02 de Setembro de 2015, onde foram coletadas 42 amostras de água por todo o território do município de Cuiabá-MT. Dessas, 40 foram coletadas de residências de forma aleatória pelo município. Cuiabá foi subdividida em quatro regiões, sendo que cada região continha 10 bairros previamente sorteados e selecionados, cuja amostragem ocorreu pela coleta de uma amostra por bairro.

As quatro regiões do município consistiram em Região Norte (RN), Região Oeste (RO), Região Leste (RL) e Região Sul (RS), conforme subdivisão geopolítica da Prefeitura de Cuiabá¹⁴. As duas amostras restantes foram coletadas nos rios Cuiabá e Coxipó, sendo uma de cada rio.

Apenas residências com torneira no hidrômetro, foram selecionadas para amostragem. Dessa forma, facilitou a análise da água proveniente da rede de distribuição e evitou interferentes como caixa d'água contaminada ou afins.

Ao se coletar a amostra de água, imergiu-se a boca da torneira em uma solução de hipoclorito de sódio a 100 mg/L para a desinfecção e posteriormente deixou-se a água escorrer por dois minutos. Então, foram coletados 125 mL de água em frasco de vidro estéril contendo 0,1 mL de tiosulfato de sódio 10% e foram transportados em refrigeração para o laboratório, como recomendado pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA)¹⁵.

A coleta de amostras dos rios foram realizadas a cerca de 200m das bombas de captação de água de duas ETAs (ETA Tijucal I, Rio Coxipó; e ETA CoopHEMA, Rio Cuiabá), mergulhando-se o coletor de vidro estéril até 15cm da lâmina d'água para coleta de amostra de superfície e medindo-se a profundidade dos rios naquele ponto.

Os testes para coliformes totais que contém os testes presuntivos e confirmativos, e de coliformes termotolerantes foram realizados pelo método dos tubos múltiplos com uma série de cinco tubos conforme preconizado pelo Manual Prático de Análise de Água da FUNASA¹⁵.

O teste presuntivo para coliformes totais consistiu na inoculação de 10 mL de amostra de água homogenizada manualmente em cinco tubos, contendo 10 mL de Caldo Lactose (Kasvi®) em concentração dupla e tubo de Durhan invertido. Os cultivos foram incubados a $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 24/48 horas. As amostras foram consideradas positivas quando ocorreu a turvação do caldo e formação de bolha de gás no interior do tubo de Durhan após o período de incubação. Com isso, as amostras positivadas seguiram para o teste confirmativo para coliformes totais e para o teste para coliformes termotolerantes, realizados simultaneamente.

O teste confirmativo para coliformes totais consistiu na inoculação de 10 μL de cultura dos tubos positivos no teste presuntivo em tubos contendo 10 mL de Caldo Verde Brilhante Bile 2% (Oxoid®) e tubos de Durhan invertidos. O cultivo foi incubado durante 24/48 horas a $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Os tubos turvados e com formação de bolha de gás no tubo de Durhan foram considerados positivos. O número de tubos positivos foram comparadas com a tabela 2 do Manual Prático de Análise de Água da FUNASA¹⁵ para determinação do número mais provável (NMP)/100 mL.

Por sua vez, o teste para coliformes termotolerantes foi realizado em tubos contendo 10 mL de Caldo *Escherichia coli* (Kasvi®) e tubo de Durham invertido. Dez microlitros da cultura dos tubos positivos no teste presuntivo foram inoculados e o preparado foi incubado em banho-maria a $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 horas. Os tubos que obtiveram formação de gás no tubo de Durham foram considerados positivos e o resultado foi comparado do mesmo modo supracitado para determinação do NMP/100 mL.

Ao ocorrer a positivação para coliformes termotolerantes, fez-se o repique para o ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) (Himedia®) com a finalidade de selecionar colônias de *E. coli*, uma vez, que este é um meio seletivo para membros da família Enterobacteriaceae fermentadores e não fermentadores de lactose. As colônias sugestivas de *E. coli* no presente ágar deveriam apresentar-se como colônias de centro escuro com camada metálico esverdeada¹⁶.

A prova de indol foi realizada em caldo triptona 1%, sendo utilizada para a diferenciação bioquímica da *E. coli* com as demais espécies de Enterobacteriaceae. A prova é considerada positiva quando adicionado ao cultivo o reativo de Kovacs ou de Ehrlich e houver a produção de um anel vermelho na superfície¹⁷.

No teste de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de disco-difusão foram utilizados os discos (Laborclin®) de penicilina G (10 U), ceftazidima (30 µg), tetraciclina (30 µg), cloranfenicol (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), trimetoprim-sulfametoxazol (1,25/23,75 µg), gentamicina (10 µg), imipenem (10 µg) e amoxicilina-ácido clavulânico (20/10 µg), em Ágar Mueller-Hinton (Kasvi®) previamente preparado e esterilizado conforme recomendações do fabricante. A suspensão bacteriana foi preparada diluindo-se a estirpe de *E. coli* encontrada na amostra ambiental em solução fisiológica esterilizada, atingindo aproximadamente $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias (UFC)/mL, o que corresponde a 0,5 da escala nefelométrica de Mc Farland. O controle de qualidade utilizado foi a cepa de *E. coli* ATCC 25922¹⁸, sendo o tamanho dos halos de inibição aferidos com auxílio de paquímetro, permitindo dessa maneira classificar as estirpes em resistentes ou sensíveis frente aos antimicrobianos com base nas recomendações do CLSI¹⁹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A água destinada para o consumo humano deve atender a um padrão de potabilidade, ou seja, deve estar tratada e limpa, sendo esta submetida a processos físico-químicos para a retirada de contaminações, seja esta de ascendência microbiológica, química, física ou radioativa, a fim de que eventualmente não ofereça risco à saúde humana²⁰⁻²¹.

Nos testes realizados para coliformes totais e coliformes termotolerantes, apenas a amostra RN001 foi considerada positiva, equivalente a 2,5% do total de amostras provenientes de residências. Ambas as amostras oriundas dos rios Cuiabá e Coxipó foram consideradas positivas para os respectivos testes (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultados dos testes presuntivos e confirmativos para Coliformes Totais, do teste para coliformes termotolerantes e o Número Mais Provável (NMP/100mL) de amostras de água residenciais e de rios em Cuiabá-MT, 2015.

Teste	Amostras	Nº	Positivo	%	Negativo	%	ID	NMP/100mL
Presuntivo	Residenciais	40	2	5	38	95	RN001	> 16,0
							RN010	2,2
	Rios	2	2	100	0	0	Cuiabá	> 16
							Coxipó	> 16
Confirmativo	Residenciais	40	1	2,5	39	97,5	RN001	> 16,0
							RN010	< 2,2
	Rios	2	2	100	0	0	Cuiabá	16
							Coxipó	> 16,0
Termotolerantes	Residenciais	40	1	2,5	39	97,5	RN001	> 16,0
							RN010	< 2,2
	Rios	2	2	100	0	0	Cuiabá	16
							Coxipó	> 16,0

Fonte: Primária

De acordos com estes resultados, constatou-se a semelhança com os obtidos por Campos *et. al.*, 2002, que ao analisar a água distribuída pelo sistema de abastecimento público em Araraquara-SP, verificou a ausência de coliformes totais em 100% das amostras analisadas²², porém diferem das análises efetuadas por Scuracchio (2010) em escolas no município de São Carlos-SP, com 22,5% das amostras positivas²⁰.

A amostra RN001 também sendo positiva para coliformes termotolerantes expõe resultado satisfatório ao ser comparado aos encontrados por Moura *et. al.*, 2002, onde, pode-se concluir que a água proveniente da rede captadora em escolas públicas de Recife-PE, encontraram bactérias do grupo coliformes termotolerantes em 15% de amostras analisadas²³, número superior ao desta pesquisa.

As amostras dos rios Cuiabá e Coxipó apresentaram resultados similares aos obtidos por Vasconcellos *et. al.*, 2006, que ao analisar as águas do Rio São Lourenço, São

Lourenço do Sul-RS encontraram 100% de amostras positivas para coliformes totais e 93% para coliformes termotolerantes²⁴.

Os valores de coliformes totais e termotolerantes para a amostra RN001 estavam acima de 16,0 NMP/100 mL. De acordo com esse resultado, verificou-se que a amostra não está dentro dos limites preconizados pela Portaria n° 2.914/2011 do Ministério da Saúde em relação às determinações dos padrões de potabilidade. Esta norma prevê ausência de coliformes totais e de termotolerantes em 100 mL²¹, e desse modo, esta amostra não está apta para consumo humano.

Os valores de coliformes totais e termotolerantes para os rios Cuiabá e Coxipó foram de 16 e superior a 16,0 NMP/100 mL, respectivamente. Para o uso visando à recreação de contato primário é considerado satisfatório quando os valores de coliformes termotolerantes forem inferiores a 1000 NMP /100 mL²⁵. Dessa forma, os resultados dos testes para a amostra do rio Cuiabá demonstraram que esta foi considerada apta para o uso. Contudo, não é possível determinar se o NMP da amostra do rio Coxipó é maior que 1000 NMP, impossibilitando, assim, considerar se as águas desse rio ultrapassam ou não os níveis estabelecidos.

A água distribuída para a população pode não chegar da mesma maneira como ela saiu da estação de tratamento. Isto se deve ao fato de haver bactérias presentes nas paredes das tubulações, constituindo biofilmes microbianos os quais podem contaminar a água, sistema de distribuição, diminuir a concentração de cloro durante a distribuição, sendo uma possível falha no processo de tratamento ou, até mesmo, resistência da bacteriana durante o tratamento, seja associando-se a outros microrganismos ou através da formação dos referidos biofilmes²⁶.

A cidade de Cuiabá apresenta mais de 2.800 km de rede de distribuição¹³, abastecendo mais de 500.000 pessoas¹². É comum observar anormalidades que não devem estar presentes na água, tais como turvação, cor, odor e sabor. Dentre as 40 residências entrevistadas, cerca de 40% relataram a presença de elementos como terra, lodo, entre outros, na água, principalmente em período chuvoso.

As amostras colhidas nos rios Cuiabá e Coxipó foram de superfície e, normalmente, estas águas são as que mais necessitam de tratamento devido à contínua e maior exposição à poluição²⁷. A água é um recurso limitado, cuja qualidade vem sendo comprometida pelo crescente aumento populacional, má gestão de recursos hídricos, efluentes industriais, esgotos domésticos, agricultura, suinocultura, resíduos sólidos,

aquicultura, poluição difusa em áreas urbanas, salinização, acidentes ambientais, construção de barragens, mineração, desmatamento e manejo inadequado do solo²⁸.

A detecção de coliformes totais em amostras de águas não é necessariamente um indicativo de contaminação fecal ou ocorrência de enteropatógenos²⁹. Sua ausência é evidência de uma água bacteriologicamente potável, uma vez que os coliformes são mais resistentes na água que as bactérias patogênicas de origem intestinal³⁰. Porém, a presença de *E. coli* nos rios pode indicar a presença de outros enteropatógenos, já que ambos provem do intestino do homem e outros animais de sangue quente.

Diante dos resultados obtidos positivos do teste coliforme termotolerante, foram realizados repiques das amostras RN001 e dos rios Cuiabá e Coxipó para o ágar EMB, cuja finalidade foi selecionar as estirpes *E. coli* das amostras de água, que estão expressas na Tabela 2.

Tabela 2 - Presença ou ausência de colônias características para *E. coli* oriundas de amostras de água de Cuiabá-MT em cultivo em ágar EMB.

Amostras	Alíquotas	1º Repique em ágar BEM		2º Repique em ágar EMB	
		Colônias <i>E. coli</i>	Outras colônias	Colônias <i>E. coli</i>	Outras colônias
RN001	RN001 - 1	-	+	NR	NR
	RN001 - 2	-	+	NR	NR
	RN001 - 3	-	+	NR	NR
	RN001 - 4	-	+	NR	NR
	RN001 - 5	-	+	NR	NR
Rio Cuiabá	Rio Cuiabá - 1	+	+	+	-
	Rio Cuiabá - 2	+	+	+	+
	Rio Cuiabá - 4	+	+	+	+
	Rio Cuiabá - 5	+	+	-	+
Rio Coxipó	Rio Coxipó - 1	+	+	+	+
	Rio Coxipó - 2	+	+	+	+
	Rio Coxipó - 3	+	+	+	+
	Rio Coxipó - 4	+	+	+	+
	Rio Coxipó - 5	+	+	+	-

Legenda: (+): Positivo; (-): Negativo; NR: Não realizado.

Fonte: Primária

As alíquotas da amostra RN001 demonstraram ausência de colônias específicas de *E. coli*, não sendo necessário um segundo repique. Contudo, no primeiro repique todas as amostras dos rios apresentaram crescimento de colônias características de *E. coli*, já no segundo repique, somente a alíquota rio Cuiabá-5 não apresentou crescimento de colônias típicas de *E. coli*.

As colônias características para *E. coli* presentes no segundo repique foram transferidas para tubos com caldo triptona 1% para a realização da prova de indol. Os resultados estão explícitos na Tabela 3.

Tabela 3 - Resultados da prova de indol das amostras dos Rios Cuiabá e Coxipó.

Amostra	Alíquotas	Prova de indol
Rio Cuiabá	Rio Cuiabá - 1	-
	Rio Cuiabá - 2	+
	Rio Cuiabá - 4	+
Rio Coxipó	Rio Coxipó - 1	+
	Rio Coxipó - 2	+
	Rio Coxipó - 3	+
	Rio Coxipó - 4	+
	Rio Coxipó - 5	+

Legenda: (+): Positivo; (-): Negativo.

Fonte: *Primária*

A bactéria presente na alíquota rio Cuiabá-1 negativou na prova de indol, demonstrando ausência de *E. coli*. Entretanto, as alíquotas rio Cuiabá-2, rio Cuiabá-4 e todas as do rio Coxipó foram positivas na prova de indol, confirmando, a presença de *E. coli*.

Os resultados foram comparados com os limites estabelecidos pela Resolução n° 357 do CONAMA de 2005 para rios de Classe II. Sendo assim, devido à presença de *E. coli* nas águas dos rios Cuiabá e Coxipó, não seria aconselhável o uso dessa água sem o devido tratamento para o desenvolvimento de algumas atividades previstas para os rios de classe 2, como a recreação de contato primário, irrigação de hortaliças, plantas frutíferas, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto, à aquicultura e atividade de pesca³¹.

Números semelhantes aos desta pesquisa foram encontrados por Figueiredo (2012) onde, ao analisar a água da sub-bacia do rio Cuiabá-MT, obtendo-se níveis de *E. coli* acima dos limites permitidos pela Resolução n° 357, assim como, Souza *et. al.*, 2014, Morais *et. al.*, 2009 e Cunha *et. al.*, 2010 ao analisarem os rios Vermelho-MT, Cabeça-SP e Itanhém-BA, respectivamente³¹⁻³⁵.

É necessário salientar que as coletas nos rios foram realizadas no período de estiagem. Nesta fase, devido ao menor volume de água, há um maior potencial de estas

serem inadequadas, pois os rios apresentam níveis mais baixos e tendem a concentrar poluentes e agentes patogênicos³⁶.

Foram testadas sete cepas de *E. coli* oriundas das amostras dos rios no Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos, sendo duas do rio Cuiabá e cinco do rio Coxipó. Ao classificar os resultados em resistente ou sensível, de acordo com os dados do documento M100-S24 CLSI¹⁹, constatou-se que as estirpes de *E. coli* foram sensíveis a oito dos nove antimicrobianos testados, porém, demonstraram resistência à penicilina G. Também, algumas das estirpes demonstraram crescimento de uma ou mais colônias no interior do halo de inibição para certos antimicrobianos (Tabela 4).

Tabela 4 - Resultados do Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos das Amostras dos Rios Cuiabá e Coxipó Positivas para *E. coli*, Cuiabá-MT, 2015.

Amostras	Alíquotas	PEN G	GEN	AMC	CIP	IMP	SUT	CEF	CLO	TET
Rio Cuiabá	Rio Cuiabá-2-1	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	Rio Cuiabá-2-2	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	Rio Cuiabá-4-1	R	S	S	S	S	S*	S	S	S
	Rio Cuiabá-4-2	R	S	S	S	S	S	S	S	S
Rio Coxipó	Rio Coxipó-1-1	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	Rio Coxipó-1-2	R	S*	S*	S	S	S	S	S*	S*
	Rio Coxipó-2-1	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	Rio Coxipó-2-2	R	S	S*	S	S	S*	S	S	S
	Rio Coxipó-3-1	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	Rio Coxipó-3-2	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	Rio Coxipó-4-1	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	Rio Coxipó-4-2	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	Rio Coxipó-5-1	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	Rio Coxipó-5-2	R	S	S	S	S	S	S	S	S

Legenda: S - sensível; R - resistente; * - Crescimento de uma ou mais colônias no interior do halo de inibição; PEN G - penicilina G; GEN - gentamicina; AMC - amoxicilina + ácido clavulânico; CIP - ciprofloxacina; IMP - imipenem; SUT - sulfametoxazol + trimetoprim; CEF - ceftazidima; CLO - cloranfenicol; TET - tetraciclina.

Fonte: *Primária*.

Resultados similares de sensibilidade foram encontrados por Schneider et al. (2009), para os discos de gentamicina (100%) e ciprofloxacina (98,8%) em um estudo do perfil de sensibilidade a antimicrobianos de 104 cepas de *E. coli* isoladas de águas superficiais do rio Lajeado-Suruvi, Concórdia-SC em uma área de produção de suínos¹⁰. Wambugu et al. (2015) também relataram elevada sensibilidade a gentamicina (99,7%), a ceftazidima (97,5%) e ao cloranfenicol (96,2%) em um estudo do perfil de susceptibilidade a antimicrobianos dentre cepas de *E. coli* isoladas de 318 amostras de águas do rio Athi no condado de Machakos, Quênia³⁷.

A sensibilidade expressiva à gentamicina pode ser explicada pelo baixo uso desse fármaco em animais³⁸ e humanos. Enquanto que a sensibilidade a ciprofloxacina, uma cefalosporina de terceira geração, é explicada por ser mais comumente utilizada no tratamento de infecções bacterianas sistêmicas complicadas³⁷, o que indica o seu baixo uso em infecções da comunidade.

Todavia, os números demonstrados neste estudo vão de encontro com outros resultados de sensibilidade encontrados por Schneider et al. (2009), em que 10,58% das cepas apresentaram resistência a amoxicilina-ácido clavulânico; 15,4% ao cloranfenicol; e, 28,8% a tetraciclina¹⁰, ao passo que neste estudo, 100% das cepas de *E. coli* apresentaram sensibilidade aos mesmos antimicrobianos. Wambugu et al. (2015) também relatam resistência em suas amostras de amoxicilina-ácido clavulânico (46,2%), tetraciclina (20,1%) e ciprofloxacina (6,9%)³⁷.

O elevado percentual de resistência aos antimicrobianos das cepas isoladas por Schneider et al. (2009) pode ser explicado pelo uso veterinário dos antimicrobianos na produção animal intensiva, especialmente, a tetraciclina, e o direcionamento de efluentes do sistemas de tratamento de dejetos de origem animal e urbanos nos corpos hídricos¹⁰, tanto que o maior percentual de resistência a ciprofloxacina de *E. coli* no rio Athi foi nas amostras obtidas mais próximas do uso doméstico³⁷.

Souza et al. (2014), em um estudo da qualidade da água por indicadores ambientais e perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *E. coli* isoladas do rio Cascavel-PR, demonstraram que essas cepas isoladas de amostra do rio em perímetro urbano revelaram resistência à penicilina (100%), tetraciclina (100%) e cloranfenicol (12,5%)³³.

A significativa resistência a tetraciclina demonstrada no estudo de Schneider et al. (2009), no de Wambugu et al. (2015) e no de Souza et al. (2014) pode ser devido a sua utilização para o tratamento de doenças causadas por microrganismos Gram negativos, tanto na produção animal como humana^{10,33,37,39-40}. A ausência de resistência das cepas deste estudo à tetraciclina pode indicar que mesmo ocorrendo o despejo de esgotos domiciliares em grande escala nos rios Cuiabá e Coxipó, as cepas possivelmente foram oriundas de outras fontes que não humanas, uma vez, que se comparado ao estudo de Wambugu et al. (2015), menor percentual de resistência à tetraciclina foi obtida em amostra do rio Athi próxima ao local de cultivo de flores³⁷.

Nas adjacências do rio Cuiabá, a criação de suínos não ocorrem com frequência, porém, a ampliação de atividades como pecuária, agricultura, despejo de efluentes industriais e efluentes domésticos³² podem ter influenciado no aparecimento de cepas de *E. coli* na amostra de água desse rio. Também, no rio Coxipó, ocorre a diluição de efluentes domésticos e industriais⁴¹, causa que provavelmente influenciou no achado de *E. coli* na amostra desse rio. Todavia, constata-se que as cepas de *E. coli* nas duas amostras foram em sua maioria resistentes somente ao disco de penicilina G. Isso pode ser explicado pela popularidade da prescrição de penicilina para o uso humano e veterinário³³.

Outra característica das cepas isoladas neste estudo foi a expressiva sensibilidade aos demais antimicrobianos testados. Podendo indicar que mesmo as coletas dessas amostras terem ocorrido na região urbana dos rios, especialmente a da amostra do rio Cuiabá, em cujo ponto já havia recebido as águas do rio Coxipó e a maior parte dos efluentes da capital mato-grossense e sua vizinha, Várzea-Grande, as cepas de *E. coli* foram oriundas de animais silvestres de sangue quente em que geralmente a resistência aos antimicrobianos é menor ou, então, provenientes de humanos e animais domésticos que pouco entraram em contato com esses antimicrobianos para produzir pressão seletiva nas cepas de *E. coli* de sua microbiota.

CONCLUSÃO

A apresentação de somente uma amostra positiva (RN001) dentre 40, nos testes para coliformes totais e termotolerantes, demonstra que, de um modo geral, a água distribuída pela empresa fornecedora está apta para o consumo.

A alta sensibilidade aos antimicrobianos também indica que os rios Cuiabá e Coxipó, mesmo recebendo uma grande carga de efluentes urbanos e rurais, a maioria das cepas de *E. coli* possivelmente são de origem de animais silvestres em que a resistência aos antimicrobianos é menor ou, então, provenientes de humanos e animais domésticos que pouco entraram em contato com esses antimicrobianos para produzir pressão seletiva nas cepas de *E. coli* de sua microbiota.

Dentro desse contexto, mesmo diante da potabilidade das águas da rede de distribuição e da sensibilidade aos antimicrobianos das *E. coli* isoladas nos rios, em Cuiabá-MT, deve-se evitar que ocorra o aumento de coliformes e, em especial, de *E.*

coli. Sendo assim, é fundamental a implantação das políticas públicas para preservação e fiscalização dos rios, como tratamento do esgoto doméstico, industrial e rural. Também, vê-se a necessidade de implantação de medidas corretivas no setor em que houve positividade para coliformes totais e termotolerantes. Por fim, constata-se a necessidade de verificar se cepas de *E. coli* resistentes aos antimicrobianos são mais sensíveis aos fatores ambientais de seleção fora do hospedeiro que em seu interior.

Portanto, mais pesquisas são necessárias sobre esse importante tema na região de Cuiabá-MT para o monitoramento da qualidade da água.

REFERÊNCIAS

1. Bacci DC, Denise DC, Pataca EM. Educação para a água [Internet]. Estudos Avançados. 2008 [citado em 28 maio 2015]; 22(63):211-26. Disponível em: dx.doi.org/10.1590/S0103-40142008000200014
2. World Health Organization (US). Water-related diseases [Internet]. Genebra. 2014. Disponível em: http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases-risks/diseases/hepatitis/en/
3. Amaral ALP. Microrganismo indicadores de qualidade de água [Internet]. Belo Horizonte: UFMG, 2007 [citado em 28 maio 2015]. Disponível em: <http://docplayer.com.br/1011174-Microrganismos-indicadores-de-qualidade-de-agua.html>
4. Fundação Nacional de Saúde (BR). Manual prático de análise de água. Brasília. 2013. Disponível em: http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/manual_pratico_de_analise_de_agua_2.pdf
5. Nogueira G, Nakamura CV, Tognim MCB, Abreu Filho BA, Dias Filho BP. Microbiological quality of drinking water of urban and rural communities, Brazil. Rev Saúde Pública. 2003; 37(2):232-6.
6. McEgan R, Mootian G, Goodridge LD, Schaffner DW, Danyluk MD. Predicting Salmonella populations from biological, chemical, and physical indicators in Florida surface waters. Appl Environ Microbiol. 2013;79(13):4094-105.
7. Hu YY. Molecular typing of *ctx-m*-producing *Escherichia coli* isolates from environmental water, swine feces, specimens from healthy humans, and human patients. Appl Environ Microbiol. 2013; 79(19):5988-96.

8. Donnenberg MS. *Escherichia coli*: virulence mechanisms of a versatile pathogen. San Diego: Elsevier Science; 2002.
9. Pessoa IC. Perfil de resistência a antimicrobianos de bactérias isoladas de amostras de águas das escolas estaduais de Boa Vista-RR [dissertação]. Boa Vista: Universidade Federal de Roraima, Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais; 2011. 101p.
10. Schneider RN, 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*. 2009; 22:11-7
11. Tacão M, Correia A, Henriques I. Resistance to broad-spectrum antibiotics in aquatic systems: anthropogenic activities modulate the dissemination of *bla*_{ctx-m}-like genes. *Appl Environ Microbiol*. 2012; 78(12):4134-40.
12. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (BR). Estimativa da População de Cuiabá em 2016. Rio de Janeiro; 2016 [acesso em 2016 set. 10]. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=5103403>.
13. Prefeitura de Cuiabá (BR). Plano municipal de saneamento básico: abastecimento de água e esgotamento sanitário. Cuiabá; 2011 [acesso em 2016 set. 10]. Disponível em: http://www.cuiaba.mt.gov.br/upload/arquivo/plano_municipal_de_saneamento_vale.pdf.
14. Prefeitura Municipal de Cuiabá (BR). Composição dos bairros de Cuiabá. Cuiabá; 2013 [acesso em 2016 set. 10]. Disponível em: <http://www.cuiaba.mt.gov.br/upload/arquivo/ComposicaoDosBairrosdeCuiaba20132.pdf>
15. Fundação Nacional de Saúde (BR). Manual prático de análise de água. Brasília; 2013 [acesso em 2016 set. 10]. Disponível em: http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/manual_pratico_de_analise_de_agua_2.pdf
16. Madigan MT, Martinko JM, Dunlap PV, Clark DP. *Microbiologia de Brock*. Porto Alegre: Artmed; 2010.
17. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BR). *Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde*. Módulo 5: Tecnologias em serviços de saúde: descrição dos meios de cultura empregados nos exames microbiológicos. Brasília; 2013 [acesso em 2016 set. 10]. Disponível em: <http://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/item/tecnologias-em-servicos-de-saude-descricao-dos-meios-de-cultura-empregados-nos-exames-microbiologicos>.

18. Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard—eleventh edition [Internet]. CLSI document M02-A11. Wayne; 2012 [acesso em 2016 set. 10]. Disponível em: <https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=568d549b5dbbbd02ff8b4595&assetKey=AS%3A314956174561280%401452102811640>
19. Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement. CLSI document M100-S24. Wayne; 2014 [acesso em 2016 set. 10]. Disponível em: <http://www.gxcl.com/download/upload/CLSIM100-S24%E8%8B%B1%E6%96%87%E7%89%88.pdf>
20. Scuracchio PA. Qualidade da água utilizada para consumo em escolas no município de São Carlos - SP [dissertação]. Araraquara: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Mestrado em Alimentos e Nutrição; 2010. 59f.
21. Ministério da Saúde (BR). Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 14 dez. 2011. Disponível em: http://www.saude.mg.gov.br/index.php?option=com_gmg&controller=document&id=8014
22. Campos JADB, Farache Filho A, Faria JB. Qualidade sanitária da água distribuída para consumo humano pelo sistema de abastecimento público da cidade de Araraquara, SP [Internet]. Rev Alim Nutr. 2002 [citado em 15 out. 2015]; 13:117-29. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/822/703>
23. Moura GJB, Araújo JM, Sousa MFVQ, Calazans GMT. Análise bacteriológica da água em escolas públicas. (nl). Universidade Federal de Pernambuco [Internet]. 2002 [citado em 15 out. 15]. Disponível em: http://www.prac.ufpb.br/anais/lcbeu_anais/anais/saude/analisebacteriologica.pdf
24. Vasconcellos FCS, Iganci JRV, Ribeiro GA. Qualidade microbiológica da água do Rio São Lourenço, São Lourenço do Sul, Rio Grande do Sul. Arq Inst Biol. 2006; 73(2):177-81.
25. Vianna MB, Wasserman JC, Bastos OM, Barcellos RGS, Barbosa AS. Questão da qualidade bacteriológica da Água dos Rios Macacu, Caceribu, Guapi-Açu e Guapi-Macacu, RJ, Brasil. ENGEVISTA. 2013; 15(3):280-90.

26. Marquezi MC. Comparação de metodologias para a estimativa de número mais provável (nmp) de coliformes em amostras de água [dissertação]. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, Departamento de Ciências e Tecnologia de Alimentos; 2010. 113p.
27. Serviço Autônomo de Água e Esgoto de São Mateus - SAAE (BR). Tratamento: tratamento de água. São Mateus. 2013. Disponível em: <http://www.saaesma.com.br/agua/tratamento>
28. Ministério do Meio Ambiente (BR); Agencia Nacional das Águas - ANA (BR). Panorama da qualidade das águas subterrâneas no Brasil. Caderno de Recursos Hídricos 5. Brasília; 2007 [acesso em 2016 set. 10]. Disponível em: http://portalpnqa.ana.gov.br/Publicacao/PANORAMA_DO_ENQUADRAMENTO.pdf
29. Souza RMGL, Perrone MA. Padrões de potabilidade da água [Internet]. 2000 [citado em 14 out. 2015]; 2:12. Disponível em: <http://www.cvs.saude.sp.gov.br/antigo/pvol2.html>
30. Oliveira AS, Santos DC, Oliveira ENA, Brito JG, Silva JW. Qualidade da água para consumo humano distribuída pelo sistema de abastecimento público em Guarabira-PB. Rev Verde. 2012; 7(2):199-205.
31. Ministério do Meio Ambiente (BR). Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União. Brasília; 2005. Seção 1. (53):58-63. Disponível em: www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459
32. Figueiredo SB. Avaliação da qualidade da água da sub-bacia do rio Cuiabá-MT aplicando análise multivariada [dissertação]. Cuiabá - MT: Universidade Federal de Mato Grosso, Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos; 2012. 140f.
33. Souza M, Pinto FGS, Fruet TK, Piana PA, Moura AC. Water quality indicators for environmental and resistance profile of *Escherichia coli* strains isolated in Rio Cascavel, Paraná, Brazil. Eng Agríc. 2014; 34(2):352-62.
34. Moraes EB, Tauk-Tornisielo SM, Ventrini SE. Qualidade microbiológica das águas do rio cabeça - um afluente na bacia do rio Corumbataí - SP [Internet]. Rio Claro - SP: Faculdade Estadual Paulista, 2009 [citado em 28 out. 2015]; Disponível em: <https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uac>

t=8&ved=0CBwQFjAAahUKEwiAkczP3-

XIAhXEh5AKHTZyDcs&url=http%3A%2F%2Fwww.ambiente-
augm.ufscar.br%2Fuploads%2FA2-

072.doc&usq=AFQjCNGlAV2pfvmdASFAPgUrMwHN__4j6g&sig2=_ASmSuvncCgzASm9vyCX2
A

35. Cunha A, Tartler N, Santos R, Fortuna J. Análise microbiológica da água do rio Itanhém em Teixeira de Freitas - BA. *Rev Biocienc.* 2010; 16(2):86-93.

36. Calheiros DF, Oliveira MD. Contaminação de corpos d'água nas áreas urbanas de Corumbá e Ladário [Internet]. Embrapa Pantanal, Corumbá-MS. 2005 Nov [citado em 25 set. 2015]; (89):1-4. Disponível em: <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/ADM089.pdf>

37. Wambugu P, Habtu M, Impwi P, Matiru V, Kiiru J. Antimicrobial susceptibility profiles among *Escherichia coli* strains isolated from Athi river water in Machakos County, Kenya. *Adv Microbiol.* 2015; 5(10):711-19.

38. Tzoc E, Arias ML, Valiente C. Efecto de las aguas residuales hospitalarias sobre los patrones de resistência a antibióticos de *Escherichia* e *Aeromonas* sp. *Rev Bioméd.* 2004; 15:165-72.

39. Barcellos DESN, Sobestiansky J. Uso de antimicrobianos em suinocultura [Internet]. 1998 [citado em 14 out. 2015]; Art3, Goiânia. Disponível em: <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=436552&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22BARCELLOS,%20D.%22&qFacets=autoria:%22BARCELLOS,%20D.%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1>

40. Webster LF, Thompson BC, Fulton MH, Chestnut DE, Van Dolah RF, Leight AK. Identification of sources of *Escherichia coli* in South Carolina estuaries using antibiotic resistance analysis. *J Exp Marine Biol Ecol.* 2004; 298(2):179-95.

41. Rodrigues ACJ. Aplicação dos instrumentos de gestão de recursos hídricos “outorga” e “enquadramento” para o setor de saneamento no perímetro urbano da bacia do rio Coxipó - Cuiabá/MT [dissertação]. Cuiabá: Universidade Federal de Mato Grosso, Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais; 2013. 147p.

Conflito de interesses: Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Submissão: 05/09/2016

Como citar este artigo: Costa WF, Teixeira KRS, Mello RR, Marques AAA, Ajuz TML, Santos ED, *et al.* Análise bacteriológica da água e o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das *Escherichia coli* isoladas. *Journal Health NPEPS.* 2016; 1(2):160-177.

Aceito: 30/09/2016

Publicado: 09/12/2016