

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS**

**BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS ISOLADAS DE ÁGUAS
SUBTERRÂNEAS**

MILENA MARIANO MENDONÇA

DOURADOS – MS

2014

MILENA MARIANO MENDONÇA

**BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS ISOLADAS DE ÁGUAS
SUBTERRÂNEAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no curso de Biotecnologia, na Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD como requisito para obtenção do título de bacharel em Biotecnologia.

Orientador (a): **Dra.Kelly Mari Pires de Oliveira**

DOURADOS – MS

2014

MILENA MARIANO MENDONÇA

**BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS ISOLADAS DE ÁGUAS
SUBTERRÂNEAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no curso de Biotecnologia, na Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD como requisito para obtenção do título de bacharel em Biotecnologia.

BANCA EXAMINADORA:

Orientador (a): Prof.^a Dra. Kelly Mari Pires de Oliveira

Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz

Msc. Juliana Pimenta dos Reis Pereira Barros

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, o centro de minha vida, por ter me dado saúde e renovar a cada dia minhas forças para seguir essa caminhada, pela inspiração e por todos os bens que me permitiram concluir essa jornada de minha vida.

Aos meus pais Ivan e Meire, por todo ensinamento e carinho dado, por cada gota de suor oferecido para que eu pudesse concluir minha graduação, por oferecer-me seus ombros de gigantes para que eu pudesse me apoiar sempre que pensei em desistir e por possuírem força e um caráter incrível que seguirei como exemplo por toda minha vida.

Agradeço em especial a minha parceira de pesquisa Nayara, por todo ensinamento e auxílio dado para a realização deste trabalho.

Aos meus avós Henrique, Marizete, Mauro e Leonete por ser meu ponto de equilíbrio, me incentivando a cada escolha e dando suporte para a realização de cada tarefa.

Ao meu noivo Vitor Hugo, por todo amor, paciência, carinho e conselho dado, por não medir esforços em me ajudar em todos os momentos, por ser o motivo do meu sorriso e meu objetivo de vida.

Aos amados Demetrius e Miriam, por cada minuto de atenção, por toda ajuda dada sem nada pedir em troca e por todo ensinamento de vida me passado.

À minha família e aos meus amigos por sempre me oferecem sorrisos principalmente nos momentos mais difíceis, por todo carinho e incentivo dado e por tornar tão agradável percorrer essa caminhada.

À minha orientadora Kelly Mari companheira de caminhada ao longo da graduação, por sua dedicação e paciência ao me transmitir todo seu conhecimento, tornando possível a conclusão desse trabalho e me incentivando a crescer cada vez mais como pesquisadora.

E a todos aqueles que de alguma forma doaram um pouco de si para que a conclusão deste trabalho se tornasse possível, meus sinceros agradecimentos.

“O Reino de Deus é como um homem que lança a semente a terra. Dorme, levanta-se, de noite e de dia, e a semente brota e cresce sem ele o perceber. Pois a terra por si mesma produz, primeiro a planta, depois a espiga e, por último, o grão abundante na espiga. Quando o fruto amadurece, ele mete-lhe a foice, porque é chegada a hora da colheita”.

Mar 4, 26-29.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	7
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLO	9
INTRODUÇÃO	10
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 Água: fonte de vida e de riqueza	12
2.2 Aquíferos	12
2.3 tipos de aquíferos	13
2.4 Águas subterrâneas.....	15
2.5 Uso das águas subterrâneas	18
2.6 Impactos ambientais e qualidade das águas subterrâneas	19
2.7 Águas subterrâneas: uma questão de saúde pública.....	20
2.8 Bactérias heterotróficas em águas subterrâneas	21
2.9 Resistência bacteriana	21
3. OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICOS	23
3.1 Objetivo geral.....	23
3.2 Objetivos específicos.....	23
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
5. ANEXOS	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Bactérias heterotróficas Gram negativas isoladas de águas subterrâneas.....	36
Tabela 2: Bactérias heterotróficas Gram positivas isoladas de águas subterrâneas.....	37
Tabela 3: Perfil de resistência das bactérias Gram positivas isoladas de águas subterrâneas.....	47
Tabela 4: Perfil de resistência de <i>Serratia marcescens</i> , <i>Acinetobacter haemolyticus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isoladas de águas subterrâneas.....	48
Tabela 5: Perfil de resistência das bactérias Gram negativas isoladas de águas subterrâneas.....	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ilustração dos três tipos de aquíferos quanto a sua porosidade. Fonte: maisbiogeologia, 2009.....	13
Figura 2: Representação dos aquíferos livres e confinados. Fonte: Serviço Geológico do Brasil, 2014.....	15
Figura 3. Caracterização das zonas saturadas e não saturadas do subsolo. Fonte: Borghetti et al., 2004.....	17
Figura 4: Representação esquemática das diferentes camadas existentes de águas subterrâneas. Fonte: Heath, 1983.....	17
Figura 5: Regiões do Brasil que utilizam água subterrânea de forma exclusiva ou complementar. Fonte: ABAS.	18

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AN	Amicacina
AM	Ampicilina
CAZ	Ceftazidime
CRO	Ceftriaxone
CXM	Cefuroxima
CIP	Ciprofloxacina
CS	Colistina
BHI	Brain Heart Infusion
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CM	Clindamicina
CIP	Ciprofloxacina
EDTA	Ácido Etileno Diamono Tetracético
ETP	Ertapenem
E	Eritromicina
FA	Fusidic Acid
FEP	Cefepime
FOX	Cefoxitina
GM	Gentamicina
IPM	Imipenem
LNZ	Linezolid
MEM	Meropenem
MXF	Moxifloxacina
NOR	Norfloxacina
OX1	Oxacilina
P	Benzilpenicilina
PCA	Plate Count Agar
RA	Rifampicina
SAM	Ampicilina/Sulbactam
SXT	Trimetoprim/Sulfametoxazol
TZP	Piperacilina/Tazobactam
TGC	Tigeciclina
TEC	Teicoplanina
VA	Vancomicina

1. INTRODUÇÃO

A água, um recurso indispensável para a sobrevivência humana e de todas as espécies vivas, exerce uma influência decisiva na qualidade de vida das populações, especialmente na área do abastecimento, o qual tem forte impacto sobre a saúde pública (NETO; FERREIRA, 2007).

Os ambientes aquáticos são utilizados com distintas finalidades e seu consumo vem crescendo em todo mundo devido ao crescimento populacional, como consequência, uma pressão descontrolada é exercida sobre os ecossistemas aquáticos, provocando a destruição dos mesmos (DOUBRAWA, 2013). Sabendo que o planeta possui apenas 1% de água doce, que a contaminação de corpos d'água naturais é constante, que apenas 30% da população mundial tem garantia de água tratada, e que o uso de água contaminada é responsável por milhares de surtos de doenças, surge um pensamento de que é preciso uma mudança e que esta precisa ser feita o mais rápido possível (AMARAL, 2007).

Devido à alta poluição das águas superficiais e o alto custo para o seu tratamento, o consumo de águas subterrâneas cresceu substancialmente. No Brasil vários núcleos urbanos como indústrias, propriedades rurais, escolas, hospitais e outros estabelecimentos abastecem-se de água subterrânea de forma exclusiva ou complementar (TUCCI; CABRAL, 2003). Assim é necessário um rigoroso controle da qualidade da água, associadas ao controle da poluição como um todo, visto que, uma vez poluídas ou contaminadas necessita de um dispendioso trabalho e recurso financeiro para seu tratamento (CETESB, 2008). O principal propósito para a exigência da qualidade da água é a proteção à saúde pública (KEYLA, 2003).

Vários trabalhos (AMARAL et al., 2003; ROHDEN et al., 2009; COSTA et al., 2012) relatam sobre a contaminação de águas subterrâneas e atualmente alguns pesquisadores apresentam trabalhos mostrando a presença de micro-organismos isolados do ambiente apresentando elevado perfil de resistência (PEREIRA, 2013; BON, 2013; BASSO, 2013). Os micro-organismos resistentes a antimicrobianos entram no ambiente, em parte, através de dejetos de animais e humanos e muitos antimicrobianos de origem industrial circulam no ambiente aquático, potencialmente alterando os ecossistemas microbianos (BAQUERO et al., 2008).

D'Aguila, et al. (2000), concordam que os critérios adotados para garantir a qualidade da água, têm por objetivo favorecer o desenvolvimento de ações que, se implementadas junto à população garantirão a segurança do fornecimento de água através da, eliminação ou

redução dos contaminantes perigosos à saúde. Conhecer os micro-organismos contaminantes das águas subterrâneas e seu perfil de resistência aos antimicrobianos faz necessário para embasar políticas públicas para orientação sobre o consumo dessas águas e seu tratamento, assim o objetivo do presente trabalho foi identificar a ocorrência de bactérias heterotróficas em águas subterrâneas para consumo humano pelo método de espalhamento em placa e traçar o perfil de resistência das mesmas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Água: fonte de vida e de riqueza

A água é essencial para a manutenção da vida e todas as espécies vivas dependem da água para sua existência. Os ambientes aquáticos são utilizados com distintas finalidades, entre as quais se destacam o abastecimento de água, a geração de energia, a irrigação, a navegação, a aqüicultura, recreação, a harmonia paisagística, entre outras (LOPEZ-PILA et al., 2000; MORAES; JORDÃO, 2002; LEBARON et al., 2005).

A demanda de água vem crescendo em todo mundo devido ao crescimento populacional, como consequência, uma pressão descontrolada é exercida sobre os ecossistemas de água doce provocando a destruição dos mesmos, devido à poluição e uso inadequado (DOUBRAWA, 2013).

Sabendo que o planeta possui apenas 1% de água doce, que a contaminação de corpos d'água naturais é constante, que apenas 30% da população mundial têm garantia de água tratada e, que o uso de água contaminada é responsável por milhares de surtos de doenças e até a morte, surge o pensamento de que é necessária uma mudança e que esta precisa ser feita o mais rápido possível (AMARAL, 2007).

Por suas funções no abastecimento público, industrial e agropecuário, na preservação da vida aquática, no transporte e na recreação, a água constitui, atualmente, uma das principais preocupações mundiais no que diz respeito aos seus usos preponderantes e à sua manutenção como um bem de todos (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, 2001).

O grau de qualidade das águas é exigido de acordo com o uso que será feito das mesmas, isto é, as exigências quanto ao grau de pureza variam de acordo com o fim a que se destinará (NOGUEIRA et al., 2003).

2.2 Aquíferos

Aquíferos são formações geológicas (conjunto de rochas ou minerais com características próprias) constituídas por rochas permeáveis, capazes de armazenar água em seus poros ou fraturas (BORGUETTI et al., 2004), ou de acordo com CLEARY (2007), aquíferos são unidade rochosas ou de sedimentos, porosos e permeáveis, que armazenam e transmitem volumes significativos de água subterrânea passíveis de serem explorados pela sociedade.

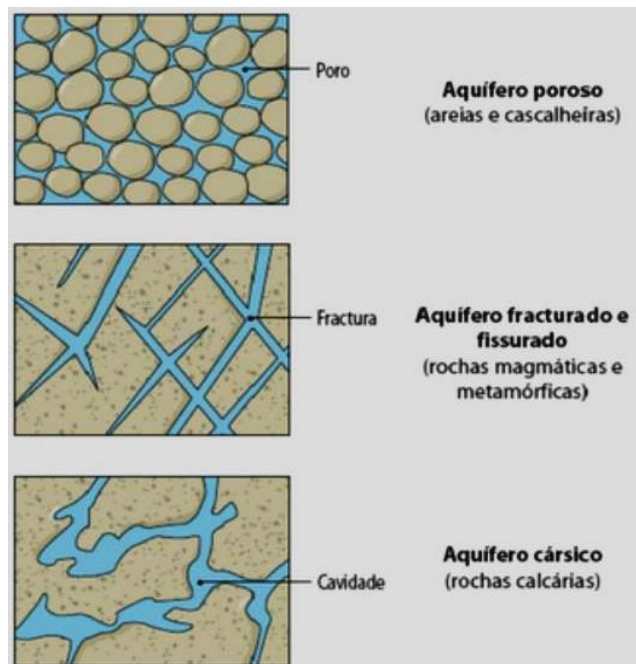
Segundo Borguetti et al. (2004), os tipos de aquíferos são determinados pela sua constituição geológica, que são formadas de diferentes origens, podendo ser, fluvial, lacustre, glacial e aluvial, eólica, vulcânica e metamórfica, sendo assim, a constituição geológica (porosidade/permeabilidade) do aquífero é que irá determinar a velocidade da água em seu meio, a qualidade da água e a sua qualidade como reservatório.

2.3 Tipos de aquíferos

Os aquíferos são classificados quanto a sua porosidade e segundo a pressão da água.

Existem três tipos de aquíferos de acordo com sua porosidade, classificados em: poroso, fissural e cárstico, conforme ilustra a figura 1.

Figura 1. Ilustração dos três tipos de aquíferos quanto a sua porosidade.



Fonte: maisbiogeologia, 2009.

Aquífero poroso ou sedimentar é constituído por rochas sedimentares consolidadas, sedimentos inconsolidados ou solos arenosos, no qual a circulação da água se faz pelos poros formados entre os grãos de areia, silte e argila de granulação variada. Constituem os mais importantes tipos de aquíferos devido ao grande volume de água que armazenam, e pela sua ocorrência em grandes áreas. Uma das peculiaridades desse tipo de aquífero é sua porosidade quase sempre homogênea, permitindo que a água flua para qualquer direção (BORGUETTI et al., 2004).

Aquífero fraturado ou fissural é formado por rochas ígneas, metamórficas ou cristalinas, duras e maciças, na qual a circulação da água se faz nas fraturas, fendas e falhas abertas devido ao movimento tectônico. A capacidade de armazenamento de água dessas rochas está relacionada com a quantidade de fraturas, aberturas e intercomunicações, permitindo a infiltração e fluxo da água. Poços perfurados nessas rochas fornecem poucos metros cúbicos de água por hora. Nestes aquíferos, a água só pode fluir onde existir fissuras, que, na maioria dos casos, tendem a ter orientações preferenciais (BORGUETTI et al., 2004).

Aquífero cárstico é formado por rochas calcáreas ou carbonáticas, onde a veiculação da água se faz nas fraturas e outras descontinuidades. Essas aberturas podem alcançar grandes dimensões, criando verdadeiros rios subterrâneos (BORGUETTI et al., 2004).

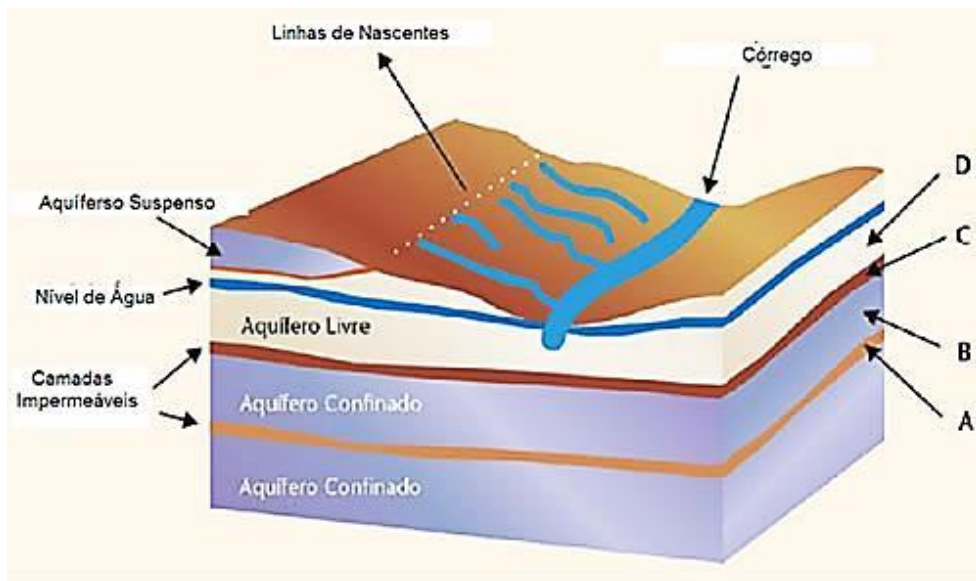
De acordo com a pressão da água os aquíferos são divididos em três classificações: aquíferos livres ou freáticos, aquíferos confinados ou artesianos e aquíferos suspensos os quais estão listados na figura 2.

Aquíferos livres ou freáticos são compostos por uma formação geológica permeável e superficial e é limitado na base por uma camada impermeável. A superfície superior da zona saturada está em equilíbrio com a pressão atmosférica, assim perfurando-se este aquífero o nível da água não varia. Nestes aquíferos o nível da água varia de acordo com a quantidade de chuva, sendo os mais comuns e mais explorados pela população, são também os que apresentam maiores problemas de contaminação (BORGUETTI et al., 2004).

Aquíferos confinados ou artesianos são constituídos por uma formação geológica permeável, confinada entre duas camadas impermeáveis ou semipermeáveis. A pressão da água neste tipo de aquífero é maior do que a pressão atmosférica naquele ponto, assim, perfurando-se este aquífero a água jorra do poço sem necessidade de equipamento de bombeamento. A sua recarga, através das chuvas se dá preferencialmente nos locais onde a formação aflora à superfície (BORGUETTI et al., 2004).

Nos aquíferos suspensos, a água infiltrada encontra uma barreira, acumulando-se e ficando ali armazenada temporariamente. Em épocas sem chuva, por não haver a recarga, este tipo de aquífero pode se esgotar (IRITANI; EZAKI, 2008).

Figura 2. Representação dos aquíferos livres e confinados.



Fonte: Serviço Geológico do Brasil, 2014.

2.4 Águas subterrâneas

Águas subterrâneas são toda a água que ocorre abaixo da superfície da terra, preenchendo os poros das rochas sedimentares, ou as fraturas, falhas e fissuras das rochas compactas, e que sendo submetida às forças de adesão e de gravidade desempenha um papel essencial na manutenção da umidade do solo, do fluxo dos rios, lagos e brejos. De um modo geral, a água subterrânea não contém oxigênio dissolvido. No entanto, pode existir a presença de Dióxido de Carbono, Ferro, Manganês, Amônia e em algumas zonas de agricultura a presença de nitratos e alguns pesticidas (LEGNER, 2013).

Após a precipitação, parte das águas que atinge o solo se infiltra e percorre no interior do subsolo, por períodos de tempo variáveis, devido a fatores como:

- Porosidade do subsolo: onde a presença de argila no solo diminui sua permeabilidade, dificultando a infiltração da água;
- Cobertura vegetal: solos cobertos por vegetação é mais penetrável do que solos desmatados;
- Inclinação do terreno: em declividade acentuada a água percola mais rapidamente, diminuindo a possibilidade de infiltração;
- Tipo de chuva: chuvas intensas saturam rapidamente o solo, ao passo que chuvas finas e demoradas possuem mais tempo para se infiltrarem (COELHO, 2011).

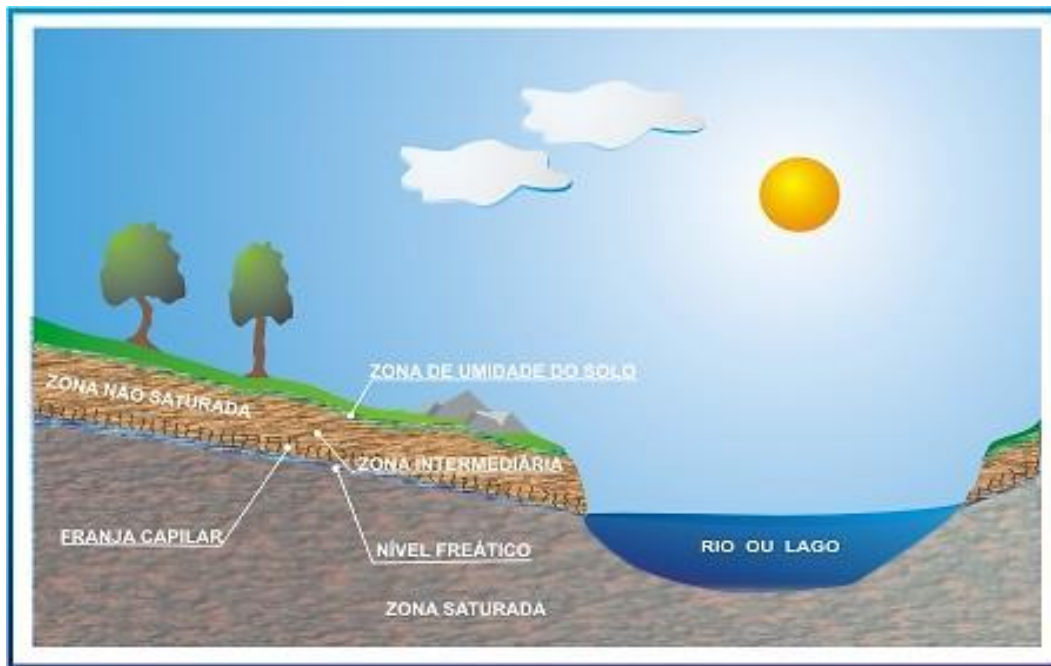
Durante a infiltração, uma parcela da água sob a ação da força de adesão ou de capilaridade fica retida nas regiões mais próximas da superfície do solo, constituindo a zona não saturada. Outra parcela atinge as zonas mais profundas do subsolo, sob a ação da gravidade, constituindo a zona saturada (SANEAS, 2008).

A zona não saturada também chamada de zona de aeração ou vadosa está situada entre a superfície freática e a superfície do terreno a qual está parcialmente preenchida por água. Nesta zona ocorre o fenômeno da transpiração pelas raízes das plantas, de filtração e de autodepuração da água. A zona não saturada divide-se em três partes: (MARTELLI, 2012).

Zona capilar, que se estende da superfície freática até a região mais próxima ao nível d'água do lençol freático, onde a umidade é maior devido à presença da zona saturada na camada abaixo. Sua espessura depende do tamanho dos poros e da homogeneidade do solo; zona intermediária, que compreende a região entre a zona do solo e da franja capilar, ou seja, é a região compreendida entre o limite de ascensão capilar da água e o limite das raízes das plantas. A umidade desta zona se deve a água capilar isolada, fora do alcance das raízes, sendo assim, em áreas onde o nível freático está próximo da superfície, a zona intermediária pode não existir, pois a zona capilar atinge a superfície do solo; zona do solo, zona de água do solo ou também zona de evapotranspiração, é a zona mais superficial, onde a perda de água para a atmosfera é intensa devido a evaporação. Está situada entre os extremos radiculares da vegetação e a superfície do terreno, tendo sua espessura variada de poucos centímetros até vários metros em regiões de vegetação abundante (MARTELLI, 2012).

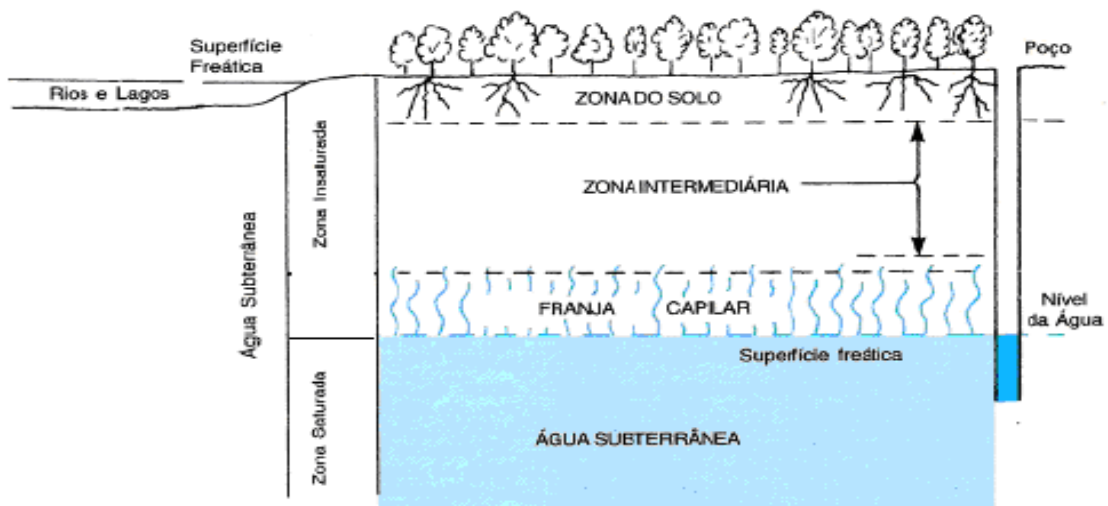
Já a zona saturada é a região abaixo da zona não saturada onde os poros ou fraturas das rochas estão totalmente preenchidos por água. Através dos poros ou fraturas das rochas, as águas atingem esta zona, até alcançar uma profundidade limite, onde as rochas estão tão saturadas que impedem maior penetração da água no solo. Nesta zona, a água corresponde ao excedente de água da zona não saturada que se move em velocidades muito lentas, formando o manancial subterrâneo propriamente dito. Uma parcela dessa água irá desaguar na superfície dos terrenos, formando as fontes, olhos de água. A outra parcela desse fluxo subterrâneo forma o caudal basal que deságua nos rios ou diretamente nos lagos e oceanos (SANEAS, 2008). As figuras 3 e 4 representam estas distribuições.

Figura 3. Caracterização das zonas saturadas e não saturadas do subsolo.



Fonte: Borghetti et al., 2004.

Figura 4. Representação esquemática das diferentes camadas existentes de águas subterrâneas.



Fonte: Heath, 1983.

2.5 Uso das águas subterrâneas

O aproveitamento das águas subterrâneas é tão antigo quanto à civilização e sua evolução tem acompanhado a própria evolução da humanidade. Seu crescente uso se deve ao melhoramento de técnicas de extração das águas subterrâneas, permitindo sua extração em volumes e profundidades cada vez maiores e possibilitando o suprimento de água a cidades, indústrias, projetos de irrigação, etc. (BORGHETTI et al., 2004).

No Brasil vários núcleos urbanos abastecem-se de água subterrânea de forma complementar ou exclusiva, assim como ilustrado na figura 5. Indústrias, propriedades rurais, escolas, hospitais e outros estabelecimentos utilizam com frequência água de poços. Importantes cidades do país dependem integral ou parcialmente da água subterrânea para abastecimento, como, por exemplo: Ribeirão Preto (SP), Mossoró e Natal (RN), Maceió (AL), Região Metropolitana de Recife (PE) e Barreiras (BA). No Maranhão, por exemplo, mais de 70% das cidades são abastecidas por águas subterrâneas, e em São Paulo e no Piauí esse percentual alcança 80% (TUCCI; CABRAL, 2003).

Figura 5. Regiões do Brasil que utilizam água subterrânea de forma exclusiva ou complementar.



Fonte: ABAS.

2.6 Impactos ambientais e qualidade das águas subterrâneas

A água subterrânea é considerada mundialmente como uma fonte imprescindível de abastecimento para consumo humano e está se tornando, cada vez mais, um bem escasso, e sua qualidade se deteriora cada vez mais rápido. (FREITAS et al., 2001).

A água é um solvente utilizado pelo ambiente para carregar produtos residuais para longe do local de produção e descarga, infelizmente, esses resíduos transportados são tóxicos e sua presença degrada seriamente o ambiente. Com isso, em todas as partes povoadas da Terra, a qualidade da água está sendo perturbada (FALKENMARK; ALLARD, 1991; WHITE; RASMUSSEN, 1996).

As águas subterrâneas estão relativamente melhor protegidas dos agentes de contaminação do que as águas superficiais, mas, mesmo assim, estão sujeitas a impactos ambientais. Algumas propriedades que tornam o seu uso mais vantajoso em relação ao das águas dos rios é que estas são filtradas e purificadas naturalmente através da percolação, que é um processo no qual a água passa entre os poros do subsolo e das rochas, ocorrendo a depuração da mesma através de uma série de processos físico-químicos (troca iônica, decaimento radioativo, remoção de sólidos em suspensão, neutralização de Ph em meio poroso, entre outros) e bacteriológicos (eliminação de micro-organismos devido à ausência de nutrientes e oxigênio) tornando-a mais adequada ao consumo humano; não ocupam espaço em superfície; sofrem menor influência nas variações climáticas; são passíveis de extração perto do local de uso; possuem temperatura constante; têm maior quantidade de reservas; necessitam de custos menores como fonte de água; o uso do recurso aumenta a reserva e melhora a qualidade; possibilitam a implantação de projetos de abastecimento à medida da necessidade (SERRA, 2003; WREGW, 1997).

A água é um bem naturalmente renovável, contudo na prática, o aumento populacional tem ocorrido em níveis superiores aos tolerados pela natureza, aumentando as péssimas atitudes humanas sobre o ambiente causando desequilíbrio ambiental, o que resultará, em pouco tempo, em estresse do sistema hídrico (MORAES; JORDÃO, 2002).

As águas subterrâneas uma vez poluídas ou contaminadas necessitam de elevados recursos financeiros e humanos para sua remediação, o que de modo geral é atingido ao final de vários anos. Desta forma devem ser tomadas medidas preventivas para sua proteção, associadas ao controle de poluição como um todo (CETESB, 2008).

De acordo com Moraes e Jordão (2002), embora tenha aumentado o número de pesquisas que visam diagnosticar e tratar ambientes aquáticos degradados inexistem soluções

que possam resolver o problema da degradação ambiental, assim, o desenvolvimento de uma consciência ambientalista, é um dos meios mais eficazes de evitar a crise de água prevista para um futuro próximo.

2.7 Águas subterrâneas: uma questão de saúde pública

De toda a água existente no planeta, 97% são salgadas, 2% foram geleiras inacessíveis e, portanto apenas 1% é de água doce, a qual está armazenada em lençóis subterrâneos, rios e lagos, distribuídos desigualmente pela Terra. O Brasil detém 8% de toda a água doce do planeta, sendo 80% presente na região amazônica e os 20% restantes destinados ao abastecimento das áreas do território brasileiro onde se concentram 95% da população (MORAES; JORDÃO, 2002).

A água para consumo humano pode ser obtida de diferentes fontes. Uma dessas fontes, o manancial subterrâneo, que devido à facilidade de perfuração, à facilidade de captação da água e ao baixo custo é um recurso amplamente utilizado por uma grande parcela da população brasileira (SILVA; ARAUJO, 2003).

Devido à alta poluição das águas superficiais e o alto custo para o seu tratamento, o consumo de águas subterrâneas cresceu substancialmente, assim é necessário um rigoroso controle da qualidade das águas subterrâneas, visto que, uma vez poluídas ou contaminadas necessita de um dispendioso trabalho e recurso financeiro para seu tratamento.

A água, como elemento fundamental à vida, abriga inúmeros organismos, representados por algas, protozoários, fungos, bactérias e vírus (RIVERA; MARTINS, 1996; REBOUÇAS, et al., 1999), os quais podem provocar surtos epidêmicos na população que utiliza essa água.

Apesar da adoção de regulamentos e medidas cada vez mais restritivas (em países como Estados Unidos e Reino Unido), e dos avanços em tecnologia de tratamento, nos últimos 25 anos as doenças de veiculação hídrica emergiram como um dos principais problemas de Saúde Pública (SMITH, et al., 2006).

O bom aspecto da água proporciona aos consumidores uma sensação de pureza e acredita-se que esse fato leva os consumidores a não agregarem valor no tratamento dessa água (OTENIO, et al., 2007). Os danos econômicos e ambientais, além do sofrimento das pessoas provenientes da poluição das águas são enormes (KEYLA, 2003). O consumo de

água contaminada agrava a pobreza e reduz à expectativa de vida devido à disseminação de micro-organismos patogênicos e outros contaminantes prejudiciais à saúde humana.

O principal propósito para a exigência da qualidade da água é a proteção à saúde pública (KEYLA, 2003). D'Aguila et al. (2000), concordam que os critérios adotados para garantir a qualidade da água, têm por objetivo favorecer o desenvolvimento de ações que, se implementadas junto à população garantirão a segurança do fornecimento de água através da, eliminação ou redução de constituintes perigosos à saúde.

2.8 Bactérias heterotróficas em águas subterrâneas

A potabilidade da água envolve aspectos físicos, químicos e biológicos, destacando-se para os poços rasos, os parâmetros microbiológicos, especialmente, as bactérias heterotróficas e os coliformes (SANT'ANA et al., 2003; BRASIL, 2006; BARBOSA et al., 2009).

Bactérias heterotróficas são definidas como micro-organismos que requerem carbono orgânico como fonte de nutrientes. Sua avaliação fornece, de forma geral, informações sobre a presença de bactérias ou esporos que podem ser componentes da flora natural da água ou de outras fontes, retratando também a presença de micro-organismo patogênicos (BRASIL, 2006; VALIAS et al., 2002; JUNIOR et al., 2008).

As bactérias heterotróficas fornecem informações sobre a qualidade bacteriológica da água de uma forma ampla. Apesar da maioria das bactérias heterotróficas não ser patogênica, estas podem representar riscos a saúde, como também deteriorar a qualidade da água (DOMINGUES et al., 2007).

2.9 Resistência bacteriana

O efeito indesejável do crescimento microbiano tem sido controlado através do uso de antimicrobianos, tais como os antibióticos (SAMRA et al., 2009). A descoberta dos antibióticos representa um dos marcos mais importantes da medicina moderna. O sucesso dos primeiros antibióticos na cura de doenças até então consideradas letais acarretou uma intensa busca por novas drogas (ROCHA et al., 2011).

Desde a introdução dos antibióticos no mercado, a maior ameaça para o uso deste tipo de medicamento é o aparecimento de um número cada vez maior de bactérias resistentes (MATHUR; SINGH, 2005).

A evolução de micro-organismos resistentes aos antimicrobianos são o resultado pela prescrição necessária dessas drogas ou pelo uso incorreto em tratamentos sem diagnóstico estabelecido, automedicação, desperdício de restos de antimicrobianos no ambiente e emprego desses fármacos como promotores de crescimento em animais de produção (TAVARES, 2000).

Sempre que uma população bacteriana é exposta a algum agente antimicrobiano, é suposto que nesta população existam bactérias resistentes e que estas podem passar seus genes de resistência a outras bactérias aumentando substancialmente o número de micro-organismos resistentes (MATHUR E SINGH, 2005).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Identificar as bactérias heterotróficas isoladas de águas subterrâneas de dois municípios do Mato Grosso do Sul e traçar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos

3.2 Objetivos específicos

- Determinar quais as espécies prevalentes nas águas subterrâneas;
- Determinar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos frente a 16 antibióticos comumente utilizados na clínica médica.

AMARAL, A. L. P. Microrganismos indicadores de qualidade de água. Universidade Federal de Minas Gerais. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, 2007. Disponível em <<http://microbiologia.icb.ufmg.br/monografias/25.PDF>>. Acesso em: 16 de novembro de 2014.

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

BAQUERO, F.; MARTINEZ, J. L.; CANTOR, R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. Current Opinion in Biotechnology, v.19, n.3, p. 260-265, 2008.

BARBOSA, A. D.; LAGE, M. M.; BADARÓ, A. C. L. Qualidade microbiológica dos bebedouros de um campus universitário de Ipatinga, Minas Gerais. Revista Digital de Nutrição, v.3, n.5, p.505-517, 2009.

BASSO, A. P. Resistência a antimicrobianos, genes de enterotoxinas e formação de biofilme em *Staphylococcus* spp. isolados do arroio Dilúvio. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. 2013. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/79637/000902893.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 24 de novembro de 2014.

BON, B. R. F. Resistência a antimicrobianos em *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* sp. isolados de ambiente marinho. Universidade Estadual do Rio Grande do Sul. Dissertação apresentada como requisito para aprovação no Trabalho de Conclusão de Curso. 2013. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/80502/000894629.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 24 de novembro de 2014.

BORGHETTI, N. R. B.; BORGHETTI, J.; ROSA FILHO, E. F. Aquífero Guarani – A verdadeira integração dos países do Mercosul. In: BORGHETTI, N. R. B.; BORGHETTI, J.; ROSA FILHO, E. F. (Ed). Curitiba, p. 214, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Inspeção sanitária em abastecimento de água. Série A: normas e manuais técnicos. Brasília, 2006.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Poluição das águas subterrâneas, 2008. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/agua_sub/poluicao.asp>. Acesso em: 30 julho de 2014.

CLEARY, R. W. Águas subterrâneas. USA: Flórida, p. 117, 2007.

COELHO, E. P. M. Avaliação da correlação entre os parâmetros, carbono orgânico total e elementos tóxicos, em solo de um posto de serviço e revenda de combustíveis. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Petróleo. 2011. Disponível em: <<http://repositorio.ufrn.br:8080/jspui/handle/1/7390>>. Acesso em: 16 de novembro de 2014.

COSTA, C. L.; DE LIMA, R. F.; PAIXÃO, G. C.; PANTOJA, L. D. M. Avaliação da qualidade das águas subterrâneas em poços do estado do Ceará, Brasil. Revista Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, v.33, n.2, p. 171-180, 2012.

D'AGUILA, P. S.; ROQUE, O. C. C.; MIRANDA, C. A. S.; FERREIRA, A. P. Avaliação da qualidade de água para abastecimento público no município de Nova Iguaçu. Caderno Saúde Pública, v. 16, n. 30, p. 791-798, 2000.

DOMINGUES, V. O.; TAVARES, G. D.; STÜKER, F.; MICHELOT, T. M.; REETZ, L. G. B.; BERTONCHELI, C. M.; HÖRNER, R. Contagem de bactérias heterotróficas na água para consumo humano: comparação entre duas metodologias. Saúde, Santa Maria, v. 33, n. 1, p. 15-19, 2007.

DOUBRAWA, B. Dinâmica da cobertura florestal e dos estoques de carbono na bacia hidrográfica do rio: 2000 a 2010. Universidade Federal do Paraná. Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2013. Disponível em: <http://www.floresta.ufpr.br/pos-graduacao/defesas/pdf_ms/2013/d643_0784-M.pdf>. Acesso em: 16 de novembro de 2014.

FALKENMARK, M.; ALLARD, B. Water Quality and disturbances of natural freshwaters. In: Hutzinger, O. (ed). The handbook of environmental chemistry. Part A – Water pollution, v.5, p.46-78, 1991.

FREITAS, M. B.; BRILHANTE, O. M.; DE ALMEIDA, L. M. The importance of watertesting for public health in two regions in Rio de Janeiro: a focus on fecal coliforms, nitrates, and aluminum. Caderno de Saúde Pública, v.17, n.3, p. 651-660, 2001.

IRITANI, M. A.; EZAKI, S. As águas subterrâneas do Estado de São Paulo. Instituto geológico. São Paulo, p. 104, 2008.

JUNIOR, P. R.; MELO, A. M. M. F.; CARVALHO, E. Qualidade microbiológica da água de poços residenciais do bairro centro educacional da cidade de Fátima do Sul-MS. *Interbio*, v.2, n. 2, p.29-34, 2008.

KEYLA, O. N. Qualidade microbiológica da água de abastecimento público e alternativo no município de Ouro Preto, Minas Gerais. Universidade Federal de Ouro Preto Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente: Uso e Conservação de Recursos Hídricos da Pró Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa – PROPP, 2003. Disponível em: <http://www.repositorio.ufop.br/handle/123456789/3160>>. Acesso em: 16 de novembro de 2014.

LEBARON, P.; HENRY, A.; LEPEUPLE, A. S.; PENA, G.; SERVAIS, P. An operational method for the real-time monitoring of E. coli numbers in bathing waters. *Mar Pollut Bull*, v.50, p.652-659, 2005.

LEGNER, C. Tratamento de águas subterrâneas. *Revista Tratamento de água e efluentes*, ed. 14, 2013.

LOPEZ-PILA, J.; SZEWZYK, R. Estimating the infection risk in recreational Waters from the faecal indicator concentration and from the ratio between pathogens and indicators. *WaterResearch*, v. 34, n. 17, p. 4195-4200, 2000.

MARTELLI, G. V. Monitoramento da flutuação dos níveis de água em aquíferos freáticos para avaliação do potencial de recarga em área de afloramento do sistema aquífero guarani em Cacequi-RS. 2012. Universidade Federal de Santa Maria. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental, Área de concentração em recursos hídricos e Saneamento Ambiental. 2012. Disponível em: <http://w3.ufsm.br/ppgec/wp-content/uploads/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20Guilherme%20Viana%20Martelli.pdf>.

Acesso em: 16 de novembro de 2014.

MATHUR, S.; SINGH, R. Antibiotic resistance in food lactic acid bactéria - Av review. *International Journal of Food Microbiology*, v.105, n.3, p.281-295, 2005.

MORAES, D. S. L.; JORDÃO, B. Q. Water resources deterioration and its impact on human health. *Revista Saúde Pública*, v.36, n.3, p. 370-374, 2002.

NETO, M. L. F.; FERREIRA, A. P. Perspectivas da sustentabilidade ambiental Diante da contaminação química da água: Desafios normativos. *Revista Gestão Integrada Saúde Trabalho Meio Ambiente*, v. 2, n. 4, p. 1-15, 2007.

NOGUEIRA, G., NAKAMURA, C. V., TOGNIM, M. C. B., FILHO, B. A. A., DIAS, B. P. F. Qualidade microbiológica de água potável de comunidades urbanas e rurais. *Revista Saúde Pública*, v. 37, n. 2, p.232-236, 2003.

OTENIO, M. H., RAVANHANI, C., CLARO, E. M. T., SILVA, M. I. ERONCON, T. J. Qualidade da Água Utilizada para consumo Humano de Comunidades Rurais do Município de Bandeirantes – Pr. *Revista Salusvita*, vol. 26, n. 26, p. 83-91, 2007.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Informe regional sobre avaliação 2000 na região da Américas: água potável e saneamento, estado atual e perspectivas. Organização Pan-Americana da Saúde, 2001.

PEREIRA, L. O. Perfil de resistência aos antimicrobianos em coliformes isolados do Sistema Municipal de Abastecimento de Água de São José do Rio Preto-SP. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho. Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Microbiologia. 2013. Disponível em: <http://base.repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/99624/pereira_lo_me_sjrp.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 24 de novembro de 2014.

REBOUÇAS, A. DA C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J. G. Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação. São Paulo, Instituto de estudos avançados da USP/ Academia Brasileira de Ciências, Escrituras Editoras, 1999.

RIVERA, N. G.; MARTINS, M. T. Bactérias enteropatogênicas no ambiente aquático. *Revista de Ciências Farmacêuticas*, v. 17, p. 115-136, 1996.

ROCHA, D. P.; PINTO, G. F.; RUGGIERO, R.; OLIVEIRA, C. A.; GUERRA, W.; FONTES, A. P. S.; TAVARES, T. T.; MARZANO, I. M.; MAIA, E. C. P. Coordenação de metais e antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana. *Revista Química Nova*, v.34, n.1, p. 111-118, 2011.

ROHDEN, F.; ROSSI, E. M.; SCAPIN, D.; DA CUNHA, F. B.; SIRDIGLIA, C. U. Monitoramento microbiológico de águas subterrâneas em cidades do Extremo Oeste de Santa Catarina. *Revista Ciência e Saúde Coletiva*, v. 14, n.6, p.220-223, 2009.

SAMRA, Z. Q. NASEEM, M.; KHAN, S. J.; DAR, N.; ATHAR, M. A. PCR Targeting of antibiotic resistant bacteria in public drinking water of lahore metropolitan, Pakistan. *Biomedical and Environmental Sciences*, v.22, n.6, p. 458-463, 2009.

SANEAS revista. Águas subterrâneas: uma alternativa de abastecimento abaixo da superfície da Terra. Ano IX, ed. 29, 2008.

SANT'ANA, S.; SILVA, S. C. F.; FARANI, I.; AMARAL, C. H. R.; MACEDO, V. F. Qualidade microbiológica de águas minerais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.23, p.190-194, 2003.

SERRA, C. A. T. Geografia, Ecologia e Meio Ambiente. Rio de Janeiro: Princesa. Coletânea de Artigos, ed. 2, 2003.

SILVA, R. DE C. A.; ARAUJO, T. M. Qualidade da água do manancial subterrâneo em áreas urbanas de Feira de Santana (BA). *Ciência e Saúde Coletiva*, v.8, n. 4, p. 1019-1028, 2003.

SMITH, A.; REACHER, M.; SMERDON, W.; ADAK, G. K.; NICHOLS, G.; CHALMERS, R. M. Outbreaks of waterborne infectious intestinal disease in England and Wales, 1992-2003. *Epidemiology and Infection*, v. 134, n. 6, p. 1141-1149, 2006.

TAVARES, W. Bactérias Gram positivas problemas: resistência do Estafilococo, do Enterococo e do Pneumococo aos antimicrobianos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.33, p. 281-301, 2000.

TUCCI, C. E. M.; CABRAL, J. J. S. P. Qualidade da água subterrânea. Recursos Hídricos. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. Anexo II-b, 2003.

VALIAS, A. P. G. S.; ROQUETO, M. A.; HORNING, D. G.; KOROIVA, E. H.; VIEIRA, F. C.; ROSA, G. M.; SILVA, M. A. M. L. Evaluation of water microbiological quality from shallow wells and springs of rural properties in the area of São João da Boa Vista - São Paulo. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia*, v.5, n.1, p. 21-28, 2002.

WHITE P. A.; RASMUSSEN, J. B. The genotoxic hazards of domestic wastes in surface waters. *Mutation Research*, v. 410, p. 223-36, 1998.

WREGW, M. Termos Hidrogeológicos Básicos. Caderno Técnico da associação brasileira água subterrâneas, n.4, 1997.

5.1 Artigo

Acta Scientiarum. Biological Sciences

ISSN impresso 1679-9283

Artigo que será submetido à revista Acta Scientiarum. Biological Sciences, qualis B2
na área interdisciplinar

BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS ISOLADAS DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS

XXXX¹, XXXX², XXXX³, XXXX⁴, XXXX⁵

Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais. Universidade Federal da Grande Dourados.
Rodovia Dourados – Itaum Km 12. 798000-000 Dourados MS.

RESUMO

A água é um recurso indispensável para a sobrevivência de todas as espécies vivas. Apesar da adoção de regulamentos cada vez mais restritivos e dos avanços em tecnologias de tratamento das águas, nos últimos 25 anos as doenças de veiculação hídrica emergiram como um dos principais problemas de Saúde Pública, agravando a pobreza e reduzindo à expectativa de vida da população. O objetivo deste estudo foi isolar e identificar bactérias heterotróficas presentes em águas subterrâneas e avaliar o perfil de suscetibilidade aos antibióticos. A pesquisa de bactérias heterotróficas foi realizada em 66 poços subterrâneos situados em dois municípios do Mato Grosso do Sul com população inferior a 30 mil habitantes. Foram isoladas 56 bactérias, sendo 30,35% Gram positivos e 69,64% Gram negativos. *Micrococcus luteus* foi a espécie mais isolada estando presente em 19,14% das amostras, *Serratia marcesces* esteve presente em 17,02% e *Acinetobacter haemolyticus* em 8,51%. Os isolados Gram positivo não apresentaram resistência frente aos 16 antibióticos testados. Dos isolados Gram negativos 28,57% apresentaram resistência a dois ou mais antibióticos e destes, 62,5% dos isolados foram resistentes a ampicilina, 50% resistentes a ampicilina/sulbactam, cefuroxima e piperacilina/tazobactam, 37,5% resistentes a cefoxitina, ceftriaxone e colistina e 25% resistentes a ceftazidima. O isolamento das espécies associadas a infecções clínicas e o elevado perfil de resistência dos microrganismos Gram negativos do ambiente torna necessária a implantação de programas de controle higiênico-sanitário mais rígido destas águas e promover a disseminação do conhecimento sobre a qualidade das águas subterrâneas para toda comunidade.

PALAVRAS-CHAVE: Perfil de resistência, poços, contaminação de águas.

ISOLATED HETEROTROPHIC BACTERIA FROM UNDERGROUND WATER

XXXX¹, XXXX², XXXX³, XXXX⁴, XXXX⁵

Faculty of Biological and Environmental Sciences. Federal University of Grande Dourados.
Highway Dourados – Itaum Km 12. 798000-000 Dourados MS.

ABSTRACT

Water is an indispensable resource for the survival of all living species. Despite the regulations being more restrict and the advances in water treatment technology, in the past 25 years, diseases of water propagation have emerged as one of the main Public Health issue, reducing population life expectancy. The purpose of this study was the isolation and identification of heterotrophic bacteria presented at underground water, and evaluation of the susceptibility profile to the antibiotic's. The search for these bacteria happened among 66 underground wells situated in two different cities in Mato Grosso do Sul state, both with less than 30 thousand inhabitants. 56 bacteria were isolated, being 30,45% gram positive and 69,64% Gram negatives. *Micrococcus luteus* was the most present bacteria among the isolated, being in 19,14% of samples. *Serratia marcesces* was presented in 17,02% of samples and *Acinetobacter haemolyticus* in 8,51%. The Gram positive did not show resistance to any of the 16 antibiotics tested, while from the Gram negative isolated, 28,57% showed resistance to two or more antibiotics. From those, 62,5% was resistant to ampicillin, 50% to ampicillin/sulbactam, cefuroxime and piperacilline/tazobactam, 37,5% to ceftaxime, ceftriaxone and collistin, and 25% to ceftadizime. The isolation of the species associated to clinic infections and the high resistance profile of negative Gram microorganisms from that environment show a need, first for the implementation of a sturdier program of hygienic and sanitary control of this water, then for the propagation of the knowledge about the quality of underground water to all the community.

KEW WORDS: Resistance profile, wells, water contamination.

1. INTRODUÇÃO

A água é essencial para a manutenção da vida de todos os seres vivos, sendo este um recurso indispensável à sobrevivência dos mesmos. A necessidade de se possuir água de boa qualidade para consumo humano é preocupação de todos os povos e objetivo estratégico de todos os governos, que se expressa na implementação de políticas públicas que, no saneamento, constitui um pilar importante da proteção social (FRAZÃO, *et al.*, 2013).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), mais de 1,8 milhões de pessoas morrem anualmente devido a doenças transmitidas pela água tornando estas, a causa mais importante de morte no mundo (WHO, 2007). O bom aspecto da água subterrânea proporciona aos consumidores uma sensação de pureza e acredita-se que esse fato leva os consumidores a não agregarem valor no tratamento dessa água (OTENIO, *et al.*, 2007).

A crescente contaminação encontrada nos mananciais superficiais e subterrâneos de todo o mundo tem causado preocupação aos órgãos responsáveis pela sua qualidade. No Brasil, nas últimas décadas, a falta de investimentos em saneamento básico reflete diretamente na qualidade e na segurança da água para consumo humano. Em um levantamento feito com 200 países, o Brasil, país que detém 12% das reservas de água doce do planeta amarga a 112ª posição no quesito saneamento básico. Este estudo foi realizado em março de 2014 pelo Instituto Trata Brasil, em parceria com o Conselho Empresarial Brasileiro para o Desenvolvimento Sustentável (STRACI, 2014).

Os contaminantes de água incluem uma enorme variedade de espécies microbianas, dentre estas as bactérias heterotróficas, definidos como, micro-organismos que requerem carbono orgânico como fonte de nutrientes. A contagem de bactérias heterotróficas é o método mais utilizado como indicador geral de populações bacterianas presentes em água, contudo, não diferencia espécies de bactéria, não sendo então um indicador de segurança, pois não está diretamente relacionado à presença de patógenos ou toxinas, sendo útil apenas fornecendo informações sobre a qualidade bacteriológica da água de uma forma ampla servindo, portanto, de indicador auxiliar da qualidade da água uma vez que, populações altas de bactérias podem indicar deficiências na sanitização ou falha no controle do processo (GUERRA *et al.*, 2006; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005; SILVA *et al.* 2007)

O efeito indesejável do crescimento microbiano tem sido controlado através do uso de antimicrobianos, tais como os antibióticos, contudo, desde a introdução dos antibióticos no

mercado as bactérias vêm adquirindo resistência aos mesmos (SAMRA et al., 2009; MATHUR; SINGH, 2005).

Com exceção dos estafilococos, a capacidade de resistir à ação dos antibióticos era centrada nos bacilos gram-negativos, os quais estão freqüentemente envolvidos em infecções hospitalares, contudo, ao final do século XX o panorama da relativa estabilidade dos cocos Gram positivos em relação à sensibilidade aos antimicrobianos foi modificado, com a crescente incidência de estafilococos, enterococos e dos pneumococos resistentes a várias classes de antibióticos (TAVARES, 2000).

De acordo com Tavares (2000), cepas Gram positivas e Gram negativas resistentes aos antibióticos estão disseminadas no ambiente extra-hospitalar e alerta que se a resistência bacteriana é um fenômeno inevitável dentro do ambiente hospitalar, sua disseminação para o ambiente extra-hospitalar merece notável atenção.

Embora a maioria das bactérias heterotróficas não seja patogênicas, estas podem representar riscos à saúde agindo como patógenos oportunistas, como também deteriorar a qualidade da água, provocando o aparecimento de odores e sabores desagradáveis (FUNASA, 2004). Assim o objetivo do presente trabalho foi identificar a ocorrência de bactérias heterotróficas em águas subterrâneas para consumo humano e avaliar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta das Amostras

As amostras de água foram coletadas de 66 diferentes poços utilizadas para o consumo, situados em 02 municípios do Mato Grosso do Sul com população inferior a 30 mil habitantes.

As torneiras dos poços foram previamente desinfetadas com álcool 70%, e ligadas para escoamento da água por 5 minutos visando eliminar o risco de contaminação cruzada. Após este tempo as amostras foram coletadas em recipientes de vidro estéreis contendo tiosulfato de sódio a 1,8%, acondicionadas em caixas térmicas com gelo e transportadas sob refrigeração (4°C) ao laboratório de Microbiologia da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) conservadas assim até o início da análise. O tempo máximo entre a coleta da água e o início do exame microbiológico foi de 8 horas.

2.2 Isolamento de bactérias heterotróficas da água

A técnica para isolamento de heterotróficos foi realizada pela metodologia de esgotamento em superfície, também chamado de Spread Plate. A análise foi realizada com 0,1ml da amostra pura e diluição de 10^{-1} da amostra, realizados em duplicata. Em placas de petri contendo ágar PCA (Plate Count Agar), foi espalhado o inóculo, por toda superfície do meio, até que o excesso do líquido fosse absorvido, e então as amostras foram incubadas na estufa por $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 48 ± 2 horas.

2.3 Identificação e perfil de resistência das bactérias heterotróficas

De cada placa de PCA foram selecionadas de acordo com as características morfológicas diferentes, três unidades formadoras de colônia para identificação e susceptibilidade aos antimicrobianos.

Os isolados foram semeados em ágar sangue e incubadas a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 horas e realizado a coloração de Gram, para escolha dos cartões de identificação e de antibióticos. As amostras foram submetidas ao aparelho VITEK 2 COMPACT para identificação e realização do perfil de resistência à antimicrobianos dos isolados

Os isolados bacterianos foram divididos em gram-positivos e gram-negativos, sendo que para as gram negativas foram utilizados os antibióticos: Amicacina, Ampicilina, Ampicilina/Sulbactam, Cefepime, Cefoxitin, Ceftazidime, Ceftriaxone, Cefuroxima, Ciprofloxacina, Colistin, Estapenem, Gentamicina, Imipenem, Meropenem, Piperacilina/Tazobactam e Tigecyclina, e para as gram positivas: Ampicilina, Benzylpenicilina, Ciprofloxacina, Clindamicina, Erytromicina, Fusidic Acid, Gentamicina, Linezolid, Moxifloxacina, Norfloxacina, Oxacilina, Rifampicina, Teicoplanina, Tigecyclina, Trimetoprim/Sulfametoxazol, Vancomicina.

2.4 Testes com inibidores e potenciador para detecção de carbapenemases

O critério de seleção para escolha do micro-organismo que seria submetido a este teste foi a Enterobacteria (*Serratia marcescens*) que apresentou CIM ≥ 2 para Imipenem.

Seguindo a metodologia proposta na Nota Técnica N° 01/2013 pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, o inóculo foi preparado de acordo com a escala 0,5 MacFarland. Um swab foi umedecido na suspensão e a suspensão foi espalhada homogênea na placa contendo ágar Mueller-Hinton. Discos do antibiótico Imipenem preparados com 10uL de EDTA 0,1M e discos do mesmo antibiótico puro foram aplicados na placa já contendo o inóculo. As placas foram incubadas a 36 ± 1 °C de 18 a 24 horas.

Foram considerados positivos para produção de carbapenemase isolados com diferença ≥ 5 mm entre o diâmetro do halo de inibição com disco de imipenem adicionado de EDTA e diâmetro do halo de inibição do disco de imipenem sem EDTA.

3. RESULTADOS

Das amostras estudadas foram isolados 56 bactérias heterotróficas, sendo 69,64% Gram negativos e 30,35% Gram positivos (tabelas 1 e 2).

Os micro-organismos mais isolados foram *Serratia marcescens* (17,24%), *Micrococcus luteus* (15,51%), *Pseudomonas aeruginosa* (8,62%) e *Acinetobacter haemolyticus* (6,89%).

Tabela 1. Bactérias heterotróficas Gram negativas isoladas de águas subterrâneas.

Micro-organismos	Nº de isolados
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	6,89% (n=4)
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1,72% (n=1)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	3,44% (n=2)
<i>Chromobacterium violaceum</i>	1,72% (n=1)
<i>Citrobacter freundii</i>	3,44% (n=2)
<i>Citrobacter sedlakii</i>	1,72% (n=1)
<i>Enterobacter asburiae</i>	3,44% (n=2)
<i>Enterobacter cloacae complex</i>	3,44% (n=2)
<i>Enterobacter gergoviae</i>	1,72% (n=1)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1,72% (n=1)
<i>Klebsiella pneumoniae ssp.</i>	1,72% (n=1)
<i>Kluyvera intermedia</i>	1,72% (n=1)
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	1,72% (n=1)
<i>Pantoea ssp.</i>	1,72% (n=1)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8,62% (n=5)
<i>Pseudomonas putida</i>	1,72% (n=1)
<i>Ralstonia mannitolilytica</i>	1,72% (n=1)
<i>Serratia marcescens</i>	17,24% (n=10)
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1,72% (n=1)

Tabela 2. Bactérias heterotróficas Gram positivas isoladas de águas subterrâneas.

Micro-organismos	Nº de isolados
<i>Kocuria kristinae</i>	1,72% (n=1)
<i>Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris</i>	1,72% (n=1)
<i>Micrococcus luteus</i>	15,51% (n=9)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,72% (n=1)
<i>Staphylococcus hominis ssp.</i>	3,44% (n=2)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1,72% (n=1)
<i>Staphylococcus warneri</i>	3,44% (n=2)

Seguindo as diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2013), foi analisado o perfil de resistência de cada micro-organismo frente a 16 antibióticos utilizados na clínica médica.

Dos isolados Gram positivos nenhum apresentou perfil de resistência frente aos 16 antibióticos utilizados (Tabela 3). Já dos isolados Gram negativos, 43,58% apresentaram resistência a 1 ou mais antibióticos (tabelas 4 e 5).

Dentre os isolados de *Serratia marcescens* e *Acinetobacter haemolyticus*, apenas 1 isolado de cada espécie apresentou resistência a pelos menos 2 antibióticos testados (tabela 3), enquanto que, dos isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, 4 apresentaram resistência a pelo menos 4 antibióticos dos 16 testados (tabela 4).

Na tabela 5 contém o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das bactérias heterotróficas Gram negativas menos presentes nas amostradas analisadas, que são: *Aeromonas hydrophila*, *Chromobacterium violaceum*, *Citrobacter sedlaki*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter cloacae complex*, *Kluyvera intermédia*, *Ochrobactrum anthropi*, *Pseudomonas putida*, *Ralstonia mannitolilytica* e *Sphingomonas paucimobilis*, estas apresentaram resistência a pelo menos um dos antibióticos testados, e os outros isolados Gram negativos não apresentaram resistência a nenhum dos antibióticos testados.

O isolado de *Serratia marcescens* submetido ao teste com inibidores e potenciadores para produção de carbapenemase foi confirmado como não produtor de carbapenemase, apresentando halo de inibição < 5mm entre o diâmetro do halo de inibição com o disco de antibiótico adicionado de EDTA.

4. DISCUSSÃO

A crescente contaminação encontrada nos mananciais superficiais e subterrâneos utilizados como fonte alternativa de água para consumo humano tem causado preocupação aos órgãos responsáveis pela sua qualidade. No Brasil, nas últimas décadas, a falta de investimentos em saneamento básico reflete diretamente na qualidade de vida da população. Em um levantamento feito com 200 países, o Brasil, país que detém 12% das reservas de água doce do planeta amarga a 112ª posição no quesito saneamento básico. Este estudo foi realizado em março de 2014 pelo Instituto Trata Brasil, em parceria com o Conselho Empresarial Brasileiro para o Desenvolvimento Sustentável (STRACI, 2014).

Segundo o Artigo 40º, da portaria MS nº 2.914/2011 “os responsáveis pelo controle da qualidade da água de sistemas ou soluções alternativas coletivas de abastecimento de água para consumo humano, supridos por manancial superficial e subterrâneo, devem coletar amostras semestrais da água bruta, no ponto de captação, para análise de acordo com os parâmetros exigidos nas legislações específicas, com a finalidade de avaliação de risco à saúde humana” (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

O elevado número de espécies bacterianas encontrados nas amostras de águas subterrâneas estudadas deixa visível a importância do controle da qualidade dessas águas reduzindo os riscos à saúde da população, visto que, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), mais de 1,8 milhões de pessoas morrem anualmente devido a doenças transmitidas pela água (DTA) tornando as DTA a causa mais importante de morte no mundo (WHO, 2007).

De acordo com Burbarelli (2004), o controle da população bacteriana total é de fundamental importância, pois, a densidade elevada destes microrganismos na água pode determinar a deterioração de sua qualidade, com o desenvolvimento de odores e sabores desagradáveis. Além desses problemas, podem representar risco à saúde dos consumidores, pois, embora a maioria das bactérias da flora normal da água não seja considerada patogênica, algumas delas podem atuar como patógenos oportunistas causando doenças em pessoas com o sistema imunológico debilitado, crianças e idosos.

No presente trabalho os isolados Gram negativos (69,64%) prevaleceram sobre os isolados Gram positivos (30,35%) diferindo dos resultados encontrados por DaCunha e Batista (2014), onde analisaram as bactérias heterotróficas da água da bacia do Rio Cuiabá-

MT, e encontraram bactérias Gram positivas em maior quantidade que as negativas, o que já era previsto de acordo com a literatura, visto que, os micro-organismos Gram positivos são mais resistentes as diversidades bióticas encontradas, como temperatura, disponibilidade de nutrientes, bem como a presença de contaminantes (TORTORA *et al.*, 2012).

Das espécie Gram positivas isoladas neste estudo, *Micrococcus luteus* foi a mais encontrada e este resultado é semelhante ao encontrado por Dias (2007), o qual avaliou a eficácia da sanitização de um sistema de purificação de água proveniente do sistema de abastecimento público e identificou *Micrococcus luteus* como à bactéria Gram positiva com maior frequência na água estudada.

O gênero *Micrococcus* compreende bactérias Gram positivas, oxidase-positiva, e estritamente cocos aeróbicos pertencente à família Micrococcaceae. São geralmente considerados como saprófitas inofensivos que habitam ou contaminam a pele, mucosa, e talvez também a orofaringe; no entanto, podem ser agentes patogênicos oportunistas para pacientes imunocomprometidos. *Micrococcus luteus* foram associados com várias infecções, incluindo bacteremia, agente causador nos casos de abscessos intracranianas, pneumonia, artrite séptica, endocardite, e meningite. (BANNERMAN; PEACOCK, 2007; KOCUR *et al.*, 2006).

A população microbiana no meio ambiente está exposta a condições de sobrevivência estressantes o que pode determinar a prevalência de algumas espécies mais adaptadas naquelas condições ambientais (OLIVEIRA *et al.*, 2012) como é o caso do *Micrococcus luteus* neste estudo.

Serratia marcescens foi a mais encontrada entre os isolados Gram negativos. O gênero *Serratia* spp. compreende bactérias Gram negativas pertencente à família *Enterobacteriaceae* que podem estar implicadas em várias doenças infecciosas. Distribuídas amplamente na natureza, este gênero é encontrado nos solos, águas, plantas e no trato intestinal de humanos e animais (KONEMAN *et al.*, 2001). Dentro deste gênero a *Serratia marcescens* é o membro mais importante e, está geralmente associada a uma variedade de infecções humanas, principalmente pneumonia, septicemia, infecções do trato urinário e infecções em fermentos (KONEMAN *et al.*, 2001).

No presente trabalho, para o isolado de *Serratia marcescens* que apresentou CIM de 2 para Imipenem (tabela 3), foi realizado o teste com inibidores e potenciador para detecção de carbapenemases e o mesmo apresentou resultado negativo, identificando o isolado de *S. marcescens* como não produtor de carbapenemases.

O teste com inibidores e potenciador para detecção de carbapenemases foi realizado, pois, devido à crescente disseminação de enterobactérias produtoras de carbapenemases, em 2009 o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) passou a recomendar o uso do teste de Hodge modificado em isolados de enterobactérias resistentes as cefalosporinas de amplo espectro e que apresentam CIM ≥ 2 para imipenem ou meropenem (ROSSI *et al.*, 2009), contudo o teste de Hodge, apresenta baixa sensibilidade para detecção de NDM (Nova Deli Metallo-Beta-Lactamase), sendo então substituída pelo teste com inibidores e potenciador para detecção de carbapenemases (GIRLICH, et al., 2012; CLSI, 2013).

De acordo com Van Burik e Magee (2001), a patogencidade dos micro-organismos é relativa e são frequentemente associados à imunidade do hospedeiro, característica de infectividade e produção de toxinas. Qualquer micro-organismo é patogênico em potencial, caso infecte um hospedeiro debilitado, entretanto, apenas um número limitado de espécies microbianas pode provocar doenças em uma porção significativa de hospedeiros normais.

Neste estudo foram identificados 56 isolados apresentando diferentes perfis de resistência. Seguindo as diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2013), nenhum isolado Gram positivo apresentou resistência frente aos antibióticos testados. Nossos resultados diferem dos encontrados por Rodrigues *et al.* (2009), que encontraram algumas espécies de *Staphylococcus* presentes em água utilizadas para recreação apresentando resistência a cefalotina, eritromicina, penicilina, ampicilina e clindamicina.

Ainda seguindo as diretrizes do CLSI (2013) 43,58% dos isolados Gram negativos apresentaram resistência a dois ou mais antibióticos, destes 78,57% foram resistentes a ampicilina, 71,42% resistentes a ampicilina/sulbactam, cefoxitina e cefuroxima, 42,85% resistentes a ceftriaxone, 35,71% resistentes a piperacilina/tazobactam, 21,42% resistentes a colistina e 14,28% resistentes a ceftazidima.

O elevado número de bactérias resistentes isoladas de ambiente natural é um fator preocupante, uma vez que, as águas subterrâneas não sofrem pressão seletiva de agentes químicos e antibióticos. Sabendo que a água é uma das maiores fontes de disseminação de doenças, que as doenças de veiculação hídrica matam mais de 1,8 milhões de pessoas anualmente (WHO, 2007), e que bactérias apresentando elevado perfil de resistência estão presentes em ambientes naturais, se nada for feito existe uma grande preocupação de nos próximos anos voltarmos à era pré-antibióticos.

Dos micro-organismos isolados e identificados neste estudo, as espécies *Pseudomonas aeruginosa* e *Ochrobactrum anthropi* merecem notável destaque, primeiro por apresentar

elevado perfil de resistência frente aos antibióticos testados (tabelas 4 e 5), e segundo por estarem relacionados a quadros de septicemia graves.

P. aeruginosa é um patógeno oportunista que pode causar infecções urinárias, dermatites e uma grande variedade de infecções sistêmicas, principalmente em pacientes imunocomprometidos, sendo um dos patógenos mais relevantes ligados as doenças transmitidas pela água (KONEMAN et al., 2001; WINGENDER; FLEMMING, 2011). Este microrganismo produz vários fatores de virulência e apresenta uma grande capacidade de resistir a drogas antimicrobianas (GALES *et al.*, 2001), podendo representar um reservatório de resistência, bem como um meio para a propagação e evolução de genes de resistência (BAQUERO *et al.*, 2008).

Ochrobactrum anthropi é um bacilo Gram negativo anteriormente considerado como patógeno oportunista de baixa virulência, infectando apenas pacientes imunocomprometidos com doenças subjacentes, no entanto relatórios recentes demonstraram a ocorrência de *Ochrobactrum anthropi* causando infecções graves em hospedeiros imunocompetentes sem doença de base (KAMPFER et al., 2007; KETTANEH et al., 2003).

Os perfis de susceptibilidade aos antimicrobianos das bactérias isoladas neste estudo merecem notável atenção, uma vez que, esses micro-organismos isolados de ambiente natural, estão apresentando perfil de resistência similar ao de isolados clínicos. Procedendo a uma análise dos fatores que geram os riscos de contaminação das águas subterrâneas e, devido à crescente preocupação com a colonização de bactérias resistentes aos antibióticos em águas subterrâneas utilizadas para consumo, surge à necessidade de se criar atitudes corretivas e preventivas através da implantação de programas de controle higiênico-sanitário mais rígido destas águas e promover a disseminação do conhecimento sobre a qualidade das águas de poços para toda a comunidade.

5. Conclusão

As amostras de água estudadas apresentam-se contaminadas por uma enorme diversidade bacteriana, sendo algumas destas resistentes a diversos antimicrobianos comumente utilizados na clínica médica, assim, os resultados desta pesquisa podem proporcionar o conhecimento sobre a diversidade bacteriana presente em águas subterrâneas para consumo humano, e alertar para o elevado perfil de resistência desses micro-organismos isolados de ambiente natural, similar ao de isolados clínicos, demonstrando que a população que depende de poços como fonte alternativa de água, está exposta a alto risco de contaminação.

6.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAQUERO, F.; MARTÍNEZ, J. L.; CANTÓN, R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 19, n.3, p. 260 - 265, 2008.

BANNERMAN, T.L.; PEACOCK, S.J. *Staphylococcus, Micrococcus* and other catalase-positive Cocci. In: Murray, P.R.; Baron, E.J.; Jorgensen, J.H.; Landry, M.L.; Pfaller, M.A. (ed). *Manual of Clinical Microbiology*, Ed. 9th, ASM Press, Washington, DC, p.390-411, 2007.

BURBARELLI, R. C. Avaliação da qualidade da água subterrânea e microbiologia do solo em área irrigado com efluente em lagoa anaeróbica. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo. Departamento de Saneamento Ambiental, 2004. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=vtls000376474>. Acesso em: 22 de outubro de 2014.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement, CLSI document M100-S23. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute, v. 33, 2013.

DA CUNHA, F. V.; BATISTA, S. B. Análise fenotípica e genotípica de bactérias heterotróficas e fixadoras de nitrogênio em sedimento na bacia do Rio Cuiabá-MT. *Revista Ambiente e Água*, v. 9, n. 1, p. 68-82, 2014.

DIAS, F. N. Avaliação de eficácia da sanitização de um sistema de purificação de água. Esterelização de artigos médicos, dissipação residual do óxido de etileno e uso da proteína verde fluorescente (GFP) como indicador de controle do processo. Universidade de São Paulo. Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica. 2007.

FRAZÃO, P.; SOARES, C. C. DA S.; FERNANDES, G. F.; MARQUES, R. A. DE A.; NARVAI, P. C. Water fluoridation and shortcomings within information system for the health surveillance policy. *Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas*, v.67, n. 2, p. 94-100, 2013.

FUNASA - Fundação Nacional da Saúde. Ministério da Saúde. Manual prático de análise de água. 1^a Ed. Brasília, 2004.

GALES, A. C.; JONES, R. N.; TURNIDGE, J.; RENNIE, R.; RAMPHAL, R. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa*: occurrence rates, antimicrobial susceptibility patterns, and molecular typing in the global SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997-1999. *Clinical Infectious Diseases*, v.15, p. 146-155, 2001.

GIRLICH, D.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Value of the modified Hodge test for detection of emerging carbapenemases in Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 50, n. 2, p. 477-9, 2012.

GUERRA, N. M. M.; OTENIO, M. H.; SILVA, M. E. Z.; GUILHERMETTI, M.; NAKAMURA, C.V.; NAKAMURA, T. U.; DIAS FILHO, B. P. Ocorrência de *Pseudomonas aeruginosa* em água potável. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 28, n. 1, p. 18-31, 2006.

KÄMPFER, P.; SCHOLZ, H. C.; HUBER, B.; FALSEN, E.; BUSSE, H. J. *Ochrobactrum haematophilum* sp. nov. and *Ochrobactrum pseudogrignonense* sp. nov., isolated from human clinical specimens. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v.57, p.2513-2518, 2007.

KETTANEH, A.; WEILL, F. X.; POILANE, I.; FAIN, O.; THOMAS, M.; HERRMANN, J. L.; HOCQUELOUX, L. Septic shock caused by *Ochrobactrum anthropi* in an Otherwise Healthy Host. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 41, n. 3, p. 1339-1341, 2003.

KONEMAN, W. E.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN JR., W. C. Bacilos Gram negatives não-fermentadores. In: KONEMAN, E. W. *Diagnóstico microbiológico - texto e atlas colorido*, 5. ed, Rio de Janeiro, p. 263-329, 2001.

KOCUR, M.; KLOOS, W. E.; SCHLWIFER, K. H. The Genus *Micrococcus*. The Prokaryotes. In: DWORKIN, M.; FALKOW, S.; ROSENBERG, E.; SCHLEIFER, K. H.; STACKEBRANDT, E. (eds) v. 3, p. 961-971, 2006.

MATHUR, S.; SINGH, R. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria- A review. *International Journal of Food Microbiology*, v.105, n.3, p.281-295, 2005.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Comentários sobre a portaria MS N° 518/2004: subsídios para implementação. 2005.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria De Vigilância Em Saúde. Departamento De Vigilância Em Saúde Ambiental E Saúde Do Trabalhador. Coordenação Geral De Vigilância Em Saúde Ambiental. Programa Nacional De Vigilância Da Qualidade Da Água Para Consumo Humano. Perguntas E Respostas Sobre A Portaria MS N° 2.914/2011. Brasília/DF.

Outubro

2012.

Disponível

em:

<http://www.baktron.com.br/img/ManagerImages/perguntas%20e%20respostas%20sobre%20a%20portaria%20ms%20n%202%20914%20de%202011.pdf>, Acessado em: 04 de Setembro de 2014.

OLIVEIRA, D. V.; SILVA, T. C.; ZANIN, J. G.; NACHTIGALL, G.; MEDEIROS, A. W.; FRAZZON, A. P. G.; VAN DER SAND, S. T. Qualidade Da Água E Identificação De Bactérias Gram-Negativas Isoladas Do Arroio Dilúvio, Porto Alegre, Rio Grande Do Sul, Brasil. *Revista Evidência*, v. 12, n. 1, p. 51-62, 2012.

OTENIO, M. H.; RAVSNHANI, C.; CLARO, E. M. T.; SILVA, M. I.; RONCON, T. J. Qualidade da água utilizada para consumo humano de comunidades rurais do município de Bandeirantes-PR. *Salusvita*, v. 26, n. 2, p. 189-195, 2007.

RODRIGUES, J. R. D. D.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. Evaluation of the quality of waters of two areas used for recreation of the River Piracuama-SP. *Revista Biociências, Unitau*, v. 15, n. 2, 2009.

ROSSI, F.; ANDREAZZI, D.; NÓBREGA, J.; CURY, A. P. *Microbiologia KPC (Klebsiella pneumonia carbapenemase): Perguntas e respostas*, Luiz Martins (Ed), 2009.

SAMRA, Z. Q. NASEEM, M.; KHAN, S. J.; DAR, N.; ATHAR, M. A. PCR Targeting of antibiotic resistant bacteria in public drinking water of lahore metropolitan, Pakistan. *Biomedical and Environmental Sciences*, v.22, n.6, p. 458-463, 2009.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. *Manual de métodos de Análise microbiológica de alimentos*. São Paulo: Universidade Federal de Santa Maria. 3º Ed, 2007.

STRACI, L. Água questão de saúde pública. *Revista água e meio ambiente subterrâneo*, v. 6, n. 39, 2014.

TAVARES, W. Bactérias Gram positivas problemas: resistência do Estafilococo, do Enterococo e do Pneumococo aos antimicrobianos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.33, p. 281-301, 2000.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. Porto Alegre: Artemed, 10. Ed, 2012.

VAN BURIK, J. A.; MAGEE, P. T. Aspects of fungal pathogenesis en humans. *Annual Review of Microbiology*, v. 55, p.743-772, 2001.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Burden of disease and cost-effectiveness estimates. Water sanitation health. 2007. Disponível em: [://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/burden/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/burden/en/). Acesso em: 10 de Setembro de 2014.

WINGENDER, J.; FLEMMING, H. C. Biofilms in drinking water and their role as reservoir for pathogens. *International Journal of Hygiene and environmental Health*, v. 214, n. 6, p. 417-423, 2011.

Tabela 3. Perfil de resistência das bactérias Gram positivas isoladas de águas subterrâneas.

Micro-organismos	Antibióticos - Valor de CIM (ug/mL)															
	P	AM	CM	E	FA	CIP	LNZ	MXF	GM	NOR	OX1	RA	TEC	TGC	SXT	VA
<i>Micrococcus luteus</i> ¹	≥ 0,5	-	≥ 8	≥ 8	≥ 32	≥ 8	≥ 8	≥ 8	≤ 0,5	≥ 16	≥ 4	≥ 32	≥ 32	0,5	≥ 320	≥ 32
<i>Micrococcus luteus</i> ²	0,12	-	≤ 0,25	0,5	≤ 0,5	≤ 0,5	2	0,5	≤ 0,5	8	2	1	1	≤ 0,12	≤ 10	≤ 0,5
<i>Micrococcus luteus</i> ³	0,06	-	≤ 0,25	≥ 8	≤ 0,5	≤ 0,5	2	0,5	≤ 0,5	8	≥ 4	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,12	≤ 10	≤ 0,5
<i>Micrococcus luteus</i> ⁴	0,12	-	≤ 0,25	≥ 8	≤ 0,5	1	2	1	≤ 0,5	8	≥ 4	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,12	≤ 10	≤ 0,5
<i>Micrococcus luteus</i> ⁵	≥ 0,5	-	≥ 8	≥ 8	≥ 32	≥ 8	≥ 8	4	≤ 0,5	≥ 16	≥ 4	16	≥ 32	0,25	≤ 10	16
<i>Micrococcus luteus</i> ⁶	0,12	-	≤ 0,25	0,5	≤ 0,5	≤ 0,5	2	0,5	≤ 0,5	8	2	1	1	≤ 0,12	≤ 10	≤ 0,5
<i>Micrococcus luteus</i> ⁷	≥ 0,5	-	≥ 8	≥ 8	≥ 32	≥ 8	≥ 8	≥ 8	≤ 0,5	≥ 16	≥ 4	≥ 32	≥ 32	0,5	≥ 320	≥ 32
<i>Micrococcus luteus</i> ⁸	0,25	-	≤ 0,25	≤ 0,25	1	≤ 0,5	2	1	≤ 0,5	≥ 16	-	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,12	≤ 10	≤ 0,5
<i>Micrococcus luteus</i> ⁹	0,12	-	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,5	1	2	0,5	≤ 0,5	8	≥ 4	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,12	≤ 10	≤ 0,5
<i>Kocuria Kristinae</i>	≥ 0,5	-	≤ 0,25	≤ 0,25	2	4	2	1	≤ 0,5	≥ 16	≥ 4	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,12	≤ 10	≤ 0,5
<i>Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris</i>	≤ 0,12	≤ 2	≤ 0,25	2	-	≤ 0,5	1	≤ 0,25	-	≤ 0,25	-	-	≤ 0,5	≤ 0,12	--	≤ 0,5
* <i>S. epidermidis</i>	≤ 0,03	-	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	1	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,5	4	≤ 0,12	≤ 10	1
* <i>S. hominis ssp</i> ¹	≥ 0,5	-	≤ 0,25	≥ 8	≤ 0,5	≤ 0,5	1	≤ 0,25	4	1	≤ 0,25	≤ 0,5	4	≤ 0,12	≤ 10	1
* <i>S. hominis ssp</i> ²	0,25	-	≤ 0,25	≥ 8	≤ 0,5	≤ 0,5	2	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,12	≤ 10	≤ 0,5
* <i>S. saprophyticus</i>	0,25	-	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	2	≤ 0,25	≤ 0,5	2	2	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,12	≤ 10	≤ 0,5
* <i>S. warneri</i> ¹	0,25	-	≤ 0,25	≤ 0,25	1	≤ 0,5	2	≤ 0,25	≤ 0,5	0,5	≤ 0,25	2	16	≤ 0,12	≤ 10	1
* <i>S. warneri</i> ²	≥ 0,5	-	≤ 0,25	≥ 8	8	≤ 0,5	2	≤ 0,25	≤ 0,5	0,5	≤ 0,25	≥ 0,5	4	0,25	≤ 10	≤ 0,5

**Staphylococcus*; CIM: Concentração Inibitória Mínima; P: Benzylpenicilina; AM: Ampicilina; CM: Clindamicina; E: Eritromicina; FA: Fusidic Acid; CIP: Ciprofloxacina; LNZ: Linezolid; MXF: Moxifloxacina; GM: Gentamicina; NOR: Norfloxacina; OX1: Oxacilina; RA: Rifampicina; TEC: Teicoplanina; TGC: Tigeciclina; SXT: Trimetoprim/Sulfametoxazol; VA: Vancomicina.

Tabela 4. Perfil de resistência de *Serratia marcescens*, *Acinetobacter haemolyticus* e *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de águas subterrâneas.

Micro-organismos	Antibióticos - Valor de CIM (ug/mL)															
	AN	AM	SAM	FEP	FOX	CAZ	CRO	CXM	CIP	CS	ETP	GM	IPM	MEM	TZP	TGC
<i>Serratia marcescens</i> ¹	≤ 2	≥ 32	16	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	≥ 64	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	2	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Serratia marcescens</i> ²	≤ 2	16	16	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	1	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Serratia marcescens</i> ³	≤ 2	16	8	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	0,5	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Serratia marcescens</i> ⁴	≤ 2	16	8	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	1	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Serratia marcescens</i> ⁵	≤ 2	16	2	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	1	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Serratia marcescens</i> ⁶	≤ 2	16	8	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	0,5	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Serratia marcescens</i> ⁷	≤ 2	16	8	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	1	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Serratia marcescens</i> ⁸	≤ 2	16	16	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	1	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Serratia marcescens</i> ⁹	≤ 2	8	4	≤ 1	8	≤ 1	≤ 1	16	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	1
<i>Serratia marcescens</i> ¹⁰	≤ 2	16	8	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	1	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Acinetobacter haemolyticus</i> ¹	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 1	≤ 4	2	8	4	≤ 0,25	2	-	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	-	≤ 0,5
<i>Acinetobacter haemolyticus</i> ²	16	≥ 32	≥ 32	8	≤ 4	16	≥ 64	≥ 64	≥ 4	1	-	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≥ 128	≤ 0,5
<i>Acinetobacter haemolyticus</i> ³	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 1	8	2	8	4	≤ 0,25	2	-	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Acinetobacter haemolyticus</i> ⁴	≤ 2	4	≤ 2	≤ 1	≤ 4	2	8	4	≤ 0,25	≤ 0,5	-	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ¹	-	16	4	≤ 1	16	-	-	-	≤ 0,25	≤ 0,5	-	-	-	≤ 0,25	32	≤ 0,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ²	≤ 2	≥ 32	≥ 32	2	≥ 64	4	≥ 64	≥ 64	≤ 0,25	≤ 0,5	-	≤ 1	2	≤ 0,25	8	≥ 8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ³	≤ 2	≥ 32	≥ 32	2	≥ 64	4	≥ 64	≥ 64	≤ 0,25	≤ 0,5	-	≤ 1	2	≤ 0,25	8	≥ 8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ⁴	≤ 2	≥ 32	≥ 32	2	≥ 64	2	32	≥ 64	≤ 0,25	≤ 0,5	-	≤ 1	2	≤ 0,25	8	≥ 8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ⁵	≤ 2	≥ 32	≥ 32	8	≥ 64	4	≥ 64	≥ 64	≤ 0,25	2	-	≤ 1	2	4	16	≥ 8

CIM: Concentração Inibitória Mínima; AN: Amicacina; AM: Ampicilina; SAM: Ampicilina/Sulbactam; FEP: Cefepime; FOX: Cefoxitina; CAZ: Ceftazidime; CRO: Ceftriaxone; CXM: Cefuroxima; CIP: Ciprofloxacina; CS: Colistina; ETP: Ertapenem; GM: Gentamicina; IPM: Imipenem; MEM: Meropenem; TZP: Piperacilina/Tazobactam; TGC: Tigeciclina.

Tabela 5. Perfil de resistência das bactérias Gram negativas isoladas de águas subterrâneas.

Micro-organismos	Antibióticos - Valor de CIM (ug/mL)															
	AN	AM	SAM	FEP	FOX	CAZ	CRO	CXM	CIP	CS	ETP	GM	IPM	MEM	TZP	TGC
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	≤ 2	≤ 2	≤ 2	2	≤ 4	16	≤ 1	≤ 1	≤ 0,25	2	-	≤ 1	≤ 0,25	1	16	≤ 0,5
<i>Aeromonas hydrophila</i> ¹	≤ 2	≥ 32	≥ 32	≤ 1	≤ 4	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0,25	2	-	≤ 1	0,5	≤ 0,25	-	≤ 0,5
<i>Aeromonas hydrophila</i> ²	≤ 2	≥ 32	≥ 32	≤ 1	≤ 4	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,5	-	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Chromobacterium violaceum</i>	16	≥ 32	≥ 32	≤ 1	≥ 64	≤ 1	≥ 64	≥ 64	≤ 0,25	≥ 16	1	≤ 1	8	-	≥ 128	≤ 0,5
<i>Citrobacter freundii</i> ¹	≤ 2	8	≤ 2	≤ 1	32	≤ 1	≤ 1	4	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Citrobacter freundii</i> ²	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 1	32	≤ 1	≤ 1	4	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Citrobacter sedlakii</i>	≤ 2	4	≤ 2	≤ 1	≥ 64	≤ 1	≤ 1	4	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	0,5	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Enterobacter asburiae</i> ¹	≤ 2	16	4	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Enterobacter asburiae</i> ²	≤ 2	8	4	≤ 1	≥ 64	≤ 1	≤ 1	4	≤ 0,25	2	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Enterobacter cloacae complex</i> ¹	≤ 2	16	≤ 2	≤ 1	≤ 4	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Enterobacter cloacae complex</i> ²	≤ 2	≥ 32	≥ 32	≤ 1	≥ 64	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	8	≤ 0,25	≤ 0,25	16	1
<i>Enterobacter gergoviae</i>	≤ 2	4	≤ 2	≤ 1	≤ 4	≤ 1	≤ 1	2	≤ 0,25	≥ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	0,5	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	≤ 2	16	≤ 2	≤ 1	≤ 4	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Klebsiella pneumoniae ssp.</i>	≤ 2	16	4	≤ 1	≤ 4	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0,25	≥ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Kluyvera intermédia</i>	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 1	≤ 4	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≥ 128	≤ 0,5
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	16	≥ 32	≥ 32	4	≤ 4	≥ 64	≥ 64	≥ 64	≥ 4	≤ 0,5	-	8	0,5	≤ 0,25	≥ 128	1
<i>Pantoea ssp.</i>	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 1	≤ 4	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0,25	≥ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	-	≤ 0,5
<i>Pseudomonas putida</i>	≤ 2	≥ 32	≥ 32	2	≥ 64	4	16	≥ 64	≤ 0,25	≤ 0,5	-	≤ 1	1	4	32	≥ 8
<i>Ralstonia mannitolilytica</i>	8	≥ 32	16	≤ 1	16	8	≤ 1	16	≤ 0,25	≥ 16	-	≥ 16	≥ 16	8	≥ 128	2
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	8	≤ 2	≤ 2	16	≥ 64	≥ 64	16	4	≥ 4	≥ 16	-	4	2	4	8	≤ 0,5

CIM: Concentração Inibitória Mínima; AN: Amicacina; AM: Ampicilina; SAM: Ampicilina/Sulbactam; FEP: Cefepime; FOX: Cefoxitina; CAZ: Ceftazidime; CRO: Ceftriaxone; CXM: Cefuroxima; CIP: Ciprofloxacina; CS: Colistina; ETP: Ertapenem; GM: Gentamicina; IPM: Imipenem; MEM: Meropenem; TZP: Piperacilina/Tazobactam; TGC: Tigeciclina.