

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

THIAGO LIMA BIANCHI

**AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS DE BACTÉRIAS
ESCHERICHIA COLI PRESENTES NOS RIOS DA BACIA
HIDROGRÁFICA DO RIBEIRÃO DOS PADILHAS, CURITIBA-PR –
ESTUDO DE CASO**

CURITIBA

2023

THIAGO LIMA BIANCHI

**AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS DE BACTÉRIAS
ESCHERICHIA COLI PRESENTES NOS RIOS DA BACIA
HIDROGRÁFICA DO RIBEIRÃO DOS PADILHAS, CURITIBA-PR –
ESTUDO DE CASO**

**Evaluation of resistance to antibiotics of the bacteria *Escherichia coli* in the
Padilha's stream basin, Curitiba-PR – a case study**

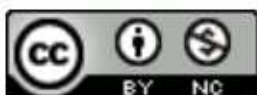
Dissertação apresentada como requisito à obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil, do Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Thomaz Aurélio Pagioro

Co-orientadora: Prof.^a Ms. Lucy Marta Schellin

CURITIBA

2023



Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)



THIAGO LIMA BIANCHI

AValiação de Resistência aos Antibióticos de Bactérias Escherichia Coli Presentes nos Rios da Bacia Hidrográfica do Ribeirão dos Padilhas, Curitiba-PR Estudo de Caso

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Engenharia Civil da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Meio Ambiente.

Data de aprovação: 29 de Agosto de 2022

Dr. Thomaz Aurelio Pagioro, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Flavio Bentes Freire, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Julio Cesar Rodrigues De Azevedo, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Ma. Lucy Marta Schellin, Mestrado - Universidade Federal do Paraná (Ufpr)

Dr. Sandro Jose Froehner, Doutorado - Universidade Federal do Paraná (Ufpr)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 29/08/2022.

Dedico este trabalho à minha família, uma das grandes razões de eu escalar esta montanha: Pai, mãe, Matheus e Dani, a vista daqui de cima é linda!

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, pelo dom da vida, pela base familiar e pela luz, que sempre me guiou. Sem ele, eu não sou.

A Meishu-Sama, por me mostrar a importância da doutrina espiritualista em interação à cultura materialista. A ciência é esplêndida! Mas importante que seja voltada para o bem comum.

Ao meu pai (Celso), por todo o carinho, todos os ensinamentos e por todos os bons exemplos. Ainda que de família humilde e carente de estudos, foi capaz de me mostrar a importância de sempre buscar conhecimento e ter comprometimento com o que faz. Pai, você é meu maior exemplo!

À minha mãe (Jane), por abrir mão dos projetos pessoais e se dedicar, exclusivamente, ao papel de mãe, para criar eu e meus irmãos. Mãe, nós todos vivemos por você! Você é a nossa rainha!

Ao meu mais velho irmão (Matheus), por, desde meu primeiro suspiro, me aceitar como irmão e cuidar de mim. Por mostrar que a minha caminhada faria mais sentido com alguém do meu lado. Matheus, me desculpe, sei que temos nossas divergências. Mesmo assim, atravessaria o maior deserto, ponta a ponta, se preciso, por você.

À minha irmã mais nova (Dani), por simplesmente ser ela, desde sempre, do jeito dela. Eu não tenho dúvida: Nascemos feitos um para o outro.

Aos meus avôs, Marcos e Aparecido (*in memoriam*), às minhas avós, Iracema e Soledade, aos meus tios e tias Adilson, Alex, Beto, Cê, Celi, Dito, Eliana, Heloísa e Rodrigo, que fazem parte do meu bem mais precioso.

À Lucy. Minha co-orientadora e anjo da guarda. Minha madrinha de carreira. Mãe e amiga confidente. Sou seu fã!

À instituição UTFPR, pela oportunidade de me alavancar como acadêmico. Pela oportunidade de mostrar que sou, sim, capaz de superar os meus limites.

Ao meu orientador, por todo carinho e paciência comigo. Professor, meu muito obrigado!

Hoje quero agradecer. E amanhã, se houver, quero me lembrar de hoje.

Em toda a vastidão cósmica, não há nenhum indício de que alguma ajuda possa vir de outro lugar para nos salvar de nós mesmos. Goste ou não, a Terra é o lugar onde temos de ficar. Não há outro. Por isso, cabe-nos a responsabilidade de sermos mais amáveis uns para com os outros (SAGAN Carl, 1990).

RESUMO

BIANCHI, Thiago Lima. **Avaliação de resistência aos antibióticos de bactérias *Escherichia coli* presentes nos rios da bacia hidrográfica do Ribeirão dos Padilhas, Curitiba-PR – Estudo de caso.** 2022. 100f. Dissertação de Mestrado em Engenharia Civil - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2022.

A *Escherichia coli* faz parte do grupo de enterobactérias naturalmente presentes no trato gastrointestinal humano. Algumas estirpes, em função de seus fatores de virulência e sorologia específicos, apresentam características de patogenicidade aos seres humanos, desencadeando gastroenterites e algumas infecções, especialmente urinárias. Além da patogenicidade, a resistência aos antibióticos tem se tornado outra ameaça emergente pelas autoridades públicas, conforme retrata a Organização Mundial da Saúde. Com base nisto, foram realizados Testes de Suscetibilidade aos Antibióticos (TSA) de cepas de *E. coli*, detectadas em diferentes pontos de coleta na bacia hidrográfica do ribeirão dos Padilhas, situados no rio principal e seus afluentes. O objetivo do presente estudo foi delinear o perfil microbiológico de cepas de *E. coli*, encontradas nos corpos hídricos da bacia, quando da presença dos antibióticos amicacina, amoxicilina, ceftriaxona, ciprofloxacina e cloranfenicol e discorrer de seus impactos na saúde pública da região. Depois de detectadas, as colônias de *E. coli* foram isoladas e cultivadas em meios de cultura específicos seguindo os procedimentos padrões da APHA e, atingido o tempo de cultivo pré-estabelecido, foram depositados discos de antibióticos comerciais sobre os meios de cultura inoculados em placas de petri, possibilitando classificar as cepas em resistentes, de resistência intermediária ou suscetíveis, conforme os halos de inibição medidos, adotando como padrão de qualidade a cepa ATCC 25922. Dos 35 pontos amostrados, em 17 foram detectadas colônias de *E. coli*, das quais 88,2% se mostraram resistentes à amicacina, 100% à amoxicilina, 70,5% ao ceftriaxona, 94,1% à ciprofloxacina e 88,2% ao cloranfenicol. Esta verificação levou à constatação de uma alta variabilidade genética das cepas estudadas, corroborando com a necessidade da intervenção de profissionais dos mais diversos segmentos a fim de estabelecer uma gestão mais efetiva e abrangente dos corpos hídricos da região, bem como de profissionais da área da saúde, quando da adoção do tratamento mais eficaz no combate às cepas de *E. coli* consideradas patogênicas ao organismo humano.

Palavras-chave: Microrganismos multirresistentes. Resistência a antibióticos. Bacia hidrográfica, TSA.

ABSTRACT

BIANCHI, Thiago Lima. **Evaluation of resistance to antibiotics of the bacteria *Escherichia coli* in the Padilha's stream basin, Curitiba-PR – A case study.** 2022. 100f. Dissertação de Mestrado em Engenharia Civil - Federal Technology University - Paraná. Curitiba, 2022.

Escherichia coli is part of the enterobacteria present in the human gastrointestinal tract. Some strains, due to their virulence factors and specific serology, present characteristics of pathogenicity to human beings, triggering gastroenteritis and some infections, especially in the urinary tract. In addition to pathogenicity, antibiotic resistance has become another emerging threat by public authorities, as portrayed by the World Health Organization (WHO). Based on this, Antibiotic Susceptibility Tests (ATS) of *E. coli* strains were carried out, and detected at different collection points in the Padilhas river basin, located in the main river and its tributaries. The objective of the present study was to outline the microbiological profile of *E. coli* strains found in the water bodies of the basin, in the presence of the antibiotics amikacin, amoxicillin, ceftriaxone, ciprofloxacin and chloramphenicol, and to discuss their impacts on public health in the region. After being detected, the *E. coli* colonies were isolated and cultured in specific culture media following the APHA standard procedures and, after reaching the pre-established culture time, commercial antibiotic discs were disposed of onto the inoculated culture media in petri dishes, allowing classify the strains as resistant or susceptible according to the inhibition halos measured, adopting the ATCC 25922 strain as the quality standard. Of the 35 points sampled, 17 colonies of *E. coli* were detected, of which 88.2% were resistant to amikacin, 100% to amoxicillin, 70.5% to ceftriaxone, 94.1% to ciprofloxacin and 88.2% to chloramphenicol. This verification led to the finding of high genetic variability of the studied strains, corroborating the need for the intervention of professionals from the most diverse segments in order to establish more effective and comprehensive management of the water bodies, as well as health professionals aiming to adopt the most effective treatment to combat strains of *E. coli* considered pathogenic to the human body.

Keywords: Multi-resistant microorganisms. Antibiotics. Watershed. TSA.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Classificação da <i>E. coli</i> em patótipos.....	21
Figura 2 - Pontos de coleta na bacia hidrográfica do rio Xopotó (MG).....	22
Figura 3 - Enumeração de EC em NMP da bacia hidrográfica do rio Xopotó	23
Figura 4 - Mecanismo de Persistência Bacteriana	24
Figura 5 - Probabilidade de Infecção para as Bactérias <i>E. coli</i> , <i>Salmonella spp</i> e <i>Shigella spp</i>	26
Figura 6 - Contribuição de cada fonte de contaminação no risco à saúde pelo contato com as águas da bacia de Walnut Creek, Texa	27
Figura 7 - Ilustração de bactéria quando em contato com fragmentos de DNA dispersos no meio	32
Figura 8 - Localização dos pontos de monitoramento de parâmetros microbiológicos do rio Lez e seus tributários	35
Figura 9 - Enumeração microbiológica de bactérias cultiváveis, coliformes termotolerantes (grupo) e bactérias <i>Enterococcus</i> (subgrupo).....	36
Figura 10 - Inativação de bactérias heterotróficas e bactérias resistentes a antibióticos por cloração em diferentes modos de operação.	38
Figura 11 – Crescimento de bactérias heterotróficas e resistentes a antibióticos para efluente secundário não desinfetado com cloro e desinfetado com cloro	39
Figura 12 - Frequência de resistência para diferentes combinações de antibióticos, para efluentes secundários	40
Figura 13 – Frequência de resistência para diferentes combinações de antibióticos, para efluentes terciários desinfetados com UV	40
Figura 14 - Frequência de resistência para diferentes combinações de antibióticos, para efluentes terciários desinfetados com cloro	41
Figura 15 - Localização da bacia hidrográfica do ribeirão dos Padilhas, a leste do município de Curitiba.....	42
Figura 16 - Localização da bacia hidrográfica ribeirão dos Padilhas (à esquerda) (SUDHERSA, 2002) e diagrama unifilar de drenagem da bacia do rio dos Padilhas (à direita) (PDD, 2018).	43
Figura 17 - Assentamentos de tubulações de esgoto rentes às margens do rio dos Padilhas	44
Figura 18 - Assentamentos irregulares nas margens do rio dos Padilhas	44
Figura 19 – Lançamento de esgoto no rio Padilha.....	45
Figura 20 - Delimitação do rio Jardim Esmeralda.....	46
Figura 21 - Identificação dos pontos de coleta	48
Figura 22 – Registro fotográfico dos pontos de coleta no ribeirão dos Padilhas (Pontos 6 e 7) e no córrego Jardim Esmeralda (Pontos 1, 2, 3, e 4).....	49
Figura 23 - Representação esquemática dos procedimentos experimentais	50
Figura 24 – (a) Soluções de meio ágar EMB (coloração avermelhada) e (b) <i>Müller Hinton</i> (coloração alaranjada) autoclavadas	52
Figura 25 - Placas de petri contendo meio ágar EMB	52
Figura 26 - Semeadura de placa por estria sinuosa	53

Figura 27 - Acondicionamento das placas de petri para semeadura.....	53
Figura 28 - Cubetas contendo 3 mL de solução fisiológica 0,9%.....	54
Figura 29 - Comparação de turbidez de solução imediatamente após a inoculação (à esquerda) e turbidez de solução após 4h em estufa a 35°C (à direita).....	54
Figura 30 – Representação do espaçamento mínimo entre antibióticos para placas de petri com diâmetro de 9 cm.....	55
Figura 31 - Antibióticos comerciais utilizados no TSA.....	56
Figura 32 - Detecção de colônias de <i>E. coli</i> (coloração verde metálica).....	58
Figura 33 - Antibiograma de amostra do ribeirão dos Padilhas.....	59
Figura 34 - Antibiograma de amostra do córrego Jardim Esmeralda.....	60
Figura 35 - Antibiograma de amostra do arroio Pinheirinho.....	60
Figura 36 - Antibiograma de amostra do arroio Cercado.....	61
Figura 37 - Antibiograma de amostra do arroio Boa Vista.....	62
Figura 38 - Caracterização de cepas de <i>E. coli</i> resistentes à amicacina Fonte: Autoria própria, 2022.....	63
Figura 39 - Caracterização de cepas de <i>E. coli</i> resistentes à amoxicilina + ac. Clavulânico.....	64
Figura 40 - Caracterização de cepas de <i>E. coli</i> resistentes à ceftriaxona.....	65
Figura 41 - Caracterização de cepas de <i>E. coli</i> resistentes à ciprofloxacina.....	66
Figura 42 - Caracterização de cepas de <i>E. coli</i> resistentes ao cloranfenicol.....	67
Figura 43 – Identificação da Estação de Tratamento Padilha Sul.....	72
Figura 44 – Fotografia aérea da Estação de Tratamento Padilha Sul.....	73
Figura 45 - Caracterização do Ponto P1, sito ribeirão dos Padilhas.....	82
Figura 46 - Caracterização do Ponto P2, sito ribeirão dos Padilhas.....	83
Figura 47 - Caracterização do Ponto P3, sito ribeirão dos Padilhas.....	84
Figura 48 - Caracterização do Ponto P4, sito ribeirão dos Padilhas.....	85
Figura 49 - Caracterização do Ponto P5, sito ribeirão dos Padilhas.....	86
Figura 50 - Caracterização do Ponto P6, sito ribeirão dos Padilhas.....	87
Figura 51 - Caracterização do Ponto P1, sito rio Esmeralda.....	88
Figura 52 - Caracterização do Ponto P2, sito rio Esmeralda.....	89
Figura 53 - Caracterização do Ponto P3, sito rio Esmeralda.....	90
Figura 54 - Caracterização do Ponto P4, sito rio Esmeralda.....	91
Figura 55 - Caracterização do Ponto P5, sito rio Esmeralda.....	92
Figura 56 - Caracterização do Ponto P1, sito rio Pinheirinho.....	93
Figura 57 - Caracterização do Ponto P2, sito rio Pinheirinho.....	94
Figura 58 - Caracterização do Ponto P1, sito arroio Cercado.....	95
Figura 59 - Caracterização do Ponto P2, sito arroio Cercado.....	96
Figura 60 - Caracterização do Ponto P1, sito arroio Boa Vista.....	97
Figura 61 - Caracterização do Ponto P2, sito arroio Boa Vista.....	98
Gráfico 1 - Enumeração de EC em NMP da bacia hidrográfica do rio Xopotó.....	23

Quadro 1 - Pontos de detecção de patótipos de EC na bacia hidrográfica do rio Xopotó.....	22
Quadro 2 - Classificação de bactérias em "MDR", "XDR" ou "PDR"	29
Quadro 3 - Classificação de cepas de <i>E. coli</i> com base nos halos de inibição das cepas padrão dos tipos ATCC 25922 e ATCC 35218	31
Quadro 4 - Características visuais dos microrganismos conforme controle de qualidade adotado.....	51
Quadro 5 - Classificação de cepas de <i>Escherichia coli</i> com base nos halos de inibição das cepas padrão dos tipos ATCC 25922 e ATCC 35218	56
Quadro 6 – Detecção de cepas de <i>E. coli</i> na bacia hidrográfica do ribeirão dos Padilhas.....	57
Quadro 7 - Caracterização do Ribeirão dos Padilhas quanto ao perfil de resistência das cepas de <i>E. coli</i> por meio da aplicação de TSA.	59
Quadro 8 - Caracterização do córrego Jardim Esmeralda quanto ao perfil de resistência das cepas de <i>E. coli</i> por meio da aplicação de TSA.	59
Quadro 9 – Caracterização do arroio Pinheirinho quanto ao perfil de resistência das cepas de <i>E. coli</i> por meio da aplicação de TSA.	60
Quadro 10 - Caracterização do arroio Cercado quanto ao perfil de resistência das cepas de <i>E. coli</i> por meio da aplicação de TSA.	61
Quadro 11 - Caracterização do arroio Boa Vista quanto ao perfil de resistência das cepas de <i>E. coli</i> por meio da aplicação de TSA.	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Categorias e agentes antimicrobianos utilizados para a classificação de bactérias em MDR, XDR e PDR segundo a NCCLS (CLSI) (2011)	30
Tabela 2 – Resistência de colônias de coliformes a diferentes antimicrobianos.	37
Tabela 3 - Identificação geográfica dos pontos de coleta e respectivos afluentes. ...	47
Tabela 4 – Enumeração dos parâmetros coliformes totais, coliformes termotolerantes e <i>E. coli</i>	70

LISTA DE ABREVIATURAS

E. coli *Escherichia coli*

LISTA DE SIGLAS

AMC	Amoxicilina
AMI	Amicacina
AMO	Amoxicilina
AMP	Ampicilina
ARB	Bactéria Resistente aos Antibióticos
ARG	Gene Resistente aos Antibióticos
ARM	Análise de Resistência aos Medicamentos
ATCC	American Type Culture Collection
ATM	Aztreonam
AZI	Azitromicina
CAZ	Ceftazidima
CE	Comissão Europeia
CF	Cefalotina
CHL	Cloranfenicol
CIP	Ciprofloxacina
CLO	Cloranfenicol
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
CRO	Ceftriaxona
CT	Colistina
DDA	Dose Média Diária
DIP	Doenças Infecciosas e Parasitárias
AMC	Amoxicilina
AMI	Amicacina
AMO	Amoxicilina
AMP	Ampicilina
ARB	Bactéria Resistente aos Antibióticos

ERI	Eritromicina
ESBL	Enterobactéria Produtora de Beta-Lactamase de Espectro Estendido
F	Nitrofurantoína
FOS	Fosfomicina
GN	Gentamicina
HPC	Bactérias Heterotróficas
IPM	Iminepem
IQA	Índice de Qualidade das Águas
K	Canamicina
KF	Cefalotina
MDR	Resistente a Múltiplos Medicamentos
MST	Método de Rastreamento de Fonte Microbiana
NMP	Número Mais Provável
OFL	Ofloxacina
OMS	Organização Mundial da Saúde
P	Penicilina
PCR	Reação em Cadeira da Polimerase
PDR	Panresistente aos Medicamentos
QMRA	Avaliação Quantitativa de Risco Microbiano
RIF	Rifocina
S	Streptomomicina

LISTA DE ACRÔNIMOS

DATASUS	Banco de Dados do Sistema Único de Saúde
ETEC	<i>Escherichia coli</i> Enterotoxigênica
EPEC	<i>Escherichia coli</i> Enteropatogênica
EIEC	<i>Escherichia coli</i> Enteroinvasiva
EHEC	<i>Escherichia coli</i> Enterohemorrágica
STEC	<i>Escherichia coli</i> Produto de Toxina <i>Shiga</i>
APHA	<i>American Public Health Association</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1. OBJETIVOS	16
1.1.1. Objetivo Geral	16
1.1.2. Objetivos Específicos	16
1.2. JUSTIFICATIVA	16
1.3. DELIMITAÇÃO DA PESQUISA	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1. COLIFORMES TOTAIS	18
2.1.1. Escherichia Coli	19
2.2. CONTAMINAÇÃO DE CORPOS HÍDRICOS E AVALIAÇÃO DE RISCOS.....	23
2.3. CLASSIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS QUANTO À RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS.....	29
2.3.1. Análise de Resistência	34
2.4. BACIA DO RIBEIRÃO DOS PADILHAS	42
3 MATERIAIS E MÉTODOS	47
3.1. DEFINIÇÃO DOS PONTOS DE COLETA NA BACIA DO RIO PADILHA.....	47
3.2. PREPARO DOS MEIOS DE CULTURA E SEMEADURA DAS AMOSTRAS ...	51
3.3. DETECÇÃO E ISOLAMENTO DAS COLÔNIAS DE <i>ESCHERICHIA COLI</i>	53
3.4. TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS (TSA).....	55
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.1. DETECÇÃO DE COLÔNIAS DE <i>E. COLI</i>	57
4.2. CARACTERIZAÇÃO DO RIBEIRÃO DOS PADILHAS QUANTO À RESISTÊNCIA DAS CEPAS DE <i>E. COLI</i> AOS ANTIBIÓTICOS.....	58
4.3. MICROBIOLOGIA NA GESTÃO DAS ÁGUAS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIBEIRÃO DOS PADILHAS.....	69
4.4. ALTERNATIVAS NO COMBATE ÀS CEPAS BACTERIANAS MULTIRRESISTENTES PRESENTES NA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIBEIRÃO DOS PADILHAS	71
5 CONCLUSÕES	74
6 REFERÊNCIAS	76
ANEXO A – CARACTERIZAÇÃO DE AMOSTRAS DE ÁGUA DA BACIA DO RIBEIRÃO DOS PADILHAS QUANTO À RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS ..	82

1 INTRODUÇÃO

Mesmo não sendo o único indicador bacteriano utilizado como parâmetro na avaliação da qualidade das águas, a adoção do parâmetro “densidade de coliformes totais” é a prática mais difundida no Brasil. De acordo com a Portaria 888 de 2021 (BRASIL, 2021), este indicador é usualmente adotado tanto para análises biológicas em águas de abastecimento quanto para águas residuais. E, ainda que amplamente difundida como uma prática padrão, a identificação e contagem de bactérias coliformes nos corpos hídricos não implicam necessariamente na real patogenicidade ao organismo humano, cabendo, muitas vezes, uma análise mais aprofundada das águas sob o âmbito da saúde pública de uma determinada região (DRUMOND *et al.*, 2018).

De acordo com Pruden *et al.* (2006), bactérias resistentes a antibióticos (ARB) estão emergindo como um importante tema da microbiologia de corpos hídricos superficiais. A disseminação de pesquisas que apontam os fatores determinantes de resistência a antibióticos de organismos patogênicos se tornou muito relevante para o tratamento de doenças infecciosas, sejam elas pela ingestão de alimentos contaminados ou em contato com águas contaminadas. Em regiões urbanizadas e que carecem de infraestrutura adequada de saneamento básico, os resíduos provenientes das atividades humanas atingem os corpos hídricos da região hidrográfica e contribuem significativamente no surgimento e desenvolvimento de populações bacterianas resistentes a antibióticos.

Os ambientes aquáticos são considerados locais propícios para o surgimento de cepas resistentes a antibióticos, pois contribuem também com o surgimento, desenvolvimento e compartilhamento de genes que conferem às bactérias maior capacidade de adaptação. Com base nisto, é amplamente aceita a teoria que bactérias resistentes a antibióticos, como a *E. coli*, liberada nas fezes de humanos e animais de sangue quente em corpos hídricos superficiais, são capazes de introduzir seus genes resistentes na comunidade bacteriana nativa (GILLINGS; STOKES, 2012).

O grupo de bactérias coliformes totais abrange cerca de oitenta espécies bacterianas. Destas, podem ser citadas a *Escherichia coli* e outras bactérias como a *Klebsiella*, *Citrobacter* e *Enterobacter*. A *E. coli* faz parte das bactérias do grupo dos

coliformes originários do trato gastrointestinal humano. Outras bactérias do mesmo grupo são encontradas nos diversos compartimentos ambientais (TAVARES, 2002).

Geralmente, a *E. coli* é uma bactéria comensal que faz parte da microbiota intestinal, no entanto, algumas estirpes deste grupo de coliformes são consideradas patogênicas aos seres-humanos. Das estirpes de *E. coli* que causam infecções intestinais, são destacadas a *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC); *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) e *E. coli* de aderência difusa (DAEC) (Kaper *et al.*, 2004). Estas bactérias são responsáveis por enfermidades como: Infecção urinária, enterite, meningite neonatal, pneumonia, septicemia hospitalar, endoftalmite, artrite séptica, endocardite, abscessos hepático e cerebral (TAVARES, 2002).

Além da patogenicidade que estas bactérias naturalmente apresentam aos seres humanos, a resistência aos antibióticos das *E. coli* se tornou outra ameaça emergente. De acordo com a OMS (2017), a pesquisa e o desenvolvimento de novos antibióticos são necessários com urgência, visto que a resistência das bactérias aos medicamentos avança com muito mais agilidade que o desenvolvimento de novos antibióticos.

Como consequência da evolução da resistência bacteriana ao longo dos anos, pode-se destacar o aumento da morbimortalidade, bem como o aumento no tempo de internação e gastos com custos assistenciais (TAVARES, 2002). Tal afirmativa é evidenciada, especialmente, em regiões de baixa renda e que carecem de uma gestão integrada de recursos hídricos, onde a população, além de não ter acesso à uma estrutura mínima de saneamento requerida, conforme prevê a Lei 9433/1997 (que institui a Política Nacional de Recursos Hídricos), é assolada pela ocorrência de inundações provocadas por precipitações (FERREIRA, 2005).

Na bacia hidrográfica do ribeirão dos Padilhas, localizada na região leste de Curitiba, muitos alagamentos foram registrados devido à sua desenfreada urbanização (FERREIRA, 2005), contribuindo com casos de internação por doenças de veiculação hídrica.

O Índice de Qualidade das Águas (IQA) do ribeirão dos Padilhas foi apontado como o menor das sub-bacias de Curitiba (MARHS, 2021). Das principais causas da baixa qualidade das águas, tem-se o lançamento de esgoto doméstico sem o devido tratamento prévio. Além disso, é amplamente aceita a teoria de que a

matéria fecal humana tem maior probabilidade de conter microrganismos patogênicos do que as fezes de animais (ASHBOLT, 2015), o que torna maior a possibilidade de infecções e doenças.

Cada vez mais as bactérias produzem mecanismos de resistência contra os antimicrobianos. Dentre os mecanismos de resistência das bactérias patogênicas, cabe destacar o aumento do número de infecções causadas por enterobactérias produtoras de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL), que é uma enzima capaz de inativar os antibióticos beta-lactâmicos (WILLIAMS, 1999). Dos antibióticos beta-lactâmicos, são considerados os medicamentos pertencentes às classes das penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e dos monobactâmicos.

Um estudo realizado por Soares *et al.* (2005) possibilitou observar a ocorrência de cepas de *E. coli* que apresentavam resistência aos antibióticos beta-lactâmicos. O aumento do número de infecções causadas por ESBL tem alertado a comunidade científica e atenuado o uso de cefalosporinas de primeira, segunda e terceira geração, devido à emergência desses agentes resistentes. Grande parte das infecções causadas por bactérias produtoras de beta-lactamase são provenientes de infecções hospitalares graves, de pacientes das Unidades de Terapia Intensiva (UTI) e emergências (COCHARD, 2014).

Com isso, algumas pesquisas exploram o tema da resistência de bactérias heterotróficas por meio da aplicação de métodos baseados nos meios de cultura (SEO, LEE e KIM, 2019), já que são facilmente cultivadas seguindo os procedimentos padrões seguidos de Teste de Suscetibilidade aos Antibióticos (TSA), possibilitando classificar as cepas bacterianas em sensíveis, de resistência intermediária ou resistentes (AUJOLAT *et al.*, 2021).

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. *Objetivo Geral*

Este trabalho tem como objetivo geral realizar uma análise de resistência aos antibióticos de bactérias *Escherichia coli* presentes nos rios da bacia hidrográfica do ribeirão dos Padilhas, Curitiba-PR.

1.1.2. *Objetivos Específicos*

Com o desdobramento do objetivo geral, os objetivos específicos envolvem os seguintes pontos:

- Identificar colônias de *Escherichia coli* presentes em diferentes pontos de escoamento do rio dos Padilhas e seus afluentes;
- Avaliar a incidência de resistência destas cepas de *E. coli* aos antibióticos amicacina, amoxicilina, ceftriaxona, ciprofloxacina e cloranfenicol.
- Discorrer de aspectos históricos sanitários da bacia do rio dos Padilhas e sua relação com os resultados de resistência aos antibióticos apresentados.

1.2. JUSTIFICATIVA

Pelo menos 2/3 da poluição dos corpos hídricos está ligada ao lançamento de esgotos domésticos não tratados. Embora o corpo hídrico possua certa capacidade de autodepuração, os modelos matemáticos usualmente empregados no equacionamento destas cargas orgânicas, indicam um processo que pode levar quilômetros até o reestabelecimento do estado natural do corpo de água (SOUZA, 2021).

Nos dias de hoje, a avaliação da qualidade das águas está intimamente ligada à quantidade de coliformes totais ali presentes. A densidade de indicadores fecais é a base para a verificação da poluição fecal em áreas sujeitas à contaminação (SEO, LEE e KIM, 2019). Mesmo que a enumeração de bactérias apresente forte correlação com a patogenicidade das águas urbanas, muitas pesquisas acadêmicas

apontam a ocorrência de pontos de coleta de alto potencial patogênico, mas com uma concentração de coliformes mais baixa em relação aos outros pontos amostrados. Tal premissa permite levantar a hipótese de que, muitas vezes, a enumeração de coliformes totais no enquadramento dos corpos de água não condiz com o seu real risco à população.

Considerando o quadro geral de saúde no Estado do Paraná, é possível observar que as doenças infecciosas e parasitárias (DIP) não aparecem mais dentre as cinco primeiras causas de morte e internações. Conforme dados do SIM-DATASUS (2014) a DIP constituía, na década de 1960, na primeira causa de mortalidade geral, passando para quarta na década de 1980, e para nona causa na década de 2010.

Um dos principais fatores a produzir esta alteração no perfil epidemiológico do Estado está atrelado aos investimentos em sistemas de saneamento ambiental. Como exemplo, pode ser citado o Programa de Aceleração ao Crescimento de 2014, que dispôs de verbas para a construção de infraestrutura drenante sobre as manchas de cheia no município de Curitiba. Tal projeto resultou em uma importante melhoria na saúde pública na cidade, especialmente na bacia hidrográfica do ribeirão dos Padilhas (DATASUS, 2014).

1.3. DELIMITAÇÃO DA PESQUISA

Foi feito um estudo de campo, entre os meses de março e outubro de 2021 na bacia hidrográfica do ribeirão dos Padilhas, com o intuito de analisar a variação espacial da resistência das colônias de *Escherichia coli* aos antibióticos amicacina, amoxicilina, ceftriaxona, ciprofloxacina e cloranfenicol.

Ao todo, foram feitas 37 coletas, distribuídas entre o afluente principal e os seus tributários (rio Jardim Esmeralda, arroio Pinheirinho, arroio Cercado, arroio Boa Vista e rio Vila Osternack).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1.1 COLIFORMES TOTAIS

A maioria dos organismos do grupo dos coliformes está presente em ambientes como o solo, sedimentos, ambientes aquáticos e, inclusive, no trato intestinal humano e de animais. Das bactérias encontradas no trato gastrointestinal de animais de sangue quente, são mencionados os gêneros *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebisella*, *Serratia* e *Escherichia coli*, além de serem bactérias comumente encontradas em água potável (DUFOR, 1977).

Nos dias de hoje, a avaliação da qualidade das águas está intimamente ligada à quantidade de coliformes totais ali presentes. A enumeração de indicadores fecais é a base para a verificação da poluição fecal em áreas sujeitas à contaminação (SEO, LEE e KIM, 2019).

SEO, LEE e KIM (2019) investigaram a distribuição de bactérias coliformes no rio Nakdong e analisaram a relação entre estas com parâmetros físicos, químicos e biológicos da água por meio de análises estatísticas. Especificamente, a precipitação foi o fator mais influente para a concentração de bactérias do grupo dos coliformes. Os coliformes fecais foram identificados em maiores concentrações em trechos de alta concentração de ortofosfatos e sólidos suspensos totais.

Mesmo não sendo o único indicador bacteriano utilizado como parâmetro na avaliação das águas potáveis, a enumeração de coliformes totais é a prática mais difundida no Brasil, seja para análises biológicas de águas de abastecimento (Portaria 888/21) (BRASIL, 2021), como para águas residuais e salgadas (CONAMA 357/05) (BRASIL, 2005) e de balneabilidade (Portaria 274/00) (BRASIL, 2000).

Nos Estados Unidos, os coliformes totais são recomendados pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA, 2012), na avaliação da qualidade da água potável, a *Escherichia coli* e enterococos são recomendados para a avaliação das águas doces e, para as águas salgadas, é mais comum a utilização das bactérias do gênero *enterobacter* como indicadores de contaminação.

Para a contagem destas bactérias, os métodos tradicionalmente adotados são o de Múltiplos Tubos (APHA, 2017), da Técnica de Filtração em Membrana e os métodos rápidos: Colilert e Colitag. O método de Múltiplos Tubos é mais laborioso,

exigindo uma grande quantidade de meios de cultura e vidrarias, porém o mais recomendado na literatura técnica.

Todos eles requerem de 24 a 74h para a contagem de coliformes. A Técnica de Filtração em Membrana utiliza equipamentos de custo elevado e não é indicada para águas com altos índices de turbidez, visto que este parâmetro interfere no processo de filtração. Os métodos rápidos Colilert e Colitag surgiram para abreviar o tempo necessário para a obtenção dos resultados, simplificação do trabalho e redução dos gastos. Esses dois métodos são aprovados pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (2003).

Nos corpos hídricos, a validade da análise de incidência de coliformes fecais também é afetada pelas taxas relativas de remoção e destruição do indicador do próprio ambiente. Portanto, diferenças devidas à resistência ambiental ou mesmo a capacidade destas bactérias no meio ambiente são características que devem ser levadas em consideração (DERISIO, 2000).

Quanto maior o número de pessoas contribuindo no lançamento de esgotos domésticos nos corpos hídricos, mais propício se torna o ambiente para a reprodução e crescimento destas bactérias, especialmente em ambientes lênticos e de baixa vazão (ASHBOLT, 2015).

Para a identificação das bactérias indicadoras de poluição, dentro do grupo dos coliformes totais, comumente são utilizados compostos cromogênicos, que são adicionados aos meios de cultura. As bactérias *Escherichia coli* (EC) são pertencentes ao grupo dos coliformes totais e podem ser citadas como o maior agente indicador de contaminação fecal. Para a identificação de cepas de EC a coloração comumente observada é esverdeada em meio de cultura específico (ISHII e SADOWSKY, 2008).

2.1.2 ESCHERICHIA COLI

A *Escherichia coli* (EC), também denominada de *E. coli*, é uma bactéria gram-negativa, fermentativa, anaeróbia facultativa e cultivada facilmente *in vitro* a partir dos meios de cultura de rotina. Visto que a *E. coli* se constitui em cerca de 95% dos coliformes existentes nas fezes humanas e de outros animais, os padrões de potabilidade vigentes tendem a estabelecer os limites máximos de concentração

destas bactérias adequados para consumo humano (BRASIL, 2005; FERNANDES e GOIS, 2015). Além disso, dentro do grupo dos coliformes fecais, a EC é facilmente identificada por meio da utilização de meios de cultura específicos. Por isso, a enumeração direta de *E. coli* se tornou muito útil para análise microbiológica.

De acordo com a Portaria 2.914/11, que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, os sistemas de abastecimento que utilizam mananciais superficiais devem realizar monitoramento mensal de *E. coli* nos pontos de captação de água.

A *E. coli* possui a capacidade de crescer em temperaturas mais elevadas em relação às outras bactérias e tem seu habitat quase que exclusivamente limitado ao trato intestinal de seres humanos e animais de sangue quente (FERNANDES e GOIS, 2015).

Mesmo que a maioria das estirpes de *E. coli* seja inócua no estômago e raramente cause doenças em indivíduos considerados saudáveis, algumas delas são patogênicas e podem causar doenças intestinais e extra intestinais. As cepas de *E. coli* envolvidas em doenças que causam diarreia são um dos agentes etiológicos mais importantes, uma vez que estas estirpes evoluíram pela aquisição, através da transferência horizontal de genes, de um conjunto particular de características que persistiram com sucesso no hospedeiro (KAPER *et al*, 2004).

Das estirpes de *E. coli* que causam infecções intestinais (*E. coli* diarreiogênicas), tem-se: *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC), também chamada *E. coli* produtora de verotoxinas; *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), onde se inclui o principal serotipo *E. coli* O157:H7, considerada a *E. coli* patogênica mais importante em termos de infecções alimentares; *E. coli* enteropatogênica (EPEC); *E. coli* enterotoxigênica (ETEC); *E. coli* enteroinvasiva (EIEC); *E. coli* de aderência difusa (DAEC) (KAPER *et al*, 2004).

Destes patótipos, a Figura 1 classifica as estirpes de *E. coli* em “invasivas” ou “não-invasivas”, isto é, se invadem o revestimento do intestino ou não, e “toxigênica” ou “não-toxigênica”, se produzem ou não toxinas. Outro aspecto a ser considerado dentre estes patótipos, é que a infecção causada por eles pode ser transmitida via água, sedimentos, solo ou alimentos contaminados, denominados de habitats secundários destas bactérias (GERBA, 2014).

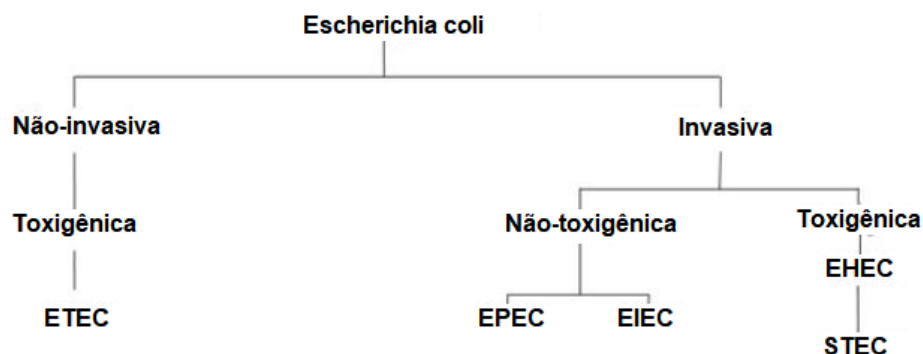


Figura 1 - Classificação da *E. coli* em patótipos.

Fonte: Gerba, 2014.

Higgins *et al.* (2005) relataram fatores de virulência da EPEC detectados com maior frequência em amostras de corpos hídricos superficiais urbanos, sendo a análise qualitativa realizada por reação em cadeia da polimerase (PCR), possibilitando identificar os diferentes patótipos.

No Brasil, assim como em outros países em que a infraestrutura de saneamento básico é considerada insuficiente, são recorrentes as infecções por EPEC. Gomes *et al.* (1991) associaram 26% dos casos de diarreia infantil em menores de 12 meses no Estado de São Paulo à alta incidência de cepas de *E. coli* EPEC nos prováveis meios contaminantes.

Estudos recentes mostraram ainda que a *E. coli* pode sobreviver por longos períodos no meio ambiente, e potencialmente se replicar, na água, em algas e em solos, sobretudo em ambientes tropicais (ISHII e SADOWSKY, 2008).

Além disso, a ocorrência destes patótipos específicos varia de acordo com sua ocorrência sazonal (BERG e METCALF, 1978). Com base nesta premissa, fez-se um estudo amostral que buscou identificar a variação molecular de *E. coli* diarreiogênica na Bacia Hidrográfica do Rio Xopotó, na região do Alto Rio Doce (MG), em dois diferentes períodos do ano.

Drumond *et al.* (2018) puderam constatar que a contaminação fecal da bacia hidrográfica do rio Xopotó foi proporcional à sazonalidade, devido principalmente ao aumento do escoamento superficial, acentuando o carreamento de partículas contaminadas por bactérias patogênicas para os corpos de água. Esta constatação foi feita por meio de duas campanhas de coleta, ocorridas em épocas distintas, uma de maior índice pluviométrico em relação à outra. Ao todo, foram coletadas amostras em 13 locais distintos (Figura 2).

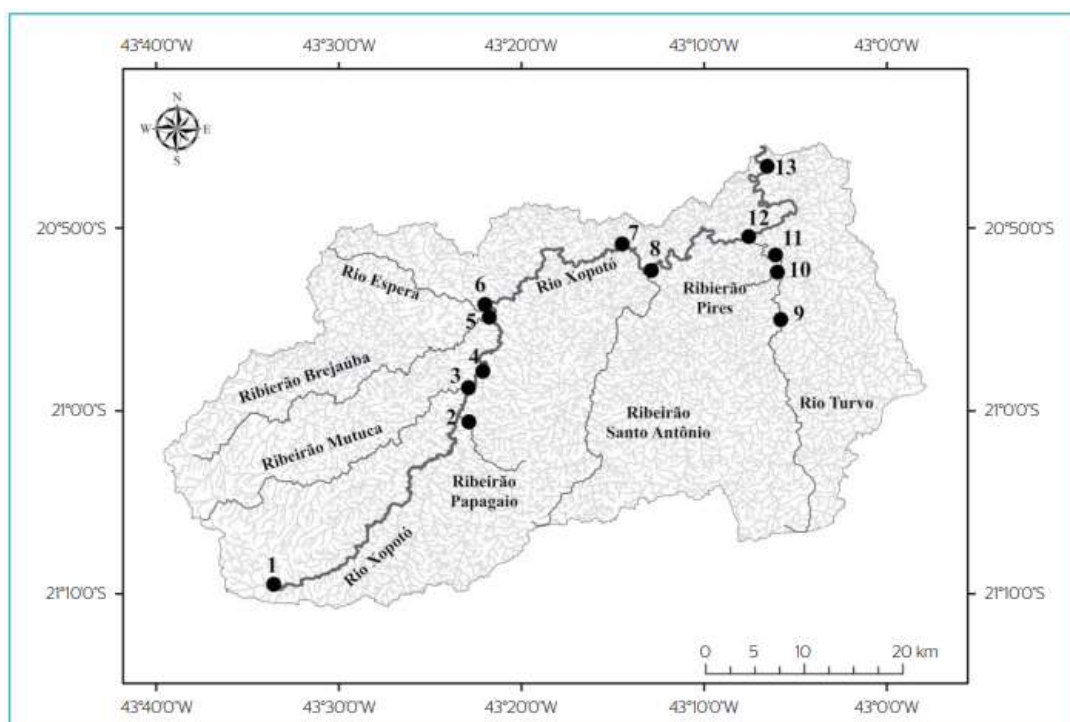


Figura 2 - Pontos de coleta na bacia hidrográfica do rio Xopotó (MG)
Fonte: IGAM (2010).

Os autores puderam observar a incidência dos patógenos *E. coli* EPEC e *E. coli* STEC em 5 dos 13 pontos amostrados, conforme o Quadro 1. A Figura 3 representa a enumeração de *E. coli* em NMP para cada um dos pontos amostrados, para as duas campanhas feitas.

Quadro 1 - Pontos de detecção de patótipos de EC na bacia hidrográfica do rio Xopotó.

1ª Campanha		2ª Campanha	
Ponto	Patótipo Identificado	Ponto	Patótipo Identificado
01	EPEC	02	STEC
06	EPEC	06	STEC
10	EPEC	12	EPEC

Fonte: Drumond et al., 2018.

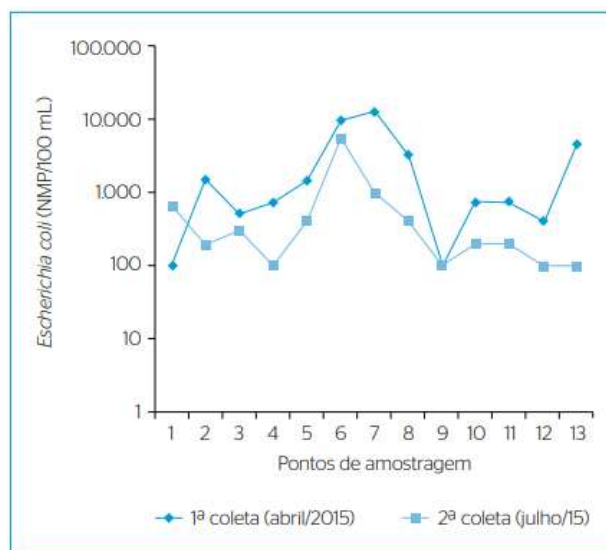


Figura 3 - Enumeração de EC em NMP da bacia hidrográfica do rio Xopotó
Fonte: Drumond et al., 2015.

O ponto 06 apresentou a maior incidência de diferentes patótipos de EC (EPEC e STEC), com uma concentração de $10.000 \text{ NMP} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ de EC, uma das maiores de todos os pontos amostrados. No entanto, na primeira campanha, foi detectado no Ponto 01 o patótipo ETEC em uma concentração de $100 \text{ NMP} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ de EC (DRUMOND *et al.*, 2018).

Esta avaliação possibilita levantar a hipótese de que muitas vezes a enumeração de coliformes totais no enquadramento dos corpos de água não condiz com o seu real risco à população. Com base nisto, a análise da avaliação de riscos em corpos hídricos contaminados surge como outra ferramenta na gestão de corpos hídricos.

2.2 CONTAMINAÇÃO DE CORPOS HÍDRICOS E AVALIAÇÃO DE RISCOS

A água é um meio de disseminação de organismos resistentes aos antibióticos entre populações humana e animal, como também a via pela qual os genes de resistência são introduzidos no ecossistema de bactérias naturais, alterando a microbiota ambiental e possibilitando o surgimento de cepas multirresistentes aos antibióticos. Os ambientes aquáticos são considerados os principais ambientes para cepas resistentes a antibióticos, pois contribuem com o surgimento de genes resistentes (GILLINGS; STOKES, 2012).

A persistência bacteriana é outra característica destes microrganismos que tem preocupado muito os pesquisadores. A persistência bacteriana se dá com a redução de seu metabolismo a níveis baixíssimos, entrando em um estado de dormência. Dessa forma, os efeitos de antimicrobianos, tanto *in vivo* quanto em testes *in vitro*, levam muitas vezes a crer que o tratamento foi efetivo, quando na verdade a bactéria está adormecida esperando a oportunidade de causar uma nova infecção (Figura 4) (GILLINGS; STOKES, 2012).

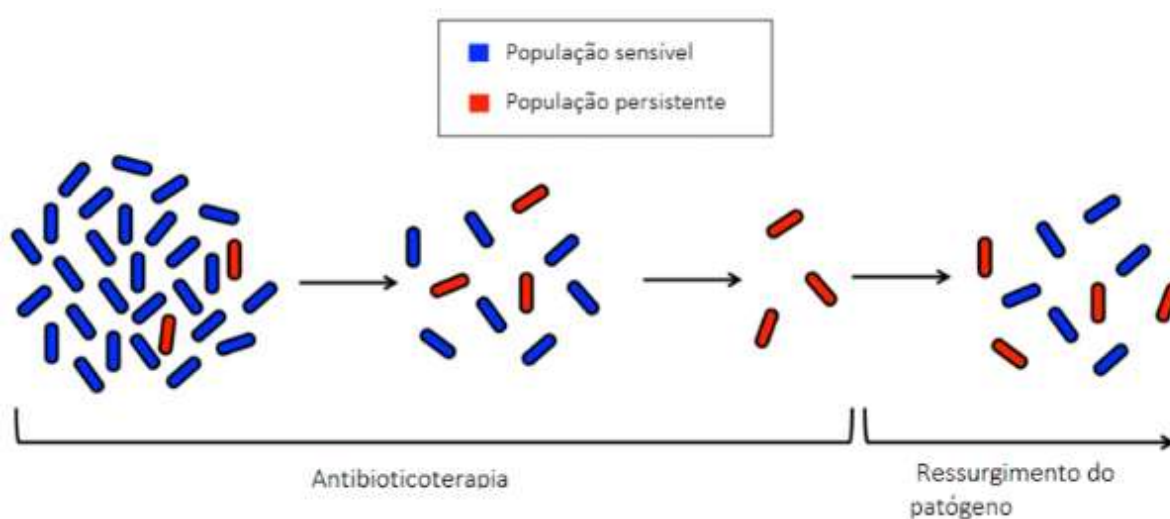


Figura 4 - Mecanismo de Persistência Bacteriana
Fonte: AIMS Microbiology, 2020.

Com a evolução da resistência bacteriana ao longo dos anos, pode-se destacar como a maior consequência o aumento da morbimortalidade, bem como o aumento no tempo de internação e gastos com custos assistenciais. Por conta disto, alguns estudos buscam analisar o risco para a saúde humana decorrente do contato primário com águas contaminadas, por bactérias patogênicas (TAVARES, 2002).

De acordo com ARNONE e WALLING (2007), nos Estados Unidos, entre 1986 e 2000, foram constatados 5.905 casos de contaminação por agentes patogênicos em águas para recreação. Destes casos, 13,68% dos pacientes apresentaram sintomas como diarreia sanguinolenta aguda, causada pela *E. coli* dos sorotipos O121:H19 e O157:H7, que são as classes de *E. coli* produtoras de toxina de shiga (STEC).

Como ferramenta para a detecção de organismos patogênicos nos corpos hídricos, muitos estudos sugerem a aplicação do método de rastreamento de fonte microbiana (*Microbial Source Tracking – MST*), que faz uso de testes genéticos ou

fenotípicos para identificar cepas microbianas específicas em diversas fontes de contaminação, seja ela humana, de animais domésticos e animais silvestres, por exemplo (GITTER *et al.*, 2020).

O método de MST faz a identificação e utilização de bactérias cultivadas em várias fontes fecais e amostras de água e as compara com uma variedade de cepas bacterianas de fontes fecais conhecidas, de modo a definir suas respectivas concentrações (EPA, 2005).

Sob esta perspectiva, Gitter *et al.* (2020) utilizaram o método MST e o integraram com o modelo matemático de Avaliação Quantitativa de Risco Microbiano (QMRA), que tem como enfoque estimar a probabilidade de infecção e contaminação por doenças quando uma população é exposta a microrganismos patogênicos em um determinado ambiente. No caso, foram consideradas as bactérias *E. coli*, *campylobacter* e *cryptosporidium* e o norovírus como patógenos de referência. Como área de estudo, foi definida a bacia hidrográfica *Walnut Creek*, situada no estado do Texas.

O QMRA leva em conta estudos epidemiológicos, modelos de resposta à dose, dados de monitoramento de patógenos microbianos, modelagem hidrodinâmica com base na vazão, virulência dos patógenos, saúde ou estado imunológico dos hospedeiros e o volume da ingestão de água (LIM e FOO, 2021). Um exemplo de QMRA pode ser observado na Figura 5. A probabilidade de infecção para a ingestão acidental pode ser considerada quando da ocorrência de eventos de cheias (EPA, 2005).

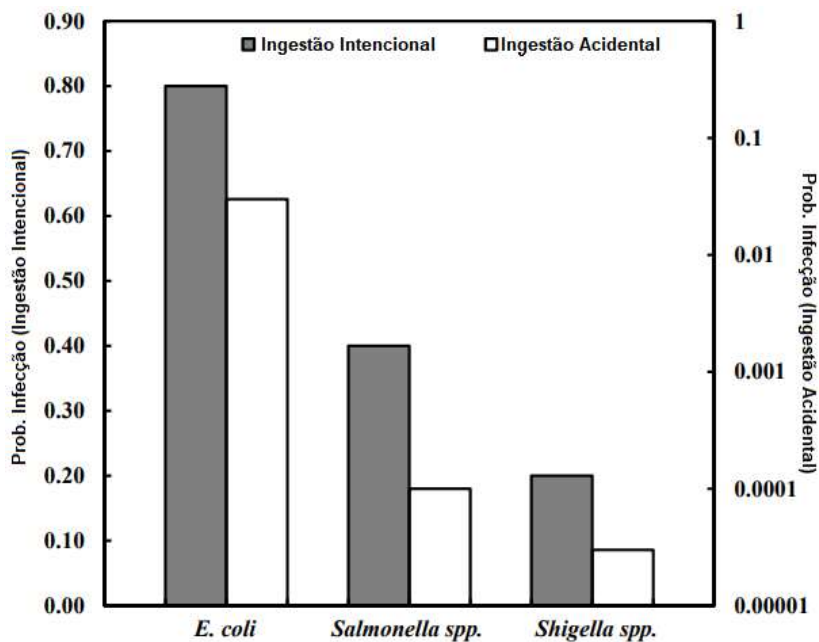


Figura 5 - Probabilidade de Infecção para as Bactérias *E. coli*, *Salmonella spp.* e *Shigella spp.*
Fonte: LIM e FOO, 2021.

Alguns trechos da bacia Walnut Creek são utilizados para recreação. Outro estudo foi proposto utilizando o QMRA na análise de riscos de contágios por bactérias em regiões afetadas por enchentes ao longo do rio Pagang, na Malásia. Em 2014 foi registrada a maior precipitação dos últimos 30 anos, devastando 18 mil km² de áreas de planície. As coletas de amostras foram feitas antes e após este episódio (LIM e FOO, 2021).

Foram detectadas bactérias *E. coli*, *Salmonella spp.* e *Shigella spp.* nas águas de enchentes após o evento de inundação de 2014 em 3 dos 26 pontos amostrados. De acordo com os critérios da Comissão Europeia (CE) para águas recreativas, o valor de *E. coli* apresentado na água da enchente excedeu o limite de 1 UFC.(100 mL)⁻¹ nestes pontos. De acordo com a OMS, o risco de contaminação pela ingestão destas águas nestes pontos é considerado alto (LIM e FOO, 2021).

Cerca de 80% das contaminações por patógenos entéricos foram induzidas pela ingestão de água de abastecimento contaminada. Destas doenças, destaca-se a febre tifoide, cólera, disenteria, gastroenterite, diarreia, amebíase, shigelose e hepatite A e E após a inundação ocorrida em 2014, no estado de Pahang (LIM e FOO, 2021).

Durante a estação das inundações, o excedente escoado contribui ainda mais na disseminação e transporte de cargas microbianas dos esgotos domésticos,

solos e sedimentos contaminados por organismos patogênicos (FRENCH *et al.*, 2021).

A integração do método MST com a abordagem QMRA se apresenta como uma análise estatística potencial de informar decisões políticas para corpos de água. Tendo em vista a grande quantidade de pontos impactados por contaminação fecal, seja por fonte humana ou por fonte animal, a integração destas ferramentas pôde contribuir com o desenvolvimento de padrões específicos do local para a bacia *Walnut Creek* (GITTER *et al.*, 2020).

Nesta avaliação de risco, a influência de diferentes proporções de fontes fecais de contaminação, que contribuem para o dano bacteriano em uma pessoa adulta, foi considerada para se estimar os riscos associados às doenças gastrointestinais decorrentes do contato com águas contaminadas (GITTER *et al.*, 2020) (Figura 6).

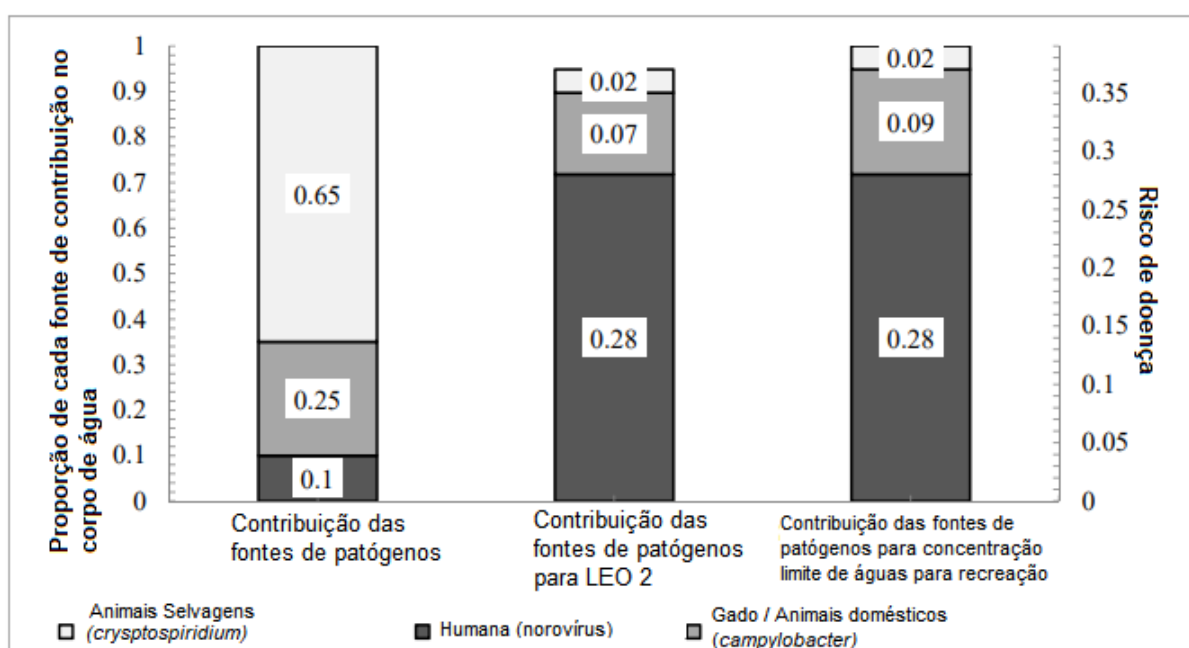


Figura 6 - Contribuição de cada fonte de contaminação no risco à saúde pelo contato com as águas da bacia de Walnut Creek, Texa
Fonte: GITTER *et al.* (2020).

Uma avaliação de risco é definida como o processo de estimar a probabilidade de um evento e a magnitude dos efeitos adversos à saúde em humanos em função do perigo ambiental e exposição ao longo de um período específico (EPA, 1989).

A dose média diária (DDA) é uma ferramenta específica, avaliando a natureza e probabilidade de risco por determinada fonte geradora de contaminação, de acordo com as diferentes vias de exposição, ingestão oral diária de água e corpo peso do indivíduo (EPA, 1989).

Além da avaliação de risco, a análise de sensibilidade do risco de doença pode ser realizada para identificar as premissas que apresentam maior impacto na estimativa de risco geral (GITTER *et al.*, 2020).

Para a bacia de *Walnut Creek*, os resultados indicaram maior grau de incerteza ao calcular o risco de doença relacionada à concentração de *E. coli* nos dejetos humanos, corroborando com a escassez de estudos capazes de fornecer dados amostrais consistentes sobre seu potencial risco (GITTER *et al.*, 2020).

Mesmo que a análise de risco de contaminação de corpos hídricos constituintes de patógenos apresente uma certa escassez de dados consistentes, é amplamente aceita a teoria de que a matéria fecal humana tem maior probabilidade de conter seres patogênicos do que as fezes de animais (ASHBOLT, 2015), o que torna maior a possibilidade de infecções e doenças.

Cabe salientar que os valores quantitativos para os potenciais riscos aos seres humanos, quando em contato com águas contaminadas, são bastante escassos na literatura técnica, dificultando a utilização de trabalhos pretéritos como parâmetro (SOLLER *et al.*, 2010).

Mesmo que muitos fatores afetem a prevalência de sorotipos dos organismos patógenos nos corpos hídricos, a adoção de faixas de valores oriundas de trabalhos pretéritos contribui para o avanço do tema. Com isso, a análise aos riscos de exposição em águas contaminadas também pode ser considerada uma ferramenta de grande importância no âmbito da gestão dos recursos hídricos (SOLLER *et al.*, 2010).

Concentrações de organismos indicadores são utilizadas por agências reguladoras para avaliar a qualidade da água de acordo com seu plano de enquadramento. Nestas situações, é importante que sejam observadas as alterações ocasionadas nos ecossistemas hídricos, como também os riscos que estes organismos oferecem à população que convive ao entorno dos rios urbanos (GITTER *et al.*, 2020).

Os padrões de qualidade microbiológica das águas são baseados nas concentrações de organismos indicadores microbianos (usualmente, as bactérias) e

o uso designado do corpo de água. Medir indicadores microbianos é menos custoso, mais fácil e mais comum do que medir patógenos diretamente. No entanto, os organismos indicadores usados pelos programas de monitoramento são limitados em sua capacidade de prever características de patogenicidade e riscos potenciais à saúde (ARNONE e WALLING, 2007).

Em se tratando de saúde pública, é necessária a realização de medidas de monitoramento e gestão como avaliações de bacias hidrográficas para identificar fontes de concentrações elevadas do indicador ou quaisquer patógenos ali presentes (ARNONE e WALLING, 2007). Para seres patógenos ao organismo humano, a classificação destes quanto à sua resistência aos antibióticos pode ser vista como uma das etapas iniciais na gestão dos corpos hídricos.

2.3 CLASSIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS QUANTO À RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS

Na microbiologia, os antibióticos, também conhecidos como antimicrobianos, são substâncias naturais, químicas, sintéticas ou semissintéticas (quimioterápicos), produzidos por várias espécies de microrganismos, sendo eles vegetais ou animais. De acordo com MAGIORAKOS *et al.* (2011), foi proposto um estudo entre diversos profissionais da área da saúde, a fim de propor uma padronização de bactérias conforme testes de suscetibilidade feitos com diferentes grupos de antibióticos. As bactérias são classificadas como “resistentes a múltiplos medicamentos” (MDR), “extensivamente resistentes aos medicamentos” (XDR) ou “panresistentes aos medicamentos” (PDR), conforme o Quadro 2 **Erro! Fonte de referência não encontrada.**

Quadro 2 - Classificação de bactérias em "MDR", "XDR" ou "PDR"

Classificação	Critério de Classificação
MDR	Resistentes a pelo menos um agente em três ou mais categorias de antibióticos, segundo a NCCLS (CLSI) (2011).
XDR	Resistentes a pelo menos um agente em todas as categorias de antibióticos, exceto duas ou menos, segundo a NCCLS (CLSI) (2011).
PDR	Resistentes a pelo menos um agente em todas as categorias de antibióticos, segundo a NCCLS (CLSI) (2011).

Fonte: Magiorakos et al. (2011).

Desde o presente momento, tem-se que este tipo de classificação se limita apenas à bactérias *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter sp*, não havendo registros de pesquisas na base de dados do SCOPUS, com temas semelhantes que descrevem os procedimentos de classificação de bactérias *Escherichia coli* (EC) como “MDR”, “XDR” ou “PDR”. Tendo isso em vista, para as bactérias do grupo das EC, cabe apenas a classificação destas em resistentes ou não aos antibióticos (MAGIORAKOS *et al.*, 2011) (Tabela 1).

Tabela 1 - Categorias e agentes antimicrobianos utilizados para a classificação de bactérias em MDR, XDR e PDR segundo a NCCLS (CLSI) (2011)

Bactéria	Número de categorias de antimicrobianos para classificação	Número de agentes antimicrobianos para classificação
<i>Staphylococcus aureus</i>	17	22
<i>Enterococcus spp</i>	11	17
<i>Enterobacteriaceae</i>	17	31
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	17
<i>Acinetobacter sp</i>	9	22
Grupo dos coliformes	N/A	N/A

Fonte: Magiorakos *et al.*, 2011.

Para a análise de sensibilidade das cepas bacterianas aos antibióticos, a CLSI (2020) adota como parâmetro as cepas do tipo ATCC 25922 e ATCC 35218, que são padrões de cepas, desenvolvidas por meio de cultura, sob condições específicas. As cepas de *E. coli* dos tipos ATCC 25922 e ATCC 35218 são apresentadas no Quadro 3, especificando os intervalos dos diâmetros dos halos de inibição para classificação em “resistentes”, “intermediário” e “sensível”. Os valores apresentados consideram apenas os antimicrobianos comerciais adotados no presente trabalho.

Quadro 3 - Classificação de cepas de *E. coli* com base nos halos de inibição das cepas padrão dos tipos ATCC 25922 e ATCC 35218

Antibiótico	Halo padrão <i>E. coli</i> ATCC 25922	Halo padrão <i>E. coli</i> ATCC 35218
Amicacina (30 ug)	19-26	Não consta
Amoxicilina + Ác clavulânico (20 / 10 ug)	18-24	17-22
Ampicilina+Sulbactam (10 / 10 ug)	19-24	13-19
Azitromicina (15 ug)	Não consta	
Aztreonam	Não consta	
Ceftriaxona (30 ug)	29-35	17
Ciprofloxacina (30 ug)	30-40	Não consta
Cloranfenicol (30 ug)	21-27	Não consta
Eritromicina (15 ug)	Não consta	
Fosfomicina (200 ug)	Não consta	
Iminepem	Não consta	

Fonte: CLSI (2004).

A cepa *E. coli* ATCC 35218, produtora de beta-lactamase, é testada para aferição dos antimicrobianos com bactérias inibidoras de β -lactamase como a ampicilina, sulbactam, amoxicilina e clavulanato. Já a cepa de *E. coli* 25922 é recomendada para a aferição dos agentes antimicrobianos padronizados contra enterobactérias (WILLIAMS, 1999).

Bactérias resistentes a antibióticos (ARB) estão emergindo como um importante tema da microbiologia de corpos de água. A disseminação de pesquisas que apontam os fatores determinantes de resistência a antibióticos de organismos patogênicos se tornou muito relevante para o tratamento de doenças infecciosas, sejam elas pela ingestão de alimentos contaminados ou em contato com águas contaminadas (PRUDEN *et al.*, 2006).

Os ecossistemas aquáticos sujeitos às ações antrópicas ao seu entorno são comumente apontados como *hotspots* para a disseminação de bactérias resistentes aos antimicrobianos, já que aumentam significativamente a comunidade bacteriana e contribuem com o surgimento de novos genes resistentes. Muitas bactérias patogênicas possuem a veiculação via alimentos contaminados, mas também utilizam o ecossistema aquático como reservatório secundário (NATARO E KAPER, 1998).

Algumas pesquisas exploram o tema da resistência de bactérias patogênicas por meio da aplicação de métodos baseados nos meios de cultura, já que são facilmente cultivadas (AUJOLAT *et al.*, 2021).

Em se tratando da crescente resistência que as bactérias presentes nos corpos hídricos vêm adquirindo aos antibióticos, pode-se citar o lançamento de esgotos domésticos não tratados sobre as águas, bem como do carreamento de sólidos suspensos (também reservatório para seres patógenos) nos corpos hídricos como fortes contribuintes deste processo. O aumento do número de infecções causadas por enterobactérias produtoras de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL) tem alertado a comunidade científica e atenuado o uso de cefalosporinas de primeira, segunda e terceira geração, devido à emergência desses agentes resistentes. Grande parte das infecções causadas por bactérias produtoras de ESBL são provenientes de infecções hospitalares graves, provenientes de pacientes das Unidades de Terapia Intensiva (UTI) e emergências. Todavia, de acordo com COCHARD (2010) tem se tornado notória a emergência de bactérias ESBL positivas em ambientes não hospitalares.

Todavia, independente da forma de surgimento desta resistência, a possibilidade de transferência horizontal plasmidial resulta na troca de informação genética entre esses micro-organismos, gerando uma resistência adquirida. Além da transferência de genes entre bactérias de mesma espécie, diversos experimentos mostram que as *Salmonella spp.*, por exemplo, são muito eficientes em compartilhar seus genes de resistência com cepas de *E. coli* (ZHOU, 2016). A Figura 7 indica uma célula bacteriana quando em contato com fragmentos de DNA dispersos no meio. Os plasmídeos codificam o gene e o incorporam ao cromossomo bacteriano.

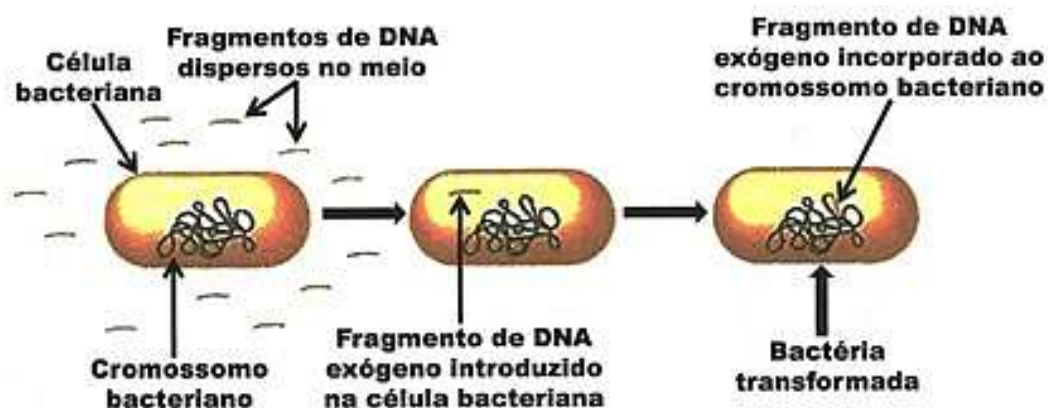


Figura 7 - Ilustração de bactéria quando em contato com fragmentos de DNA dispersos no meio

Fonte: Zhou, 2016.

A produção de enzimas β -lactamases tem sido relatada como um importante mecanismo de resistência aos antibióticos β -lactâmicos, que perdem a capacidade

de inibir a síntese da parede celular bacteriana (WILLIAMS, 1999). Essas enzimas são capazes de hidrolisar as mais variadas classes de antimicrobianos, incluindo os beta-lactâmicos.

Entre todas as classes de antibióticos utilizadas no combate às doenças e infecções, os antibióticos beta-lactâmicos são usualmente considerados nas pesquisas científicas por conta do seu uso massivo em todo o mundo para tratar de doenças. As bactérias gram-negativas resistentes às cefalosporinas de terceira geração ou aos carbapenêmicos estão no topo da lista das bactérias que causam maiores impactos na saúde pública (PFEIFER *et al.*, 2010).

Mutações nos genes de resistência aumentam o espectro de atividade das ESBL. A literatura relata que *Klebsiella spp.* e *Escherichia coli* são os principais reservatórios dos genes que codificam ESBL dentro do ambiente hospitalar (RODRIGUES e MESQUISA, 2016).

A resistência de bactérias às cefalosporinas de terceira geração pelas ESBL é atualmente considerada uma preocupação endêmica, enquanto que a resistência de bactérias aos carbapenêmicos, também causada pela produção desta enzima, está emergindo como uma ameaça à saúde pública.

As cefalosporinases do tipo AmpC são encontradas na família das enterobactérias. Essas enzimas são capazes de hidrolisar as mais variadas classes de antimicrobianos, incluindo os β -lactâmicos. As carbapenemases são capazes de degradar outros antimicrobianos que não apenas os carbapenêmicos, como as cefalosporinas e penicilinas. A presença de enzimas derivadas dos genes AmpC cromossomais de bactérias gram-negativas está frequentemente associada à multirresistência e podem estar presentes em um mesmo plasmídeo, facilitando a transferência gênica (CAROFF, 2000).

A produção da enzima β -lactamase em alguns tipos de bactérias deve ser visto como um problema emergente, pois confere resistência à maioria dos β -lactâmicos, e causa resistências a múltiplas drogas (MDR) quando combinada com a resistência a outras classes de antibióticos (CAROFF, 2000).

Como exemplo desta combinação, um levantamento feito pela OMS (2021), sugeriu que a resistência aos beta-lactâmicos e às fluoroquinolonas apontam uma cepa de *E. coli* como altamente resistente, já que os antimicrobianos da classe das fluoroquinolonas são considerados medicamentos sob rigorosa vigilância. As cepas

de *E. coli* ATCC 35218 utilizam de antibióticos beta-lactâmicos para sua classificação.

2.3.1 *Análise de Resistência*

No setor ambiental, muitos indicadores têm sido apontados na análise de resistência aos medicamentos (ARM). Uma pesquisa proposta por Aujoulat *et al.* (2021), utilizou da enumeração de cepas de *E. coli* resistentes às cefalosporinas de terceira geração e de cepas de *E. coli* ESBL, empregando o meio de cultura para o crescimento das colônias, buscando correlacionar a enumeração destas bactérias com a resistência que as mesmas apresentavam sobre determinados antibióticos. De acordo com os autores, existem dados esparsos sobre o crescimento bactérias produtoras de ESBL sob a ação de diferentes antibióticos, mesmo os clinicamente relevantes, em uma escala de rio urbano. Além disso, os autores discorrem da influência das condições físicas, químicas, hidrológicas e climáticas como parâmetros que devem ser considerados no estudo.

A fim de caracterizar o perfil de resistência da *E. coli* aos antimicrobianos, uma rede de 15 pontos de coleta de amostras foi projetada, estando estes pontos de coleta distribuídos no rio Lez (L1 a L6), localizado no sul da França, nos seus tributários rio Mosson (M1 e M2), rio Verdanson (V1 a V3), no rio Font D'Aurette (FA1 e FA2), rio Rieu Collon (RC) e rio Lantissargues (Lant). As áreas de drenagem de um rio para outro variam de 1,1 km² a 520 km², abrangendo áreas verdes, agrícolas e urbanizadas. Os pontos FA1, FA2, V2, V3 e LANT possuíam uma área de drenagem 75% ou mais urbanizada, levantando a hipótese de apresentarem maior incidência de patógenos multirresistentes (AUJOULAT *et al.*, 2021).

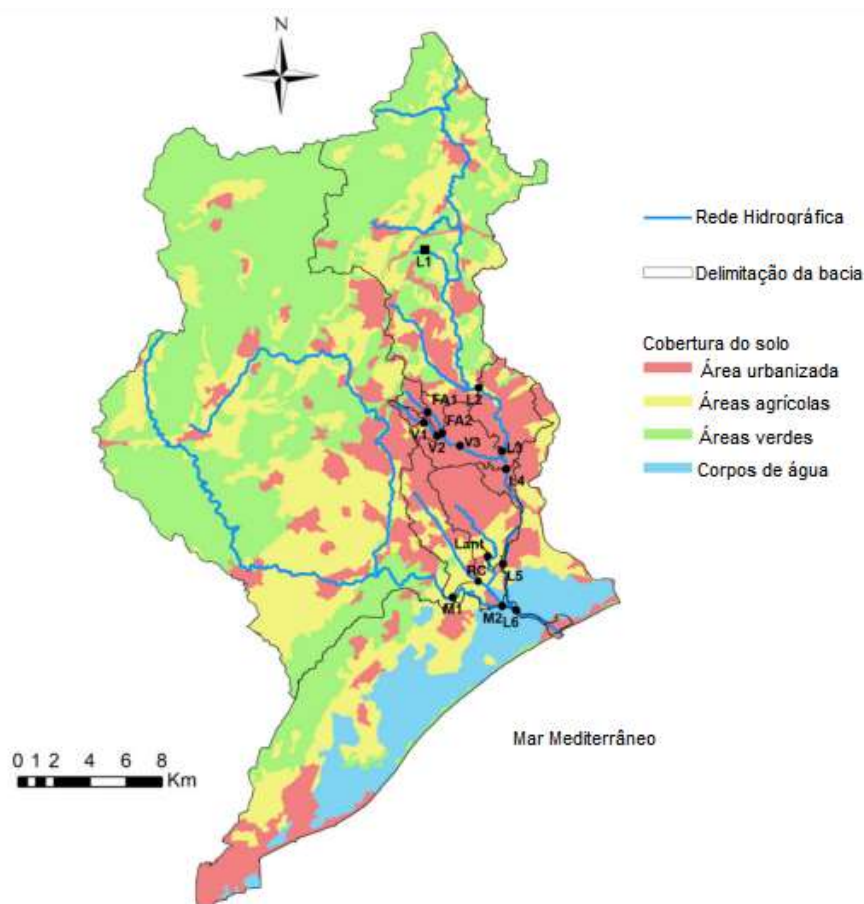


Figura 8 - Localização dos pontos de monitoramento de parâmetros microbiológicos do rio Lez e seus tributários
Fonte: Aujolat et al., 2021.

Para quantificar os coliformes termotolerantes, as amostras de água foram analisadas em laboratório adotando como referência o método ISO 9308-1:2014, que apresenta as diretrizes para a quantificação de coliformes termotolerantes por meio da coleta seguida da filtração em membrana – no caso no estudo realizado, com membrana de nitrato de celulose com 0,45 μm de abertura. Posteriormente, foram separados volumes de 100 μL de água para cada ponto amostrado, espalhados em meio de Agar lactose TTC com Tergitol®7 e suplementados com um dos seguintes antibióticos: amoxicilina (AMX, 8 mg.L^{-1}), ceftazidima (CAZ, 4 mg.L^{-1}) e ofloxacina (OFL, 1 mg.L^{-1}), incubados por 24 h a 44 °C.

Para a quantificação de bactérias multirresistentes gram-negativas, foi separado o mesmo volume em meio de ágar Drigalsk Lactose, suplementados com ceftazidima (CAZ, 4 mg.L^{-1}), ofloxacina (OFL, 1 mg.L^{-1}) e tetraciclina (TET, 8 mg.L^{-1}), adotando a cepa de *E. coli* ATCC8731 para caracterizar o grau de resistência das bactérias ali presentes. As colônias foram enumeradas após uma incubação de 24 h a 37 °C. As colônias isoladas que cresceram neste meio foram selecionadas com

base em sua morfologia para buscar entender a diversidade de bactérias ali presentes, e que resistiam simultaneamente aos três antibióticos. A identificação das espécies de isolados foi feita por espectrometria de massa (RAHI e VAISHAMPAYAN, 2020).

A Figura 9 elucida os valores de UFC.L⁻¹ para cada um dos pontos amostrados, sendo o gráfico de barras, a UFC.L⁻¹ de bactérias cultiváveis, a linha alaranjada, a UFC.L⁻¹ do grupo dos coliformes termotolerantes, e a linha esverdeada, a UFC.L⁻¹ dos grupos das bactérias Enterococcus (gram-positivas).

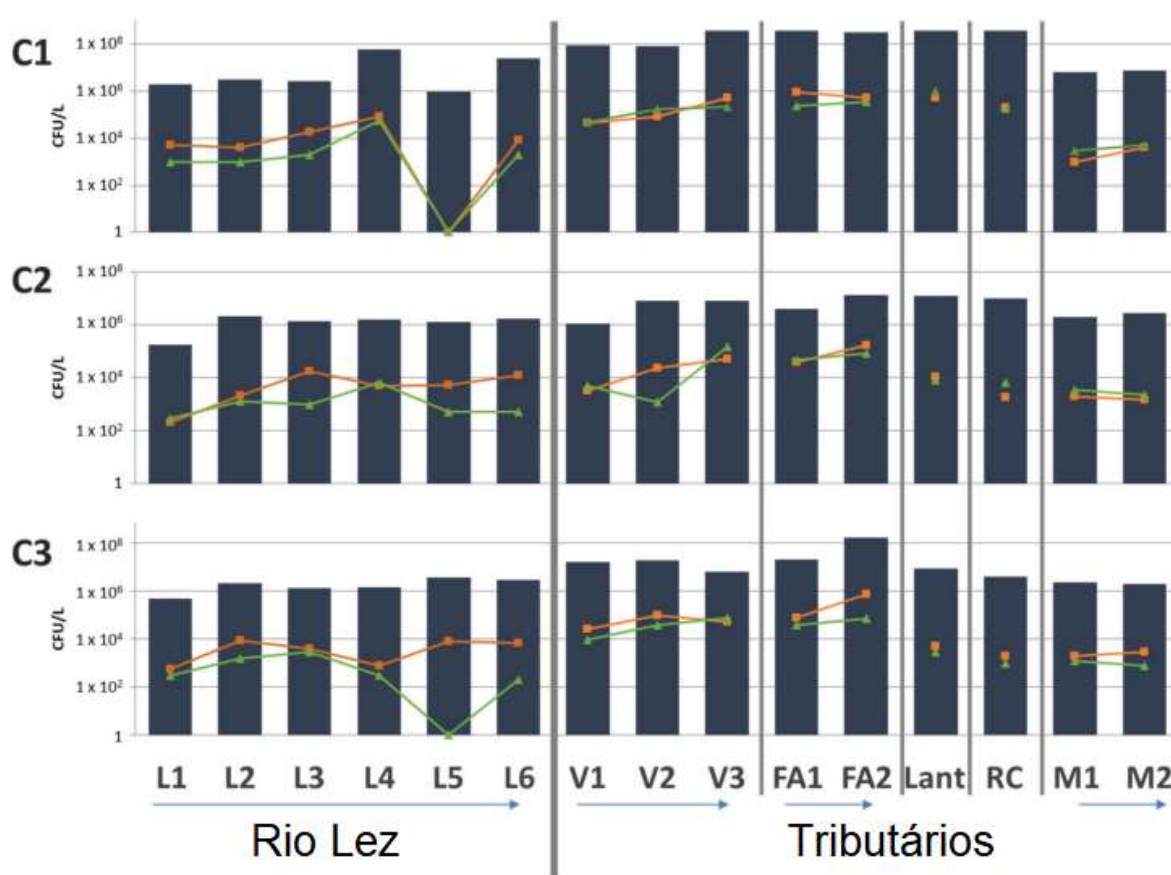


Figura 9 - Enumeração microbiológica de bactérias cultiváveis, coliformes termotolerantes (grupo) e bactérias Enterococcus (subgrupo)

Fonte:

Os testes de susceptibilidade antimicrobiana foram realizados por difusão em disco método de ensaio em ágar Mueller-Hinton, de acordo com os procedimentos padrões propostos pela Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018).

Como o esgoto de comunidades e hospitais é tratado, estas águas residuais captadas por estações de tratamento podem ser reservatórios importantes para várias bactérias e genes resistentes a antibióticos (PRUDEN *et al.*, 2006)

Nasser *et al.* (2191) fizeram a utilização de amostras de águas residuárias para discorrer sobre seu papel na evolução da resistência de patógenos. Para a análise da resistência destas bactérias em estações de tratamento, foram coletadas amostras de águas residuárias secundárias e terciárias (desinfetadas por cloro ou irradiação UV) de duas ETEs localizadas na parte central de Israel. Para a análise dos corpos hídricos receptores destas águas residuais, os autores utilizaram de amostras em um reservatório de irrigação receptor de efluentes terciários, ao longo do rio Arkon e na sua foz, no mar Mediterrâneo e em um ambiente de baixo impacto destes receptores, também sito no mar Mediterrâneo. Ao todo, foram coletadas 42 amostras, que foram submetidas para análise das bactérias resistentes a antibióticos (ARB) e genes resistentes a antibióticos (ARG).

Depois de isolar os coliformes fecais, foram colocados 12 discos de antibióticos das classes ampicilina (AMP, 10 µg), cloranfenicol (C, 30 µg), gentamicina (GN, 10 µg), cefalotina (CF, 5 µg), canamicina (K 30 µg), nitrofurantoína (F, 300 mg), amoxicilina (AMC, 30 µg), ciprofloxacina (CIP, 5 µg), colisitina (CT, 25 µg), penicilina (P 10 unidades), estreptomina (S, 10µg) e tetraciclina (TE, 25 µg). Para as bactérias heterotróficas, foram testados os antibióticos ampicilina, tetraciclina e cloranfenicol. Para o controle de qualidade, foi utilizada a cepa padrão de *Escherichia coli* K12.

De acordo com a Tabela 2, é possível observar o valor percentual de n amostras analisadas, provenientes de efluente secundário (n = 200), efluente terciário desinfetado com UV (n = 150) e de efluente terciário desinfetado com cloro (150).

Tabela 2 – Resistência de colônias de coliformes a diferentes antimicrobianos.

Frequência de amostras resistentes aos antibióticos por localização			
Antiótico	Efluente secundário	Efluente terciário (UV)	Efluente terciário (cloro)
AMP	42	44	76
CLO	2	11,5	3
GN	17	18	12
CF	70	69	51
K	6	8	11
F	44	63	44
AMC	2	5	32
CIP	8	9	5
CT	97	98	90
P	100	99	99
S	16	16	7
TE	29	38	8

Fonte: Nasser *et al.*, 2019.

Os resultados mostraram que os diferentes processos de tratamento das águas residuais podem resultar em diferenças nos padrões de resistência dos coliformes fecais aos antibióticos (HUANG *et al.*, 2019).

Templeton *et al.* (2009) discutiram a inativação de *E. coli* resistente à ampicilina em comparação com outras cepas resistentes a outros antibióticos, quando submetidos ao tratamento por cloração. Os resultados indicaram que as cepas resistentes à ampicilina apresentaram maior inativação da *EC* com o tratamento por cloração. Por outro lado, neste mesmo estudo, também foi constatado que a cepa *EC* resistente ao trimetoprim era também mais resistente ao cloro do que as outras cepas de *E. coli*.

Huang *et al.* (2011) afirmaram que a cloração da água potável e das águas residuais afetam as proporções de bactérias resistentes a antibióticos por ajudar potencialmente na seleção microbiana. De acordo com a Figura 10, é possível verificar a inativação de bactérias heterotróficas (HPC) e bactérias resistentes a antibióticos penicilina (PEN), ampicilina (AMP), tetraciclina (TET), cloranfenicol (CHL) e rifocina (RIF) quando submetidas a diferentes processos de cloração, em efluente secundário. Os resultados apontaram para uma maior frequência de inativação de bactérias no despejo de 2 mg Cl₂.L⁻¹ com frequência de 25 em 25 minutos.

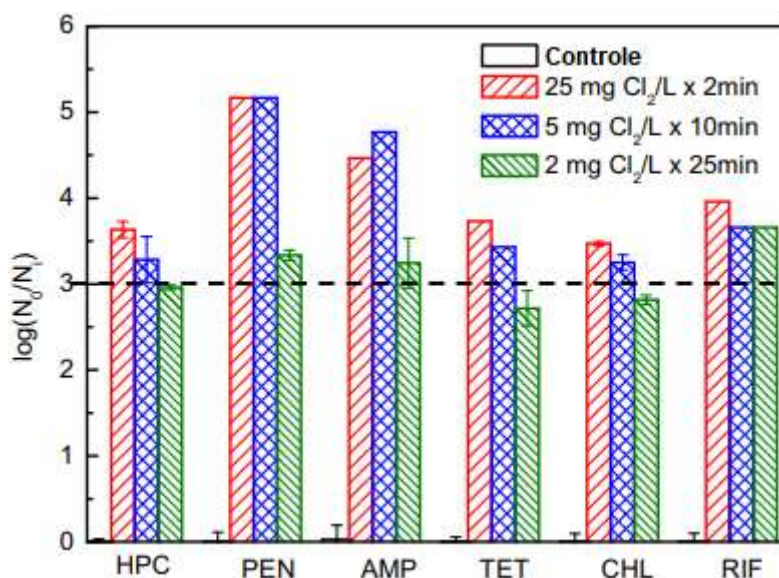


Figura 10 - Inativação de bactérias heterotróficas e bactérias resistentes a antibióticos por cloração em diferentes modos de operação.

Fonte: Huang *et al.* (2011).

A Figura 11 representa o crescimento das bactérias heterotróficas e resistentes a antibióticos, comparando o efluente não desinfetado com cloro e o efluente desinfetado com cloro.

Tal análise possibilita constatar a importância de estudos microbiológicos no tratamento das águas. Do contrário, tratamentos de desinfecção não eficientes contribuirão ainda mais no aumento de ARBs e ARGs (HUANG *et al.*, 2011).

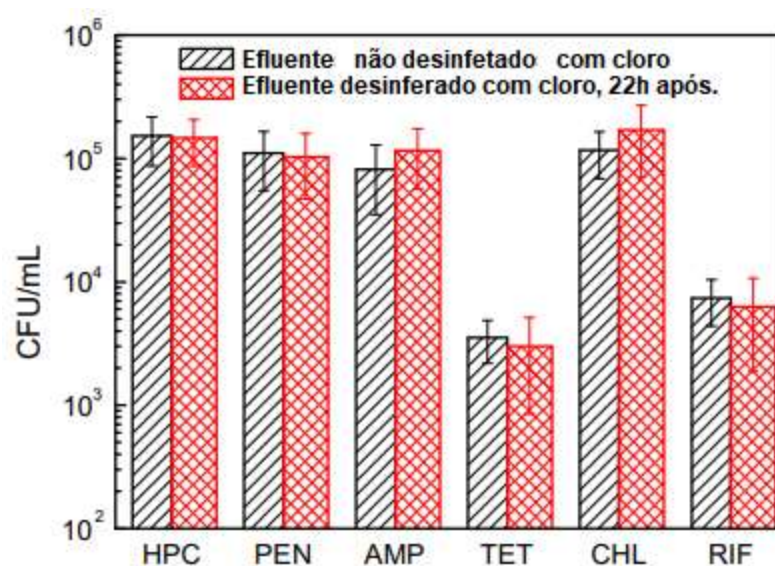


Figura 11 – Crescimento de bactérias heterotróficas e resistentes a antibióticos para efluente secundário não desinfetado com cloro e desinfetado com cloro

Fonte: Huang *et al.*, 2011.

As Figura 12, Figura 13 e Figura 14 indicam a frequência de resistência de cepas bacterianas do grupo dos coliformes, para um espaço amostral de 150 amostras. Este mesmo número de amostras foi testado para efluentes secundários, efluentes terciários desinfetados com UV e com cloro. Como exemplo, tem-se que 2% das 150 amostras testadas apresentaram resistência aos antibióticos penicilina (P), colistina (CT), cefalotina (KF), nitrofurantoína (F), tetraciclina (TE), ampicilina (AMP) e gentamicina (GN) (Nasser *et al.*, 2019).

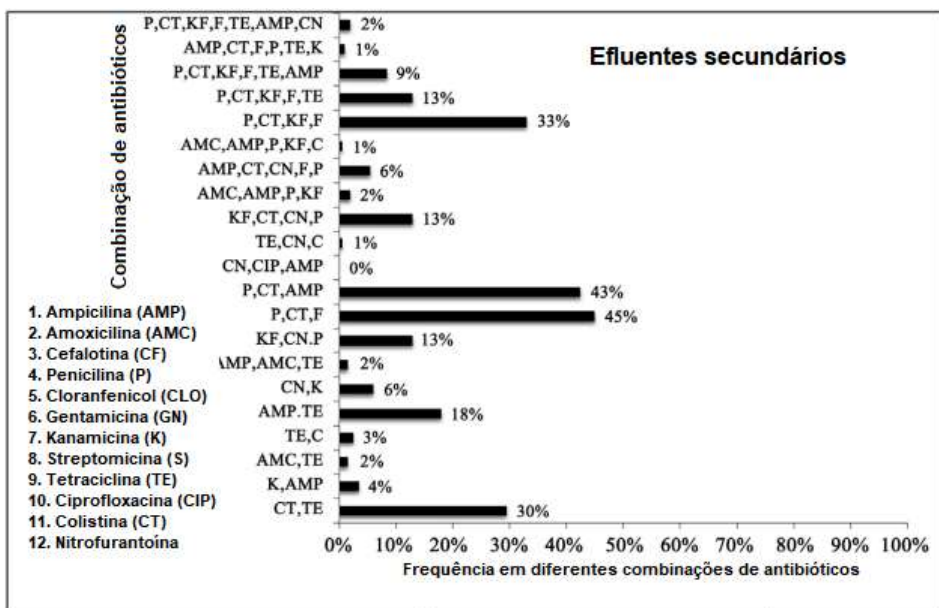


Figura 12 - Frequência de resistência para diferentes combinações de antibióticos, para efluentes secundários
Fonte: Nasser *et al.*, 2019.

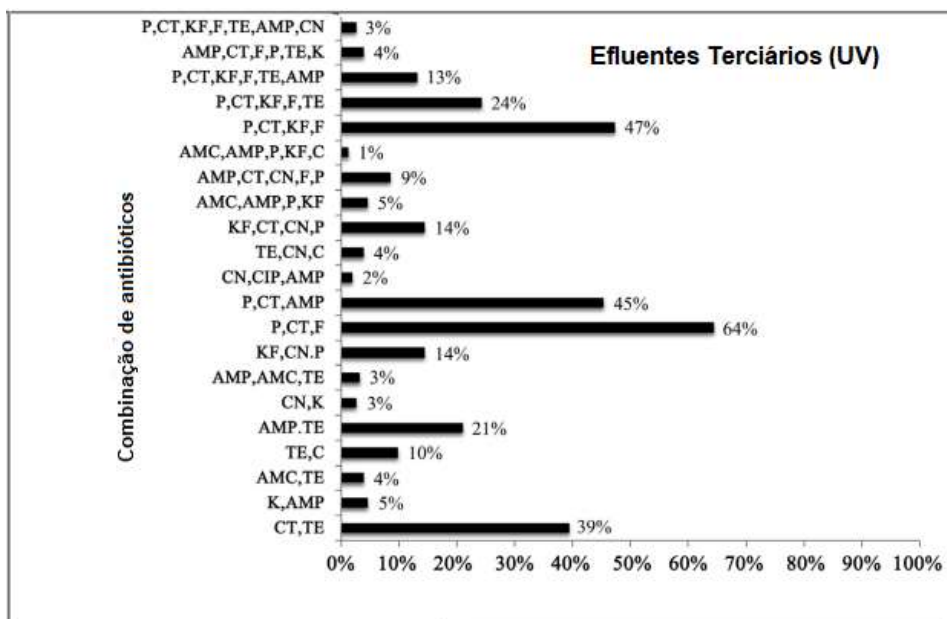


Figura 13 – Frequência de resistência para diferentes combinações de antibióticos, para efluentes terciários desinfetados com UV
Fonte: Nasser *et al.*, 2019.

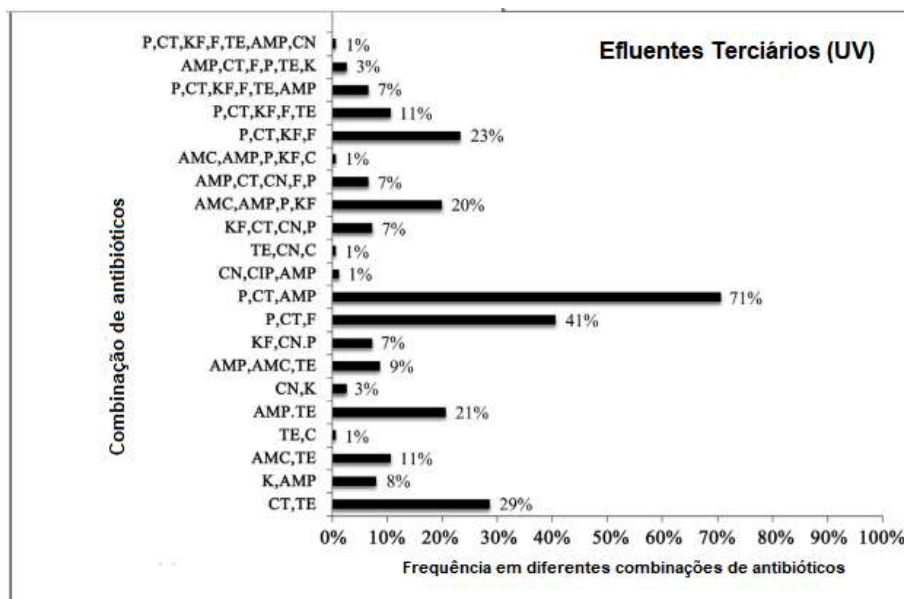


Figura 14 - Frequência de resistência para diferentes combinações de antibióticos, para efluentes terciários desinfectados com cloro

Fonte: Nasser *et al.*, 2019.

Com base nisso, os autores corroboram com a necessidade de estudos que explorem mais o tema que correlacione determinadas cepas de bactérias resistentes a antibióticos quando submetidas aos processos de desinfecção, considerando, sempre, a geração de contaminantes físico-químicos no processo final do tratamento.

Em se tratando do processo de desinfecção de efluente por cloração, tem-se a formação dos trihalometanos (THM) como produto final. Os trihalometanos são compostos constituídos por um átomo de carbono, um de hidrogênio e três de halogênio (cloro, bromo, iodo). Estes compostos são considerados cancerígenos e sua presença na água deve ser evitada. Levantamentos epidemiológicos feitos em 1979 nos Estados Unidos, relacionando a concentração dos trihalometanos com a morbidade e a mortalidade por câncer evidenciaram associações positivas em alguns casos de carcinomas (tumores malignos) (Fernandes e Martins, 2021).

Por conta disto, A U.S. EPA propôs o limite máximo permissível de $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ THM para águas de abastecimento. Outros países seguiram os Estados Unidos em relação à legislação, sendo adotados os padrões de $350 \mu\text{g.L}^{-1}$, no Canadá, $25 \mu\text{g.L}^{-1}$, na Alemanha, $75 \mu\text{g.L}^{-1}$, na Holanda, e $10 \mu\text{g.L}^{-1}$, na França. No Brasil, o limite máximo de concentração de trihalometano é de $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ (BRASIL, 2021). Já nas diretrizes que determinam o plano de enquadramento dos corpos de água (CONAMA 357/05), o trihalometano não é mencionado (BRASIL, 2005).

2.4 BACIA DO RIBEIRÃO DOS PADILHAS

A bacia hidrográfica do Ribeirão dos Padilhas, localizada na região leste de Curitiba (Figura 15), possui uma área de aproximadamente 32,4 km² e é uma das sub-bacias do rio Iguaçu, ambas localizadas na porção sul do município. A bacia do rio dos Padilhas compreende as sub-bacias córrego Jardim Esmeralda, arroio Pinheirinho, arroio Cercado, arroio Boa Vista e córrego Osternack. Excetuando o córrego Jd. Esmeralda, que faz confluência com o rio dos Padilhas na sua margem esquerda, os demais corpos hídricos fazem confluência com o rio principal na sua margem direita, conforme a Figura 16, que expressa um diagrama unifilar (à direita) das principais sub-bacias que drenam o rio principal. À esquerda da figura, tem-se as coordenadas geográficas da bacia.



Figura 15 - Localização da bacia hidrográfica do ribeirão dos Padilhas, a leste do município de Curitiba

Fonte: SUDHERSA, 2002.

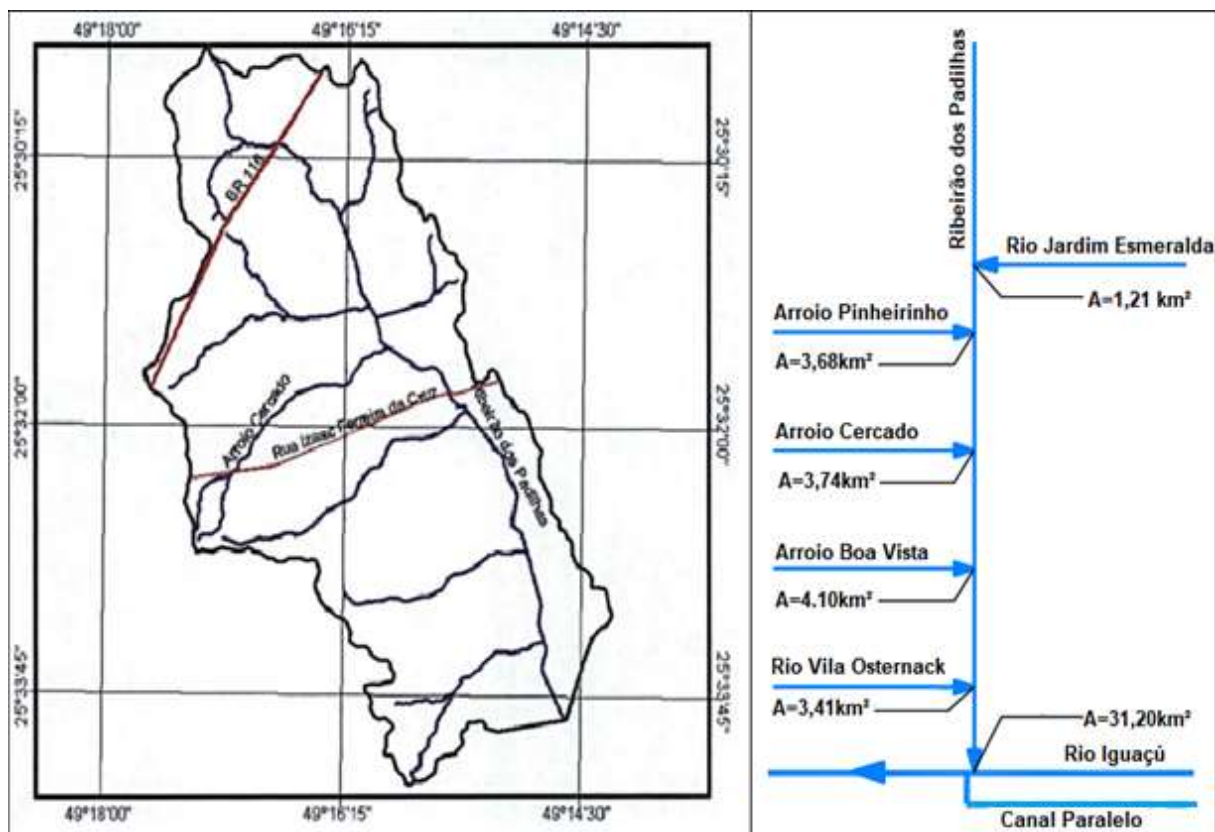


Figura 16 - Localização da bacia hidrográfica ribeirão dos Padilhas (à esquerda) (SUDHERSA, 2002) e diagrama unifilar de drenagem da bacia do rio dos Padilhas (à direita) (PDD, 2018).
Fonte: SUDHERSA, 2002. PDD, 2018.

A população da região é de aproximadamente 220 mil habitantes (IPPUC, 2010). A região é caracterizada por um elevado adensamento habitacional que vive a população. O crescimento desordenado na região, mais intenso a partir da década de 70, resultou em diversos assentamentos irregulares, inclusive em margens de rios (Figura 17Figura 18).



Figura 17 - Assentamentos de tubulações de esgoto rentes às margens do rio dos Padilhas
Fonte: Aatoria própria, 2021.



Figura 18 - Assentamentos irregulares nas margens do rio dos Padilhas
Fonte: Aatoria própria, 2021.

Na bacia dos Padilhas existem cerca de 60 mil domicílios, dos quais 13% são considerados assentamentos espontâneos, 0,15% loteamentos clandestinos e 0,14% domicílios referentes ao programa PROLOCAR¹ (PDD, 2018).

A área industrial segue principalmente o traçado da rodovia Régis Bittencourt, fator este que agrava o impacto ambiental na região, visto que esta se dispõe

¹ Criado pela Administração Pública na década de 80, o Programa PROLOCAR ou Plano dos Mil Lotes, estabeleceu critérios para a seleção de áreas e implantação de lotes para reassentamento das famílias invasoras. Na implantação dos lotes à época, foram respeitadas as faixas de drenagem dos fundos de vale, muito inferiores às estabelecidas posteriormente para as APPs.

próxima à nascente do rio dos Padilhas. Além do impacto das atividades industriais, são constatadas tubulações precárias de esgoto doméstico que desaguam sem quaisquer tratamentos nos afluentes do ribeirão dos Padilhas (Figura 19) (CH2M HILL, 2002).



**Figura 19 – Lançamento de esgoto no rio Padilha.
Fonte: Autoria própria (2019).**

De acordo com Reque (2013), a bacia do rio dos Padilhas possui a menor cobertura de áreas verdes em comparação com as demais bacias no município de Curitiba, com um total aproximado de 2,85 km², que representa cerca de 9,1% de toda a área da bacia, aspecto este que afeta diretamente o ciclo hidrológico da bacia, como o aumento do escoamento superficial.

Com relação ao esgotamento sanitário da região, a bacia hidrográfica do rio dos Padilhas possui uma estação de tratamento de esgotos, a ETE Padilha Sul, que possui uma capacidade de 34,56 mil m³.dia⁻¹. Esta estação está localizada nas imediações do exutório da bacia. A jusante da ETE Padilha Sul se situa a estação de monitoramento de qualidade de código “65014000”, inoperante desde 2011 (ANA, 2020).

Conforme aponta o relatório de 2020 do Departamento de Recursos Hídricos e Saneamento – MARHS, o IQA da região dos Padilhas de 2020 foi classificado como “Ruim” ou “Péssimo” em 75% dos pontos monitorados. Além do problema de esgotamento na região, a bacia do rio dos Padilhas possui registros de inundações

(CURITIBA, 2021). O córrego Jardim Esmeralda é um exemplo de sub-bacia afetada pela incidência de enchentes, sendo o ponto mais crítico localizado na confluência do córrego com o afluente principal. A **Erro! Fonte de referência não encontrada.** delimita a bacia do córrego Esmeralda.



Figura 20 - Delimitação do rio Jardim Esmeralda.
Fonte: IPPUC (2018).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 DEFINIÇÃO DOS PONTOS DE COLETA NA BACIA DO RIO PADILHA

A coleta das amostras foi realizada no período entre junho e outubro de 2021, na bacia do ribeirão dos Padilhas e dos seus afluentes córrego Esmeralda, arroio Pinheirinho, arroio Cercado, arroio Boa Vista e rio Vila Osternack. A Tabela 3 expressa as coordenadas geográficas dos pontos de coleta, os respectivos afluentes aos quais os pontos estão localizados, a campanha em que foram feitos e o número de dias antecedentes seguidos de estiagem.

Tabela 3 - Identificação geográfica dos pontos de coleta e respectivos afluentes.

Ponto	Coordenadas Geográficas (SIRGAS 2000)	Afluente	Campanha	Nº de Dias Antecedentes de Estiagem
01	25°30'42,30"S; 49°16'22,01"O	Córrego Esmeralda	1 ^a	6
02	25°30'36,41"S; 49°16'13,6"O	Córrego Esmeralda	1 ^a	6
03	25°30'32,72"S; 49°16'10,01"O	Córrego Esmeralda	1 ^a	6
04	25°30'28,70"S; 49°16'8,60"O	Córrego Esmeralda	1 ^a	6
05	25°30'18,62"S; 49°16'5,70"O	Córrego Esmeralda	1 ^a	6
06	25°30'36,4"S; 49°16'13,61"O	Ribeirão dos Padilhas	1 ^a	6
07	25°30'44,4"S; 49°16'21,3"O	Ribeirão dos Padilhas	1 ^a	6
08	25°31'18,05"S; 49°16'9,30"O	Arroio Pinheirinho	2 ^a	10
09	25°31'18,50"S; 49°16'16,04"O	Arroio Pinheirinho	2 ^a	10
10	25°31'21,34"S; 49°16'26,30"O	Arroio Pinheirinho	2 ^a	10
11	25°31'21,91"S; 49°16'36,30"O	Arroio Pinheirinho	2 ^a	10
12	25°31'21,50"S; 49°16'47,66"O	Arroio Pinheirinho	2 ^a	10
13	25°31'8,02"S; 49°16'11,99"O	Ribeirão dos Padilhas	2 ^a	10
14	25°31'20,20"S; 49°16'4,67"O	Ribeirão dos Padilhas	2 ^a	10
15	25°31'35,80"S; 49°16'1,25"O	Arroio Cercado	3 ^a	5
16	25°31'43,88"S; 49°16'12,63"O	Arroio Cercado	3 ^a	5
17	25°31'50,01"S; 49°16'24,74"O	Arroio Cercado	3 ^a	5
18	25°31'53,14"S; 49°16'40,88"O	Arroio Cercado	3 ^a	5
19	25°32'1,18"S; 49°16'53,78"O	Arroio Cercado	3 ^a	5
20	25°31'29,72"S; 49°16'0,51"O	Ribeirão Padilha	3 ^a	5
21	25°31'35,93"S; 49°15'48,11"O	Ribeirão Padilha	3 ^a	5
22	25°32'1,74"S; 49°15'20,14"O	Arroio Boa Vista	4 ^a	8
23	25°32'7,69"S; 49°15'31,99"O	Arroio Boa Vista	4 ^a	8
24	25°32'9,52"S; 49°15'47,84"O	Arroio Boa Vista	4 ^a	8
25	32°32'19,93"S; 49°15'58,39"O	Arroio Boa Vista	4 ^a	8
26	25°32'29,35"S; 49°16'10,13"O	Arroio Boa Vista	4 ^a	8
27	25°31'54,10"S; 49°15'22,61"O	Ribeirão dos Padilhas	4 ^a	8
28	25°32'6,47"S; 49°15'6,19"O	Ribeirão dos Padilhas	4 ^a	8
29	25°32'50,91"S; 49°14'53,44"O	Rio Osternack	5 ^a	5
30	25°32'56,18"S; 49°15'8,82"O	Rio Osternack	5 ^a	5
31	25°33'5,61"S; 49°15'23,09"O	Rio Osternack	5 ^a	5
32	25°33'9,70"S; 49°15'35,52"O	Rio Osternack	5 ^a	5
33	25°33'14,04"S; 49°15'55,07"O	Rio Osternack	5 ^a	5
34	25°14'49,58"S; 49°14'49,58"O	Ribeirão dos Padilhas	5 ^a	5
35	25°32'56,67"S; 49°14'42,66"O	Ribeirão dos Padilhas	5 ^a	5

Fonte: Autoria própria.

A Figura 21 identifica os pontos de coleta distribuídos na bacia dos Padilhas.

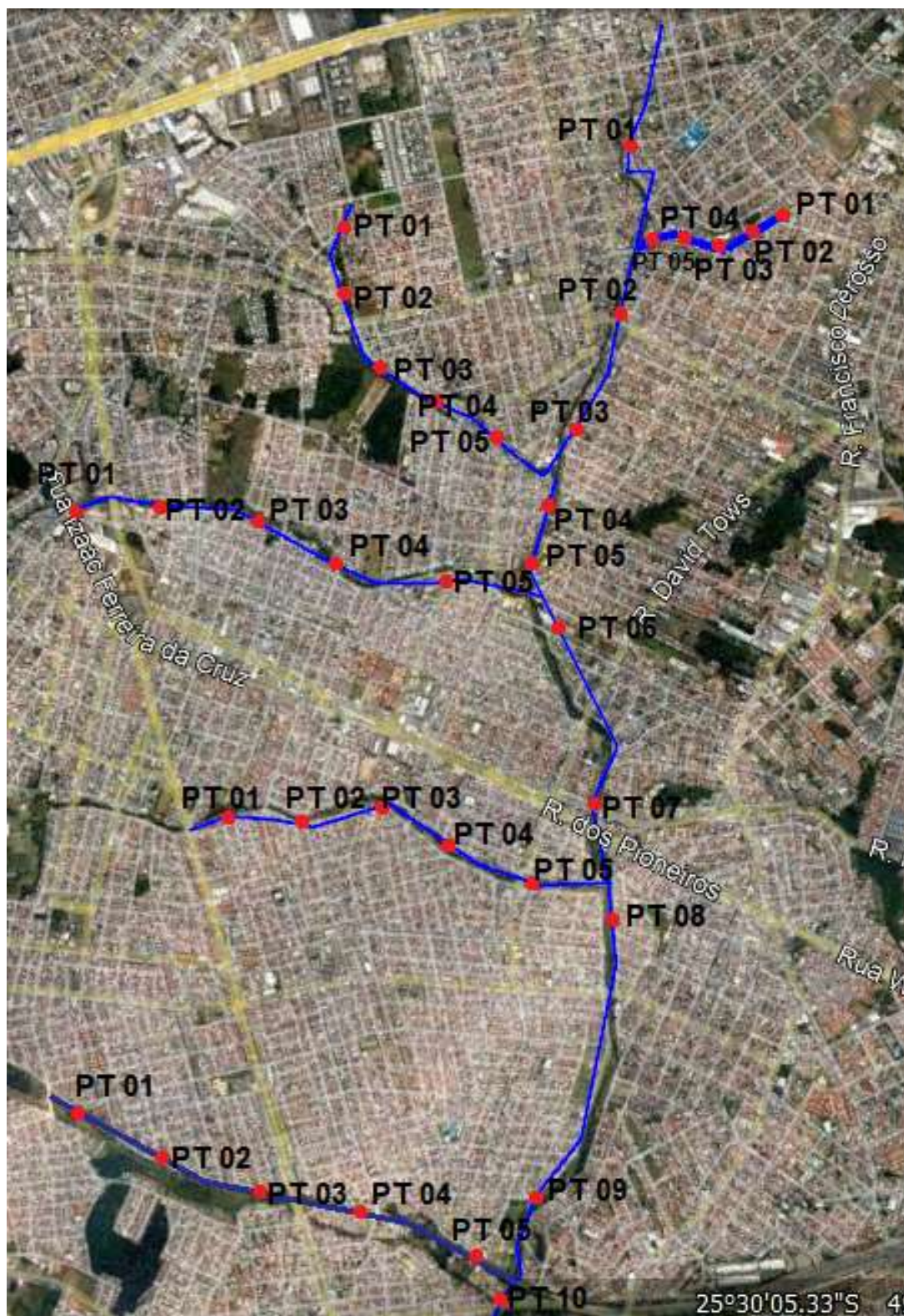


Figura 21 - Identificação dos pontos de coleta
Fonte: Google Earth PRO, 2021.

A Figura 22 representa os pontos de coleta feitos na 1ª campanha, que abrangeu o córrego Jardim Esmeralda (pontos 1, 2, 3, 4, e 5) e ribeirão dos Padilhas (pontos 6 e 7).



Figura 22 – Registro fotográfico dos pontos de coleta no ribeirão dos Padilhas (Pontos 6 e 7) e no córrego Jardim Esmeralda (Pontos 1, 2, 3, e 4)

Fonte: Autoria própria, 2021.

Os procedimentos experimentais do presente estudo foram desdobrados conforme fluxograma da Figura 23.

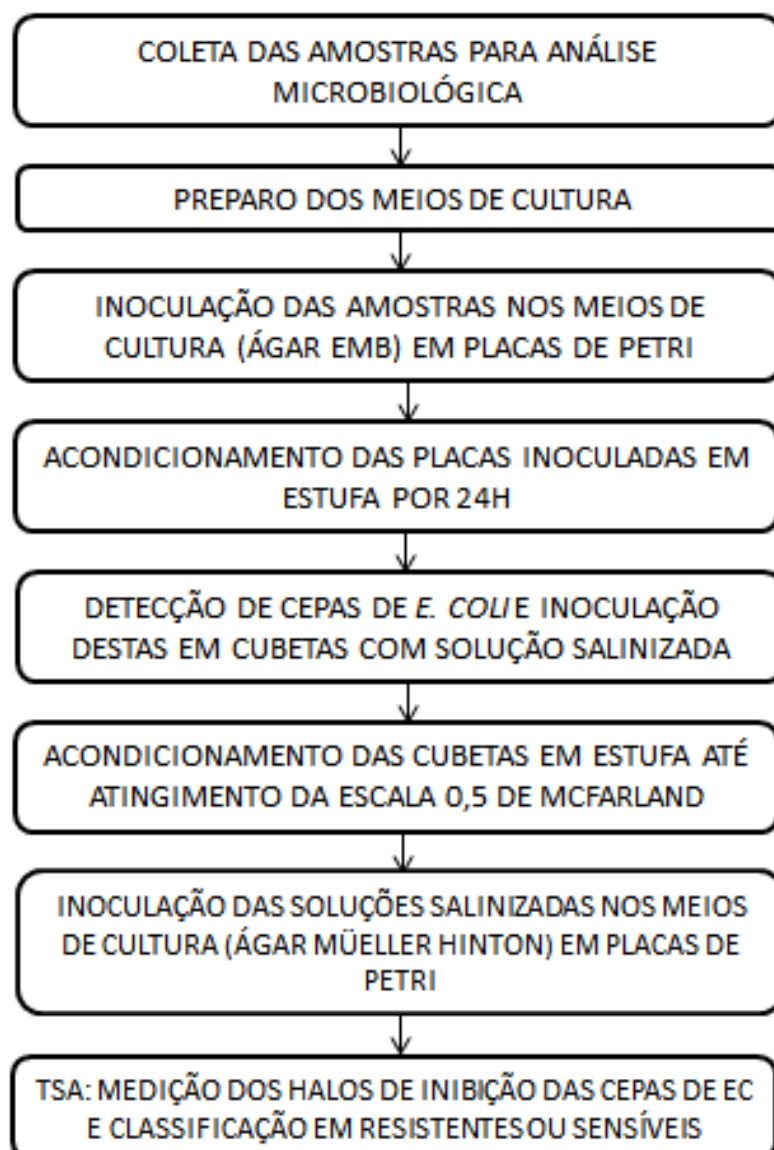


Figura 23 - Representação esquemática dos procedimentos experimentais
Fonte: Autoria própria, 2022.

Tanto o planejamento de amostragem quanto a preservação das amostras, foram feitos, respectivamente, conforme a NBR 9897/1987 (ABNT, 1987) – Planejamento de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores e NBR 9898/1986 (ABNT, 1986) – Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores. As amostras foram coletadas em frascos estéreis, em volumes de 500 mL, conforme procedimentos da APHA (2005).

Embora a NBR 9.897 preveja que a coleta de amostras para análise microbiológica deva suceder um período de pelo menos 5 dias de estiagem, o presente trabalho considerou a ocorrência de campanha em dias imediatamente precedentes de dias de precipitação, de modo a considerar o carreamento de

partículas contaminadas para os corpos hídricos como um forte contribuinte de poluição microbiológica (Drumond *et al.*, 2017).

As amostras foram coletadas em frascos estéreis, em volumes de 500 mL, seguindo-se a metodologia descrita no “Standard Methods” (APHA, 2005a). Após as coletas, as amostras foram mantidas e transportadas em caixas térmicas contendo gelo reciclado, para manutenção da temperatura na faixa de 2°C a 8°C, de modo a conter ao máximo a ação da flora microbiana ali presente.

3.2 PREPARO DOS MEIOS DE CULTURA E SEMEADURA DAS AMOSTRAS

Para a detecção e isolamento das colônias de *E. coli*, foi utilizado o meio de cultura ágar EMB (Eosina Azul de Metileno) a uma concentração de 37,5 g.L⁻¹ de água destilada. O ágar EMB é um meio seletivo utilizado para detecção e isolamento de bactérias entéricas gram-negativas. O Quadro 4 demonstra as características visuais dos microrganismos adotando como controle de qualidade suas respectivas cepas ATCC.

Quadro 4 - Características visuais dos microrganismos conforme controle de qualidade adotado.

Microrganismo	Controle de Qualidade	Característica
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 95922	Colônias verdes metálico brilhantes
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	Colônias rosas
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Colônias amareladas

Fonte: ANVISA, 2007.

Para a realização do Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos (TSA), foi utilizado o meio de cultura ágar *Müller Hinton* a uma concentração de 36 g.L⁻¹ de água destilada. Este meio de cultura é utilizado na técnica padrão recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para a realização de antibiogramas, pois permite a utilização da maior variedade de antibióticos comerciais atualmente, geralmente voltados no tratamento de doenças gastrointestinais e respiratórias.

Depois de aquecidas as soluções de ágar EMB e *Müller Hinton*, ambas foram esterilizadas a 121°C e 1 atm por 15 minutos em autoclave, adquirindo colorações avermelhada e alaranjada, respectivamente, e aspecto translúcido (Figura 24).



Figura 24 – (a) Soluções de meio ágar EMB (coloração avermelhada) e (b) *Müller Hinton* (coloração alaranjada) autoclavadas
Fonte: Autoria própria, 2022.

Os meios de cultura foram despejados em placas de petri de vidro de 100x15 mm, previamente esterilizadas em autoclave a 120°C por 30 minutos. Em média, foi distribuída cerca de 30 mL de solução por placa de petri, formando uma camada com espessura não superior a 4 mm (Figura 25). Feito isto, as placas de petri foram armazenadas a uma temperatura média de 7°C em geladeira.

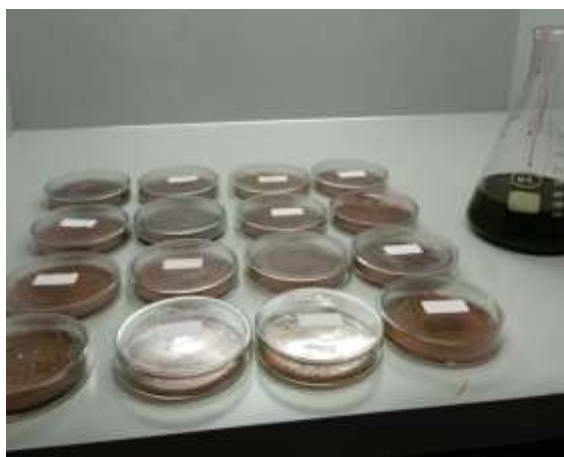


Figura 25 - Placas de petri contendo meio ágar EMB
Fonte: Autoria própria, 2022.

Após a solidificação do meio ágar EMB, foram inoculadas as amostras de água nos meios, introduzindo um *swab* estéril na suspensão bacteriana contra a parede interna para retirar o excesso de inóculo e semear a superfície das placas. A

semeadura foi feita em movimento de “zig-zag”, formando estrias sinuosas (Figura 26).



Figura 26 - Semeadura de placa por estria sinuosa
Fonte: Autoria própria, 2022.

Depois de semeadas, as placas de petri foram levadas para estufa de cultivo a 35°C por 48 horas (Figura 27), sendo o tempo médio necessário para a fermentação da lactose e a observância da coloração verde metálica das colônias de *E. coli*.



Figura 27 - Acondicionamento das placas de petri para semeadura
Fonte: Autoria própria, 2022.

3.3 DETECÇÃO E ISOLAMENTO DAS COLÔNIAS DE *ESCHERICHIA COLI*

Passado o tempo de armazenamento das placas inoculadas, foi possível detectar colônias de *E. coli* em algumas das amostras. Estas colônias apresentaram de 2 a 3 mm de diâmetro exibiam um brilho verde metálico à luz refletida.

Para cada uma das placas onde foi detectada a presença da bactéria *E. coli*, foi transferido de três a quatro colônias para tubos de ensaio contendo cerca de 3 mL de solução fisiológica a 0,9% (Figura 28), com o auxílio de uma alça de platina.



Figura 28 - Cubetas contendo 3 mL de solução fisiológica 0,9%
Fonte: Autoria própria.

Feito isso, os tubos de ensaio foram incubadas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ até a turbidez atingir 0,5 da escala de *McFarland* (Lennette *et al.*, 1985), assegurando uma quantidade de aproximadamente $1,5 \cdot 10^8$ unidades formadoras de colônia (UFC).mL⁻¹. A Figura 29 expressa a diferença de turbidez de solução salinizada logo após a inoculação das colônias de *E. coli* e após acondicionamento em estufa por cerca de 4 horas.



Figura 29 - Comparação de turbidez de solução imediatamente após a inoculação (à esquerda) e turbidez de solução após 4h em estufa a 35°C (à direita)
Fonte: Autoria própria, 2022.

3.4 TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS (TSA)

Atingida a turbidez nas cubetas, as suspensões bacterianas de *E. coli* foram inoculadas no meio ágar *Müller Hinton*, seguida da aplicação dos antibióticos. Atendendo aos padrões da CLSI (2018), para as placas de petri com diâmetro de 9 cm, os antibióticos foram espaçados 2,5 cm uns dos outros, conforme a Figura 30, de modo que os halos de inibição não se sobrepusessem.

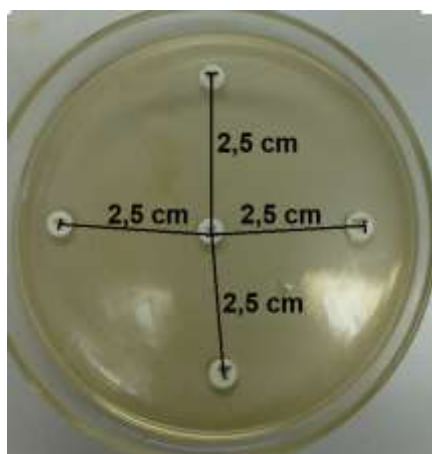


Figura 30 – Representação do espaçamento mínimo entre antibióticos para placas de petri com diâmetro de 9 cm

Fonte: Autoria própria, 2022.

Recomendado pela OMS, os Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos (TSA) também são conhecidos como antibiograma ou difusão em disco (BAUER *et al.*, 1966). Os antimicrobianos utilizados para medir a resistência das bactérias foram o cloranfenicol (CLO) (30 μm), amoxicilina (AMO) (10 μm), ciprofloxacina (CIP) (5 μm), amicacina (AMI) (30 μm) e ceftriaxona (CRO) (30 μm) (Figura 31).



Figura 31 - Antibióticos comerciais utilizados no TSA
Fonte: Autoria própria.

Após a inserção dos antibióticos, as placas foram invertidas e incubadas por 18 horas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$. Passado o período de incubação, foram medidos os halos de inibição em torno de cada antibiótico e as colônias foram classificadas em “resistentes”, “de sensibilidade intermediária” e “sensíveis” tomando como controle de qualidade a cepa padrão *E. coli* ATCC 25922 (CLSI, 2004) (Quadro 5).

Antibiótico	Halo padrão <i>E. coli</i> ATCC 25922
Amicacina (30 ug)	19-26
Amoxicilina + Ác clavulânico (20 / 10 ug)	18-24
Ceftriaxona (30 ug)	29-35
Ciprofloxacina (30 ug)	30-40
Cloranfenicol (30 ug)	21-27

Quadro 5 - Classificação de cepas de *Escherichia coli* com base nos halos de inibição das cepas padrão dos tipos ATCC 25922 e ATCC 35218
Fonte: CLSI (2004).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DETECÇÃO DE COLÔNIAS DE *E. COLI*

O Quadro 6 indica os afluentes, suas respectivas coordenadas geográficas e os resultados de detecção de cepas de *E. coli* nas amostras coletadas:

Quadro 6 – Detecção de cepas de *E. coli* na bacia hidrográfica do ribeirão dos Padilhas.

Afluente	Ponto	Coordenadas Geográficas (SIRGAS 2000)	Detecção
Ribeirão dos Padilhas	01	25°30'36,4"S; 49°16'13,61"O	Detectado
Ribeirão dos Padilhas	02	25°30'44,4"S; 49°16'21,3"O	Detectado
Ribeirão dos Padilhas	03	25°31'18,02"S; 49°16'11,99"O	Detectado
Ribeirão dos Padilhas	04	25°31'20,20"S; 49°16'4,67"O	Detectado
Ribeirão dos Padilhas	05	25°31'29,72"S; 49°16'0,51"O	Detectado
Ribeirão dos Padilhas	06	25°31'35,93"S; 49°15'48,11"O	Detectado
Ribeirão dos Padilhas	07	25°30'44,4"S; 49°16'21,3"O	Não detectado
Ribeirão dos Padilhas	08	25°31'18,05"S; 49°16'9,30"O	Não detectado
Ribeirão dos Padilhas	09	25°31'18,50"S; 49°16'16,04"O	Não detectado
Ribeirão dos Padilhas	10	25°31'21,34"S; 49°16'26,30"O	Não detectado
Córrego Esmeralda	01	25°30'42,30"S; 49°16'22,01"O	Detectado
Córrego Esmeralda	02	25°30'36,41"S; 49°16'13,6"O	Detectado
Córrego Esmeralda	03	25°30'32,72"S; 49°16'10,01"O	Detectado
Córrego Esmeralda	04	25°30'28,70"S; 49°16'8,60"O	Detectado
Córrego Esmeralda	05	25°30'18,62"S; 49°16'5,70"O	Detectado
Arroio Pinheirinho	01	25°31'18,05"S; 49°16'9,30"O	Detectado
Arroio Pinheirinho	02	25°31'18,50"S; 49°16'16,04"O	Detectado
Arroio Pinheirinho	03	25°31'21,34"S; 49°16'26,30"O	Não detectado
Arroio Pinheirinho	04	25°31'21,91"S; 49°16'36,30"O	Não detectado
Arroio Pinheirinho	05	25°31'21,50"S; 49°16'47,66"O	Não detectado
Arroio Cercado	01	25°31'35,80"S; 49°16'1,25"O	Detectado
Arroio Cercado	02	25°31'43,88"S; 49°16'12,63"O	Detectado
Arroio Cercado	03	25°31'50,01"S; 49°16'24,74"O	Não detectado
Arroio Cercado	04	25°31'53,14"S; 49°16'40,88"O	Não detectado
Arroio Cercado	05	25°32'1,18"S; 49°16'53,78"O	Não detectado
Arroio Boa Vista	01	32°32'19,93"S; 49°15'58,39"O	Detectado
Arroio Boa Vista	02	32°30'15,33"S; 49°12'58,09"O	Detectado
Arroio Boa Vista	03	25°32'1,74"S; 49°15'20,14"O	Não detectado
Arroio Boa Vista	04	25°32'7,69"S; 49°15'31,99"O	Não detectado
Arroio Boa Vista	05	25°32'9,52"S; 49°15'47,84"O	Não detectado
Rio Osternack	01	25°32'50,91"S; 49°14'53,44"O	Não detectado
Rio Osternack	02	25°32'56,18"S; 49°15'8,82"O	Não detectado
Rio Osternack	03	25°33'5,61"S; 49°15'23,09"O	Não detectado
Rio Osternack	04	25°33'9,70"S; 49°15'35,52"O	Não detectado
Rio Osternack	05	25°33'14,04"S; 49°15'55,07"O	Não detectado

Fonte: Autoria própria.

Conforme mostra a Figura 32, estas colônias apresentam de 2 a 3 mm de diâmetro e exibem um brilho verde metálico quando submetidos contra a luz.

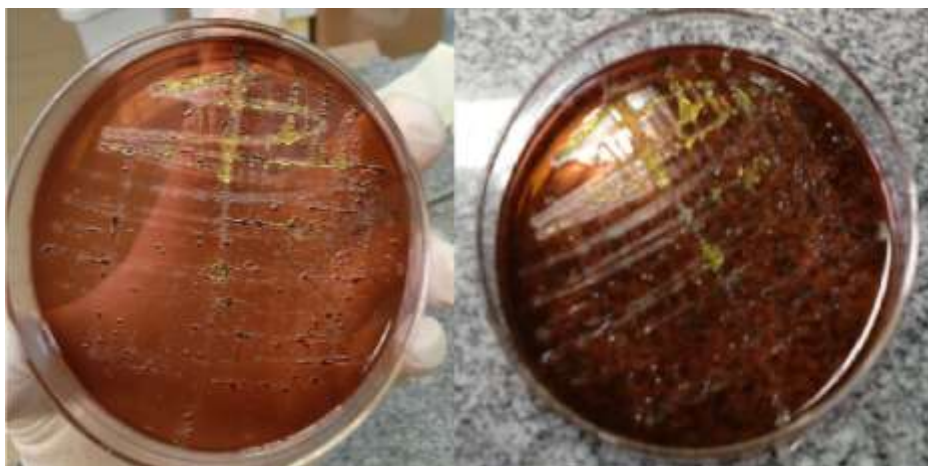


Figura 32 - Detecção de colônias de *E. coli* (coloração verde metálica)
Fonte: Autoria própria.

De acordo com a Figura 32, é possível constatar a incidência de colônias de *Escherichia coli* em todos os pontos amostrados no córrego Jardim Esmeralda, nas imediações da nascente do rio dos Padilhas e nas imediações dos afluentes secundários, como o arroio Pinheirinho, arroio Cercado e arroio Boa Vista. Além da evidente existência de lançamentos de esgoto bruto nas imediações dos pontos amostrados, vale ressaltar a baixa vazão dos trechos de nascente, podendo contribuir na alta concentração de bactérias das amostras coletadas.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO RIBEIRÃO DOS PADILHAS QUANTO À RESISTÊNCIA DAS CEPAS DE *E. COLI* AOS ANTIBIÓTICOS

Os resultados de resistência das colônias de *E. coli* aos antimicrobianos, provenientes das amostras de água do rio dos Padilhas, do córrego Jardim Esmeralda, do arroio Pinheirinho, do arroio Cercado, do arroio Boa Vista e do córrego Osternack, podem ser vistos nos Quadros 7, 8, 9, 10 e 11. Nas Figuras 33, 34, 35, 36, 37, é possível observar os diâmetros dos halos de inibição, em mm, destas mesmas colônias 18 horas após a inoculação dos discos de antibióticos sobre as placas.

Na seção dos Anexos A, tem-se a caracterização de todos os pontos onde foram detectadas cepas de *E. coli* e seus respectivos antibiogramas.

Quadro 7 - Caracterização do Ribeirão dos Padilhas quanto ao perfil de resistência das cepas de *E. coli* por meio da aplicação de TSA.

Identificação	Amicacina	Amoxicilina + Ác. clavulânico	Ceftriaxona	Ciprofloxacina	Cloranfenicol
Ponto 1	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Ponto 2	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Ponto 3	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Ponto 4	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Ponto 5	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Ponto 6	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente

Fonte: Autoria própria.

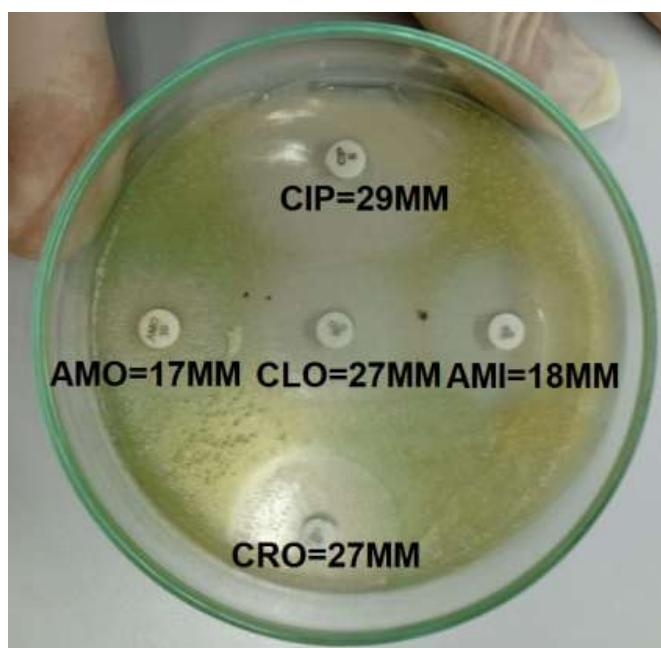


Figura 33 - Antibiograma de amostra do ribeirão dos Padilhas

Fonte: Autoria própria.

Quadro 8 - Caracterização do córrego Jardim Esmeralda quanto ao perfil de resistência das cepas de *E. coli* por meio da aplicação de TSA.

Identificação	Amicacina	Amoxicilina + Ác. clavulânico	Ceftriaxona	Ciprofloxacina	Cloranfenicol
Ponto 1	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Ponto 2	Resistente	Resistente	Resistência intermediária	Resistência intermediária	Resistente
Ponto 3	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistência intermediária
Ponto 4	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Ponto 5	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente

Fonte: Autoria própria.

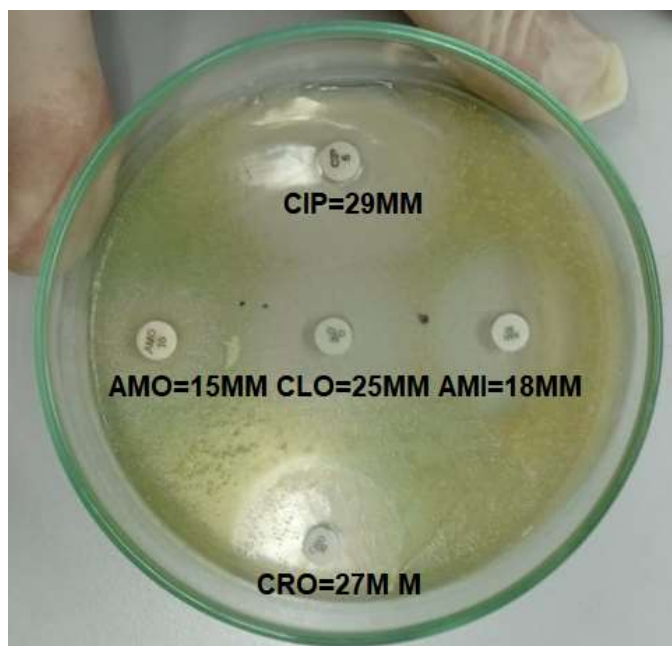


Figura 34 - Antibiograma de amostra do córrego Jardim Esmeralda
Fonte: Autoria própria.

Quadro 9 – Caracterização do arroio Pinheirinho quanto ao perfil de resistência das cepas de *E. coli* por meio da aplicação de TSA.

Identificação	Amicacina	Amoxicilina + Ác. clavulânico	Ceftriaxona	Ciprofloxacina	Cloranfenicol
Ponto 01	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Ponto 02	Resistência intermediária	Resistente	Resistência intermediária	Resistente	Resistência intermediária

Fonte: Autoria própria.



Figura 35 - Antibiograma de amostra do arroio Pinheirinho
Fonte: Autoria própria.

Quadro 10 - Caracterização do arroio Cercado quanto ao perfil de resistência das cepas de *E. coli* por meio da aplicação de TSA.

Identificação	Amicacina	Amoxicilina + Ác. clavulânico	Ceftriaxona	Ciprofloxacina	Cloranfenicol
Ponto 1	Resistência intermediária	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Ponto 2	Resistente	Resistente	Resistência intermediária	Resistente	Resistente

Fonte: Autoria própria.

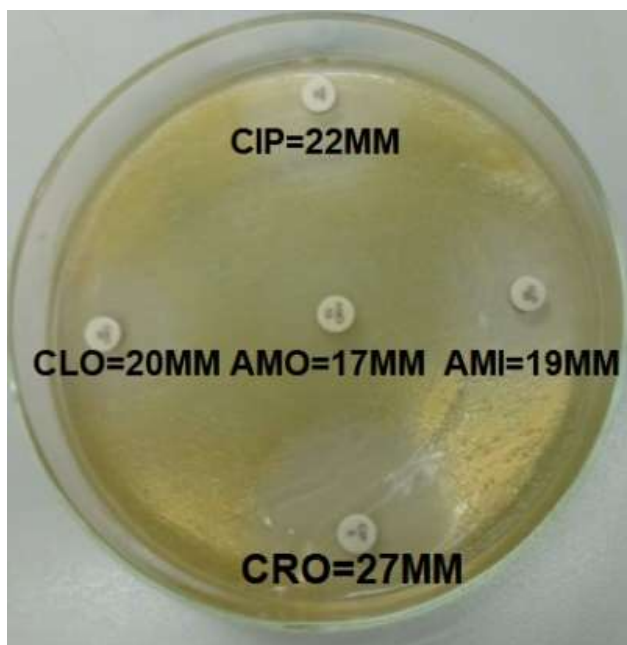


Figura 36 - Antibiograma de amostra do arroio Cercado
Fonte: Autoria própria.

Quadro 11 - Caracterização do arroio Boa Vista quanto ao perfil de resistência das cepas de *E. coli* por meio da aplicação de TSA.

Identificação	Amicacina	Amoxicilina + Ác. clavulânico	Ceftriaxona	Ciprofloxacina	Cloranfenicol
Ponto 25	Resistente	Resistente	Resistência intermediária	Resistente	Resistente
Ponto 26	Resistente	Resistente	Resistência intermediária	Resistente	Resistente

Fonte: Autoria própria.

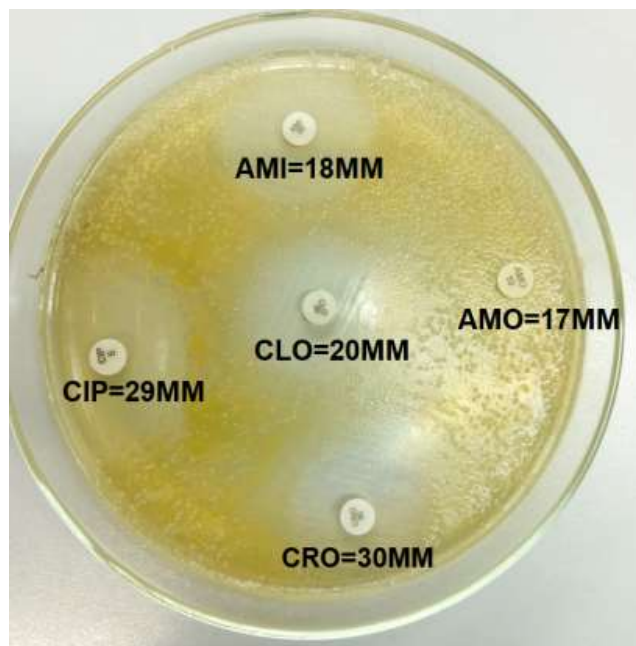


Figura 37 - Antibiograma de amostra do arroio Boa Vista
Fonte: Autoria própria.

Nas Figuras 38, 39, 40, 41 e 42, é possível observar a caracterização da bacia hidrográfica do ribeirão dos Padilhas em função da resistência das cepas de *E. coli* detectadas, com a aplicação da amicacina, amoxicilina com ácido clavulânico, ceftriaxona, ciprofloxacina e cloranfenicol. Para os pontos de cor esverdeada, tem-se a não detecção de cepas de *E. coli*, já para os pontos de cor amarela, alaranjada e vermelha, tem-se a detecção de cepas de *E. coli* que apresentaram sensibilidade, resistência intermediária e resistência aos antibióticos testados, respectivamente.



Figura 38 - Caracterização de cepas de *E. coli* resistentes à ampicina
 Fonte: Autoria própria, 2022.



Figura 39 - Caracterização de cepas de *E. coli* resistentes à amoxicilina + ac. Clavulânico
 Fonte: Autoria própria, 2022.



Figura 40 - Caracterização de cepas de *E. coli* resistentes à ceftriaxona
 Fonte: Autoria própria, 2022.



Figura 41 - Caracterização de cepas de *E. coli* resistentes à ciprofloxacina
 Fonte: Autoria própria, 2022.



Figura 42 - Caracterização de cepas de *E. coli* resistentes ao cloranfenicol
 Fonte: Autoria própria, 2022.

Dos pontos amostrados, foi possível observar a incidência de 88,2% de amostras contendo cepas de *E. coli* resistentes à amicacina. Legett (2017) aponta o declínio deste medicamento, pertencente à classe dos aminoglicosídeos, nos últimos vinte anos por conta do surgimento e desenvolvimento de cepas bacterianas multirresistentes. Isto pode explicar seu baixo custo em relação às outras classes de antibióticos. A causa mais comum de resistência bacteriana à classe dos aminoglicosídeos está associada à sua desativação, causada por enzimas, tipicamente disseminadas por plasmídeos. A amicacina também apresenta sinergismo com outros antibióticos, principalmente β -lactâmicos.

Referente à amoxicilina combinada com ácido clavulânico, antibiótico β -lactâmico testado, foi possível observar a incidência total de amostras contendo cepas de *E. coli* resistentes a este. Ainda, que, por definição, o diâmetro do halo de inibição da amoxicilina seja o menor dentre os outros quatro antibióticos testados na classificação das cepas de *E. coli* em “resistentes”, os resultados encontrados puderam levar à conclusão de alta variabilidade genética nas colônias analisadas, que confere à estas cepas mecanismos de defesa distintos quando submetidos aos antibióticos.

Em pacientes predispostos, o contágio por *E. coli* produtora de β -lactamase é uma causa notável de infecção adquirida em ambiente hospitalar (COCHARD *et al.*, 2014). Outro ponto é que, de acordo com as pesquisas mencionadas no presente trabalho – bem como dos próprios resultados encontrados no estudo de caso – o panorama da saúde pública expõe a ocorrência de estirpes multirresistentes não só nos ambientes hospitalares.

Em Curitiba, a bacia hidrográfica do rio dos Padilhas está entre as bacias do município que mais concentram internações por doenças de veiculação hídrica (CURITIBA, 2018). Assim, o uso de amoxicilina em pacientes previamente colonizados por *E. coli* produtora de β -lactamase pode ser ineficaz e, ainda, contribuir com a seleção natural de estirpes resistentes nas Unidades de Saúde (U.S.) existentes na região.

Dos pontos amostrados, foi possível observar a incidência de 70,5% de amostras contendo cepas de *E. coli* resistentes à ceftriaxona, antibiótico mais utilizado do grupo das cefalosporinas de terceira geração. No entanto, na literatura há dados limitados sobre mutações cromossômicas específicas e outras vias que contribuem para a resistência à ceftriaxona da bactéria *E. coli*. Assim, iniciativas para

uma vigilância mais ampla da resistência a este antibiótico, bem como suas determinantes da resistência genômica, devem ser buscadas a fim de buscar por tratamentos mais direcionados quando do caso de infecções (CHING e ZAMAN, 2021).

Dos pontos amostrados, foi possível observar a incidência de 94,1% de cepas de *E. coli* resistentes à ciprofloxacina. A ciprofloxacina inibe as atividades da DNA-girase e topoisomerase tipo IV, duas enzimas essenciais para a *E. coli*. A aquisição de resistência à ciprofloxacina está frequentemente relacionada à mutações cromossômicas (que agem sobre os alvos proteicos gyrA, gyrB, parC e parE), que causam o acúmulo da droga na estrutura celular (redução de absorção ou aumento de efluxo), e/ou genes de resistência à quinolonas associados com plasmídeos (FÂBREGA *et. al*, 2009).

Já para o cloranfenicol, foi observada a incidência de 88,2% de amostras contendo cepas de *E. coli* resistentes. De acordo com Killgore *et al.* (2004), este é um dos antibióticos mais recomendados para o tratamento empírico de infecção do trato urinário nas comunidades.

4.3 MICROBIOLOGIA NA GESTÃO DAS ÁGUAS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIBEIRÃO DOS PADILHAS

Conforme aponta o relatório de 2020 do Departamento de Recursos Hídricos e Saneamento – MARHS, o IQA da região dos Padilhas de 2020 foi classificado como “Ruim” ou “Péssimo” em 75% dos pontos monitorados. Além do problema de esgotamento na região, a bacia do rio dos Padilhas possui registros de inundações (CH2M HILL). No entanto, ainda que este indicador aponte a evidente má qualidade das águas da região, a simples enumeração de coliformes totais presente nas águas não necessariamente define o grau de toxicidade ou patogenicidade aos seres-humanos. Deste modo, cabe salientar a importância de análises biológicas alternativas na gestão integrada das águas da bacia hidrográfica do rio dos Padilhas, tomando como base a saúde pública da comunidade.

Além da aplicação do TSA em diferentes pontos do córrego Jardim Esmeralda e do rio dos Padilhas, foi feita a enumeração dos parâmetros coliformes

totais, coliformes termotolerantes e *E. coli*. A concentração, em UFC.100.mL⁻¹, pode ser observada na Tabela 4.

Tabela 4 – Enumeração dos parâmetros coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli*.

Ponto	Afluente	Parâmetro		
		Coliformes totais (UFC.100 mL ⁻¹)	Coliformes termotolerantes (UFC.100 mL ⁻¹)	<i>E. coli</i> (UFC.100mL ⁻¹)
Pt. 01	Córrego Esmeralda	5900	4300	2300
Pt. 02	Córrego Esmeralda	3200	2300	2000
Pt. 03	Córrego Esmeralda	1000	1000	1000
Pt. 04	Córrego Esmeralda	500	500	500
Pt. 05	Córrego Esmeralda	8400	5600	5300
Pt. 01	Rio dos Padilhas	200	200	200
Pt. 02	Rio dos Padilhas	16300	13600	3400

Fonte: Autoria própria, 2021.

Os resultados encontrados na enumeração de bactérias *E. coli* corroboraram com a hipótese inicial levantada no presente trabalho, em que a enumeração de bactérias pode ser considerada um parâmetro insuficiente na caracterização da qualidade das águas. No ponto “Pt. 01” do ribeirão dos Padilhas, por exemplo, foi possível observar uma densidade de bactérias de 200 UFC.100.mL⁻¹, a menor dentre as outras amostras observadas no afluente, e a incidência total de colônias resistentes a todos os antibióticos testados.

Embora classicamente atribuída a mutações cromossômicas, a resistência de bactérias é mais comumente associada a elementos extra-cromossômicos adquiridos de outras bactérias do ambiente. Outros mecanismos, como as chamadas “bombas de efluxo”, que expõem vários tipos de antibióticos, são agora reconhecidos como os principais contribuintes para a resistência a múltiplas drogas em bactérias. Uma vez estabelecidos, os organismos multirresistentes persistem e se espalham pelo mundo, causando falhas clínicas no tratamento de infecções e crises de saúde pública.

Pesquisas destinadas a identificar novos antibióticos são tidas como prioridade entre as indústrias farmacêuticas, tendo em vista a ineficiência dos atuais antibióticos no tratamento de doenças gastrointestinais e respiratórias. Observando o cenário atual clínico, é possível observar uma longa lista de micróbios que encontraram maneiras de contornar diferentes estruturas das classes de drogas e não são mais suscetíveis à maioria destas, senão todas as existentes.

Com base nisto, no capítulo 4.4 é apresentada uma solução alternativa no combate às cepas bacterianas resistentes aos antibióticos por meio da aplicação do

tratamento terciário na estação de tratamento de esgoto (ETE) Padilha Sul. Sabe-se que as estações de tratamento de esgoto brasileiras raramente aplicam aos seus efluentes o tratamento terciário uma etapa de polimento e desinfecção que remove organismos patogênicos.

4.4 ALTERNATIVAS NO COMBATE ÀS CEPAS BACTERIANAS MULTIRRESISTENTES PRESENTES NA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIBEIRÃO DOS PADILHAS

Como alternativa no combate das cepas de *E. coli* resistentes aos antibióticos, o presente trabalho propõe o tratamento por ozonização seguido de cloração na região hidrográfica do ribeirão dos Padilhas. Sabe-se que o gás de ozônio atua como importante e potente agente oxidante de materiais biológicos, apresentando uma ação mais rápida que o cloro, que é o produto usualmente mais utilizado nas ETEs (TORMIN *et al.*, 2016).

Diferentemente do cloro, o ozônio é capaz de romper a parede celular dos microrganismos, levando um tempo aproximado de 3 minutos quando da exposição ao gás. No entanto, cabe destacar que o tratamento por ozonização se mostra mais eficaz quando seguido pela cloração (desinfecção sequencial), em baixas concentrações, de forma a reduzir a geração de compostos clorados sobre as águas (halometanos e organoclorados) (SANASA, 2018). Tal afirmativa se deve ao fato de que a concentração do ozônio residual decai rapidamente, havendo a necessidade de um composto secundário capaz de inibir a atividade bacteriana das cepas de *E. coli* (EPA, 1986).

Como forma de combate às cepas de *E. coli*, o presente trabalho propõe a implantação de um tratamento terciário combinado (desinfecção por ozônio mais cloro) na ETE Padilha Sul (Figura 43), localizada à jusante da confluência do ribeirão dos Padilhas e do rio Iguaçu.

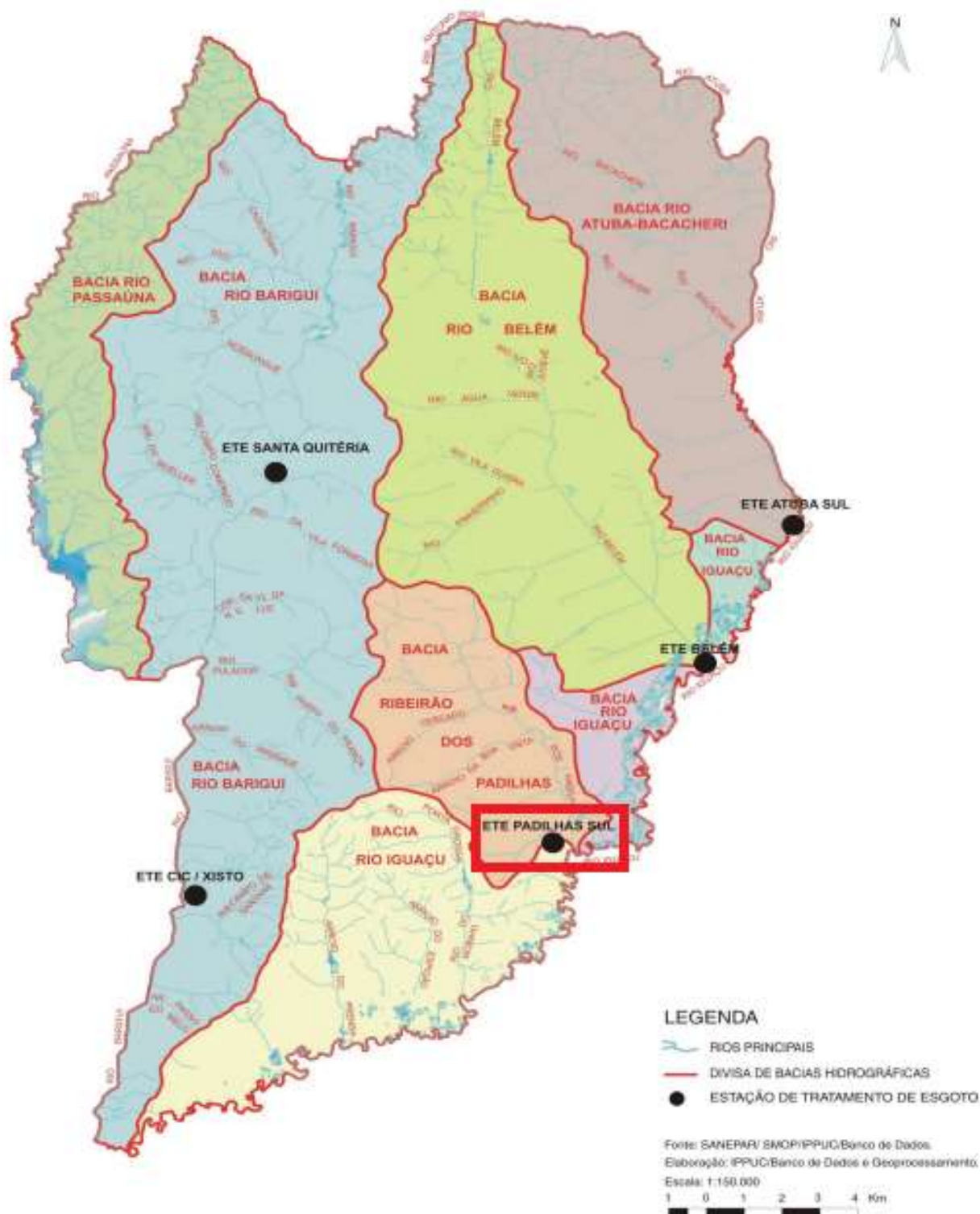


Figura 43 – Identificação da Estação de Tratamento Padilha Sul
Fonte: IPPUC, 2005.

Situada no bairro Ganchinho (Curitiba-PR), a ETE Padilha Sul trata uma vazão afluyente de $438,75 \text{ L}\cdot\text{s}^{-1}$ de esgoto doméstico e atende uma carga orgânica proveniente de cerca de 65% da população da bacia dos Padilhas. Seu fluxo de tratamento compreende um Reator Anaeróbio de Manto de Lodo e Fluxo

Ascendente (RALF) (Figura 44), seguido do pós-tratamento, que ocorre em duas lagoas aeradas. Não há tratamento terciário.



Figura 44 – Fotografia aérea da Estação de Tratamento Padilha Sul
Fonte: SANEPAR, 2015.

Os componentes básicos para a implantação de um tratamento terciário combinado por ozonização e cloração compreendem, basicamente, um equipamento ozonizador, cilindros de gás contendo O_2 puro e um rotâmetro. O ozonizador é responsável pela produção do gás ozônio a partir da injeção de oxigênio e o controle da vazão de gás é feito pelo rotâmetro.

Adotando como critério a inativação de 99% de microrganismos a $5^\circ C$, a U.S. EPA (1986) recomenda a utilização dos fatores concentração residual de desinfetante ($mg.L^{-1}$) e tempo de contato em que as bactérias ficarão expostas ao agente. Tais premissas são fundamentais para a concepção do tratamento terciário. Outros fatores que influenciam na desinfecção com ozônio são sólidos suspensos, pH, demanda química de oxigênio (DQO), carbono orgânico, temperatura e geometria da câmara de contato.

Como sugestão para trabalhos futuros, o presente trabalho propõe um estudo experimental que vise a concepção de um tratamento terciário no combate às cepas de *E. coli* resistentes aos antibióticos.

5 CONCLUSÕES

Com o intuito de expressar um panorama da saúde pública da bacia hidrográfica do ribeirão dos Padilhas (perfil epidemiológico da região), a análise das águas da região, realizada no presente estudo, pode ser entendida como um estudo preliminar referente às doenças infecciosas causadas por bactérias *Escherichia coli* dentro das comunidades. Esta premissa parte do entendimento de que o grau de resistência de bactérias *E. coli* conduz a um tratamento mais adequado de doenças, que acometem o trato gastrointestinal e os sistemas urinário e respiratório.

Além disso, o presente trabalho reiterou da importância de que o tratamento por antibióticos deve ser feito de forma discriminada, entendendo qual dos medicamentos será mais eficaz no combate às cepas patogênicas.

Com enfoque de otimizar o tratamento por doenças infecciosas causadas por cepas de *E. coli* na bacia do ribeirão dos Padilhas, foi constatado que a definição do antibiótico mais adequado poderia ser feita mediante a Testes de Suscetibilidade aos Antibióticos (TSA), observando o comportamento das cepas de *E. coli* quando submetidas à aplicação de discos de antibióticos.

Foi salientado, ainda, que a adoção de antibióticos no combate às cepas de EC infecciosas sem a realização prévia do TSA poderia contribuir ainda mais com o surgimento e desenvolvimento de cepas bacterianas ainda mais resistentes.

Com o lançamento de esgoto bruto nos corpos hídricos observado, foi levantada a hipótese de que parte das cepas detectadas por meio de amostragem era de origem humana, especialmente em pontos próximos às nascentes dos tributários do rio dos Padilhas, haja vista que a vazão dos esgotos brutos apresentava contribuição significativa na vazão total dos trechos.

No entanto, a confirmação se as cepas de *E. coli* eram de fato de origem humana, ocorreria mediante análise de reação em cadeia da polimerase – PCR (análise gênica) ou mediante o método MST (*microbial source tracking*), descrito no capítulo 2.

Com isso, a presente pesquisa se limitou em uma avaliação hipotética. Isto é, as cepas detectadas poderiam ser ou não oriundas do trato intestinal humano.

Por outro lado, deve ser salientado que mesmo que as bactérias *E. coli* analisadas não fossem oriundas do trato intestinal humano quando da sua

amostragem, estas mesmas cepas apresentam propensão de se alojarem no organismo humano, já que apresentam forte capacidade de adaptação nos mais diversos ambientes (ora podem estar presentes em ambientes aquáticos e ora podem estar presentes em ambiente terrestre) e podem reduzir de seu metabolismo a níveis baixíssimos, entrando em um estado de dormência quando se encontram em ambientes que não fornecem subsídios para o seu desenvolvimento.

No meio ambiente, as bactérias *E. coli* podem sobreviver de 2 a 5 meses em reservatórios de água e, em uma bancada de aço inoxidável seca, sobrevive facilmente até 2 meses (BLACK, 2002).

Tal afirmativa implica no fato de que estas bactérias permeiam no ambiente até que se instalem no organismo humano por meio da ingestão de água ou alimentos contaminados.

Outro aspecto abordado no presente trabalho diz respeito ao surgimento de cepas de *E. coli* multirresistentes encontradas em Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs), sobretudo na etapa do tratamento terciário, em que o lançamento de agentes desinfetantes pode estar contribuindo ainda mais na resistência da *E. coli*.

No capítulo 1 foi apresentado que o único parâmetro biológico avaliado nas ETEs está relacionado à enumeração de coliformes totais. O presente trabalho também serve como um indicativo de que tão somente a enumeração pode apresentar um cenário falso em relação à qualidade das águas à jusante destas estações. Uma amostra de água à jusante pode apresentar uma baixa concentração de coliformes totais, só que, no entanto, as poucas bactérias ali presentes podem apresentar um alto grau de resistência aos antibióticos, o que as torna igualmente nocivas ao ecossistema aquático e à população, que cedo ou tarde fará uso de suas águas.

Com estas origens esparsas de bactérias EC multirresistentes, é importante que o tema seja abordado de forma multidisciplinar (visão sistêmica), em que o ciclo de surgimento e desenvolvimento das bactérias *E. coli* seja monitorado por um corpo técnico composto de profissionais dos mais diversos segmentos.

6 REFERÊNCIAS

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: 15º Suplemento Informativo. 2007. Disponível em: < https://so.controllab.com/pdf/bula_bacteria_mai_2007.pdf>. Acesso em: 25 de jun. 2021.

ARNONE, R. D.; WALLING, J. P. Waterborne pathogens in urban watersheds. **Journal of Water and Health**, Ohio (OH). v. 5. p. 149-162. Maio 2007.

ASHBOLT, N. J.; Microbial Contamination of Drinking Water and Human Health from Community Water Systems. **Water and Health**. United Kingdom (UK). V. 2, p. 95-106. Março 2015.

AUJOLAT, F.; *et al.* Environmental Antimicrobial Resistance in a Small Urban Mediterranean River: A Focus on Endemic Beta-Lactamases in Clinically Relevant Bacteria. **Water**, Basileia (BA). v. 13. p. 1-18. Junho 2021.

BERG, G.; METCALF, T.G. Indicators of viruses in waters. **American Journal of Public Health**. v. 69. p. 267-296. Novembro 1979.

BLACK, J. G. **Microbiologia: Fundamentos e Perspectivas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 274, de 29 de novembro de 2000. O Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA, no uso das competências que lhe são conferidas pela Lei no 6938, de 31 de agosto de 1981, regulamentada pelo Decreto no 99.274. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 29 nov. 2000. p. 3.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 888, de 04 de maio de 2021. Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017, para dispor 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, 04 dez. 2021. p. 127.

BRASIL. Resolução CONAMA. Portaria 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**, DF, 18 mar. 2005. p. 36.

CAROFF, N.; *et al.* Analysis of the effects of -42 and -32 ampC promoter mutations in clinical isolates of *Escherichia coli* hyperproducing AmpC. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Oxford** v. 45, n. 6, p. 783-788, jun. 2000.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. ed. 28. Disponível em: <<https://file.gums.ac.ir/repository/mmrc/CLSI-2018-M100-S28.pdf>> Acesso em: 26 de jun. 2021.

COCHARD, H.; *et al.* Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in French nursing homes: an association between high carriage rate among residents, environmental contamination, poor conformity with good hygiene practice, and putative resident-to-resident transmission. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 35, p. 384-389. Abril 2014.

DERIOSO, J. C. **Introdução ao controle de poluição ambiental**. Rio de Janeiro: Signus, 2000.

DERÍSIO, J. C; **Introdução ao Controle de Poluição Ambiental**. 2. Ed. São Paulo: Signus. 2000.

DRUMOND, S. N.; *et al.* Identificação molecular de *Escherichia coli* diarreiogênica na Bacia Hidrográfica do Rio Xopotó na região do Alto Rio Doce. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro (RJ), v. 23, p. 579-590, maio 2018.

FERNANDES, L. L.; GOIS, R. V. Avaliação das principais metodologias aplicadas às análises microbiológicas de água para consumo humano voltadas para a detecção de coliformes totais e termotolerantes. **FAEMA**, Maranhão (MA). v. 6. p. 49-64. Dez 2015.

FERREIRA. S. A. S. **Diagnóstico Socioambiental da Bacia do Ribeirão dos Padilha**: O processo do Loteamento Bairro Novo, Sítio Cercado – Curitiba – PR. 2005. 133 p. Dissertação (Mestrado em Geografia) – Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2005.

FRENCH, *et al.* A planetary health model for reducing exposure to faecal contamination in urban informal settlements: Baseline findings from Makassar, Indonesia. **Environment International**, Flandres (FL). V. 155, Junho 2021.

GERBA, C.P. Environmentally transmitted pathogens. **Environmental Microbiology**, Inglaterra. v. 3. P. 509-550. Janeiro 2015.

GILLINGS, M. R.; STOKES, W. H. Are humans increasing bacterial evaluability?, **Trends in Ecology & Evolution**, Amsterdã (AM). V. 2, p. 346-352. Jun 2012.

GITTER, A.; *et al.* Human Health Risks Associated with Recreational Waters: Preliminary Approach of Integrating Quantitative Microbial Risk Assessment with Microbial Source Tracking. **Water**, Basileia (BA). v. 12. p. 1-16. Janeiro 2020.

GOMES, T. A.; *et al.* Enteropathogens Associated with Acute Diarrheal Disease in Urban Infants in Sao Paulo, Brazil. **Journal of Infectious Diseases**, São Paulo (SP). v. 164, p. 331-337. Janeiro 1991.

HIGGINS, J. A.; *et al.* TIR- and STX-positive Escherichia coli in stream waters in a metropolitan area. **Environmental Microbiology**, Inglaterra. v. 71. p. 2511-2519. Maio 2005.

INSTITUTO MINEIRO DE GESTÃO DAS ÁGUAS (IGAM). (2015) **Bacia hidrográfica do Rio Doce**. 2015. Disponível em: <<http://www.igam.mg.gov.br/component/content/155?task=view>>. Acesso em: 26 nov. 2021.

ISHII, S.; SADOWSKY; M. J. Escherichia coli in the Environment: Implications for Water Quality and Human Health. **Microbes and Environments**, Taiwan (TW). v. 23. p. 101-108. Março 2008.

JACOBI, P. R. **A cidade e o meio ambiente**. São Paulo: Annablume, 1999.

KAPER J. B.; *et al.* Pathogenic Escherichia coli. **Nature Reviews of Microbiology**, United Kingdom (UK). V. 2, p. 123-140. Maio 2004.

LIM, K.Y.; FOO, K. Y. Hazard identification and risk assessment of the organic, inorganic and microbial contaminants in the surface water after the high magnitude of flood event. **Environment International**, Antuérpia (AN). v. 157. p. 11-25. Agosto 2021.

MAGIORAKOS, A. P.; *et al.* Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquire resistance. **Bacteriology**. v. 18, p. 268-281, novembro 2011.

MATHERS, A. J; *et al.* The role of epidemic resistance plasmids and international high risk clones in the spread of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. **Clinical Microbiology Reviews**. Minnesota (MN). V. 28. p. 565-591. 2015.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **American Society for Microbiology**, Washington (WG). v. 11. p. 142-201. Janeiro 1998.

OMS (Organização Mundial da Saúde). Publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. 2017. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>>. Acesso em: 01 nov. 2021.

PFEIFER, Y.; *et al.* Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. **International Journal of Medical Microbiology**, Berlim. v. 300. p. 371-379. Maio 2010.

PRUDEN, A.; *et al.* Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: studies in northern Colorado. **Environmental Science & Technology**, Connecticut (CN). v. 40, p. 7445-7450. Janeiro 2006.

RODRIGUES, F. C. B.; MESQUITA, A. R. C. Enterobactérias produtoras de beta-lactamase de espectro ampliado (ESBL) em uroculturas de transplantados renais: frequência e perfil de resistência. **RBAC**. Rio de Janeiro (RJ).v. 48. p. 129-131. Fevereiro 2016.

SANASA (Sociedade de Abastecimento de Água e Saneamento). Tratamento por ozônio em águas para abastecimento. Disponível em: <http://www.sanasa.com.br/conteudo/conteudo2.aspx?par_nrod=1414&flag=P-A> Acesso em: 14 de nov. 2018.

SEO, M.; *et al.* Relationship between Coliform Bacteria and Water Quality Factors at Weir Stations in the Nakdong River, South Korea. **Water**. Basileia (BA). V. 11. p. 1-16. 2019.

SOARES, J. A. S; *et al.* Impactos da urbanização desordenada na saúde pública: leptospirose e infraestrutura urbana. **Revista Eletrônica POLÊMICA**, Rio de Janeiro (RJ), v. 13, n. 1, p. 1106-1020, fev. 2014.

SOARES, L. V.; **Ozonização de esgoto sanitário: estudo da hidrodinâmica, transferência de massa e inativação de microrganismos indicadores**. 2007. Tese (Doutorado em engenharia hidráulica) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

Soller, J.A.; *et al.* Estimated human health risks from exposure to recreational waters impacted by human and non-human sources of faecal contamination. **Water Research**, Dübendorf (DB). v. 44. p. 4674–4691. Setembro 2010.

Souza, G.A.R; *et al.* A capacidade de autodepuração do ribeirão do abreu a partir do modelo matemático de streeter-phelpsno município de taguatinga –to: um estudo de caso. **Revista de Engenharia e Tecnologia**. Ponta Grossa (PG). V. 13. p. 136-144. Março 2021.

TAVARES, J. C. **Microbiologia e Farmacologia**. Rio de Janeiro: Revinter, 2002.

TORMIN, S.; *et al.* Análise do efeito bactericida do ozônio sobre bactérias multirresistentes. **Revista Arquivos Médicos**. São Paulo. v. 61, p 138-141, abril. 2016.

United States Environmental Protection Agency (EPA). Bacterial water quality standards for recreational waters (freshwater and marine waters). 2003.

United States Environmental Protection Agency (EPA). Municipal Wastewater Disinfection Design Manuals. 1986. Disponível em: <https://www.wbdg.org/FFC/EPA/EPACRIT/epa625_1_86_021.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2022.


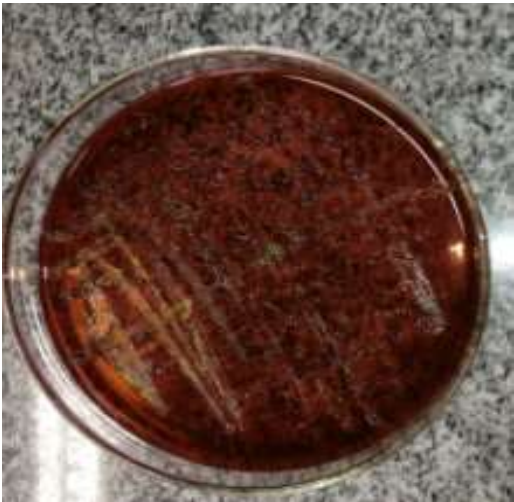
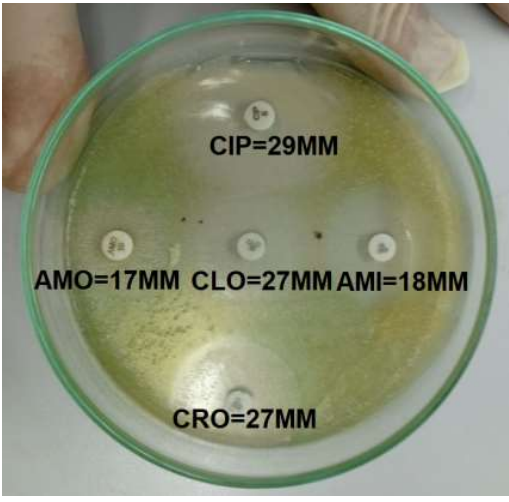
United States Environmental Protection Agency (EPA). Recreational Water Quality Criteria Report 820-F-12-058. 2012. Disponível em: <<https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-10/documents/rwqc2012.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2021.

WILLIAMS, J.D. Beta-lactamases and beta-lactamase inhibitors. **International Journal of Antimicrobial Agents**. United Kingdom (UK). v. 12. p 3-7, Agosto 2002.

ZHOU, P.; *et al.* New insight into the correlations between land use and water quality in a coastal watershed of China: Does point source pollution weaken it? **Science of the Total Environment, Girona**. v. 543, p. 591–600, fev. 2016.




ANEXO A – Caracterização de Amostras de Água da Bacia do Ribeirão dos Padilhas Quanto à Resistência aos Antibióticos

Figura 45 - Caracterização do Ponto P1, sito ribeirão dos Padilhas

Identificação do Ponto "P1"		
		
Detecção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	18 mm	Resistente
Amoxicilina	17 mm	Resistente
Ceftriaxona	27 mm	Resistente
Ciprofloxacina	29 mm	Resistente
Cloranfenicol	19 mm	Resistente




Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 46 - Caracterização do Ponto P2, sito ribeirão dos Padilhas

Identificação do Ponto "P2"		
		
Detecção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	17 mm	Resistente
Amoxicilina	17 mm	Resistente
Ceftriaxona	25 mm	Resistente
Ciprofloxacina	29 mm	Resistente
Cloranfenicol	18 mm	Resistente




Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 47 - Caracterização do Ponto P3, sito ribeirão dos Padilhas

Identificação do Ponto "P3"		
		
Deteção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	18 mm	Resistente
Amoxicilina	17 mm	Resistente
Ceftriaxona	23 mm	Resistente
Ciprofloxacina	27 mm	Resistente
Cloranfenicol	20 mm	Resistente


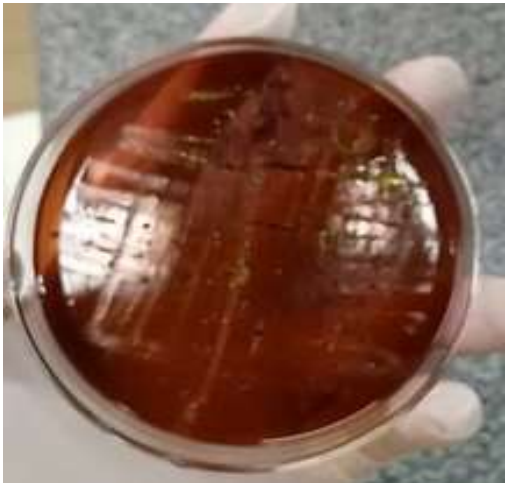
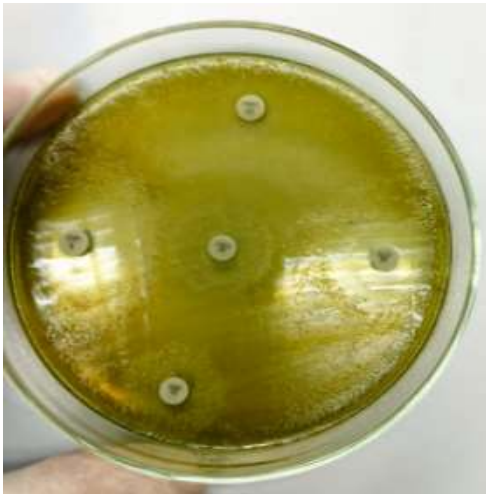
Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 48 - Caracterização do Ponto P4, sito ribeirão dos Padilhas

Identificação do Ponto "P4"		
		
Detecção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	17 mm	Resistente
Amoxicilina	18 mm	Resistente
Ceftriaxona	26 mm	Resistente
Ciprofloxacina	28 mm	Resistente
Cloranfenicol	20 mm	Resistente

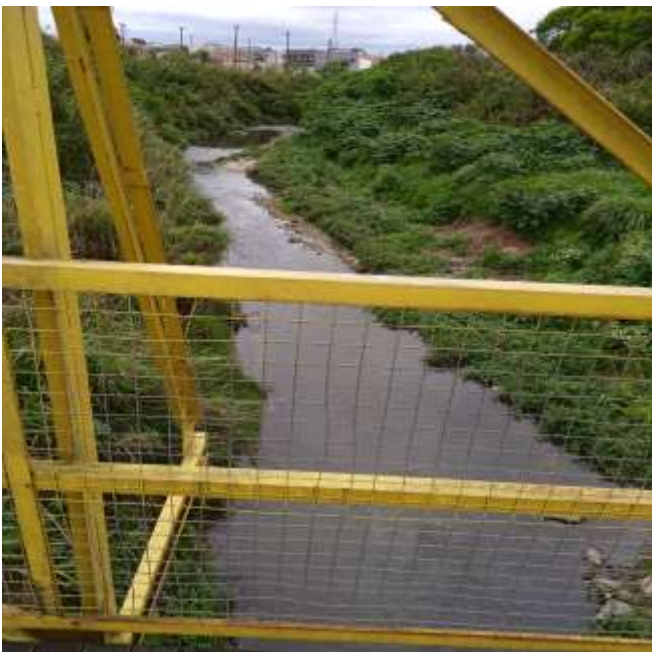

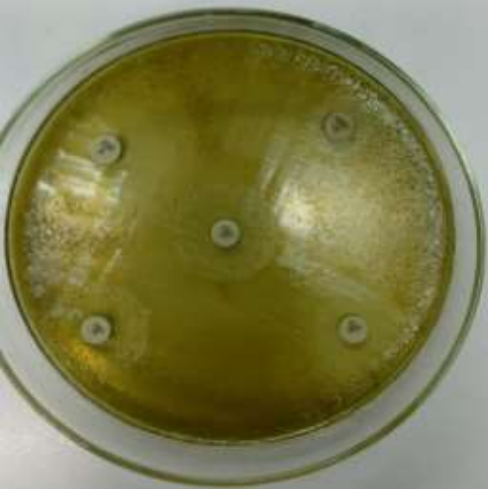
Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 49 - Caracterização do Ponto P5, sito ribeirão dos Padilhas

Identificação do Ponto "P5"		
		
Detecção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	18 mm	Resistente
Amoxicilina	18 mm	Resistente
Ceftriaxona	25 mm	Resistente
Ciprofloxacina	27 mm	Resistente
Cloranfenicol	20 mm	Resistente



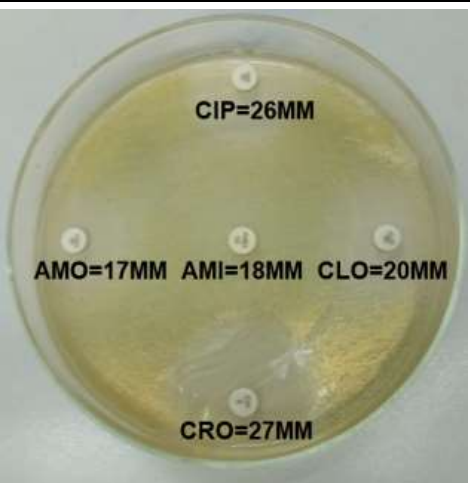
Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 50 - Caracterização do Ponto P6, sito ribeirão dos Padilhas

Identificação do Ponto "P6"		
		
Detecção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	16 mm	Resistente
Amoxicilina	17 mm	Resistente
Ceftriaxona	28 mm	Resistente
Ciprofloxacina	27 mm	Resistente
Cloranfenicol	20 mm	Resistente



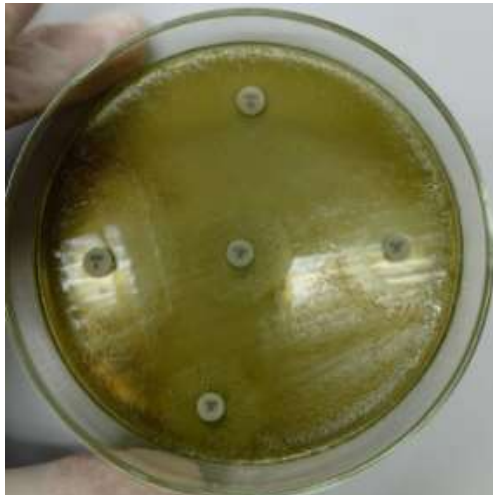
Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 51 - Caracterização do Ponto P1, sito rio Esmeralda

Identificação do Ponto "P1"		
		
Detecção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	18 mm	Resistente
Amoxicilina	17 mm	Resistente
Ceftriaxona	27 mm	Resistente
Ciprofloxacina	26 mm	Resistente
Cloranfenicol	20 mm	Resistente

Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 52 - Caracterização do Ponto P2, sito rio Esmeralda

Identificação do Ponto "P2"		
		
Detecção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	16 mm	Resistente
Amoxicilina	17 mm	Resistente
Ceftriaxona	32 mm	Resistência intermediária
Ciprofloxacina	32 mm	Resistência intermediária
Cloranfenicol	20 mm	Resistente




Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 53 - Caracterização do Ponto P3, sito rio Esmeralda

Identificação do Ponto "P3"		
		
Detecção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	16 mm	Resistente
Amoxicilina	17 mm	Resistente
Ceftriaxona	28 mm	Resistente
Ciprofloxacina	27 mm	Resistente
Cloranfenicol	20 mm	Resistente




Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 54 - Caracterização do Ponto P4, sito rio Esmeralda

Identificação do Ponto "P4"		
		
Detecção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	17 mm	Resistente
Amoxicilina	17 mm	Resistente
Ceftriaxona	29 mm	Resistente
Ciprofloxacina	29 mm	Resistente
Cloranfenicol	19 mm	Resistente




Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 55 - Caracterização do Ponto P5, sito rio Esmeralda

Identificação do Ponto "P5"		
		
Detecção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	17 mm	Resistente
Amoxicilina	17 mm	Resistente
Ceftriaxona	27 mm	Resistente
Ciprofloxacina	27 mm	Resistente
Cloranfenicol	20 mm	Resistente




Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 56 - Caracterização do Ponto P1, sito rio Pinheirinho

Identificação do Ponto "P1"		
		
Detecção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	18 mm	Resistente
Amoxicilina	17 mm	Resistente
Ceftriaxona	27 mm	Resistente
Ciprofloxacina	26 mm	Resistente
Cloranfenicol	20 mm	Resistente




Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 57 - Caracterização do Ponto P2, sito rio Pinheirinho

Identificação do Ponto "P2"		
		
Detecção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	21 mm	Resistência intermediária
Amoxicilina	17 mm	Resistente
Ceftriaxona	31 mm	Resistência intermediária
Ciprofloxacina	27 mm	Resistente
Cloranfenicol	24 mm	Resistência intermediária


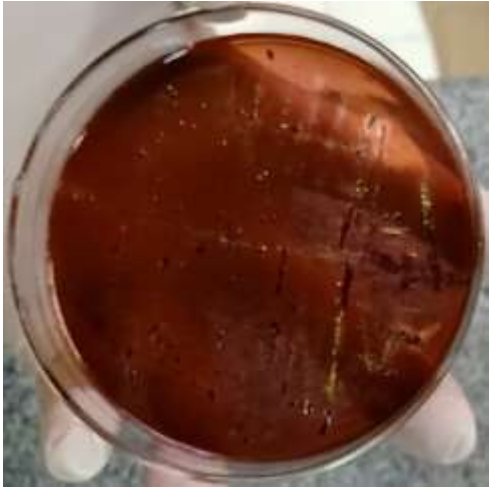

Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 58 - Caracterização do Ponto P1, sito arroio Cercado

Identificação do Ponto "P1"		
		
Detecção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	19 mm	Resistente
Amoxicilina	17 mm	Resistente
Ceftriaxona	27 mm	Resistente
Ciprofloxacina	22 mm	Resistente
Cloranfenicol	20 mm	Resistente



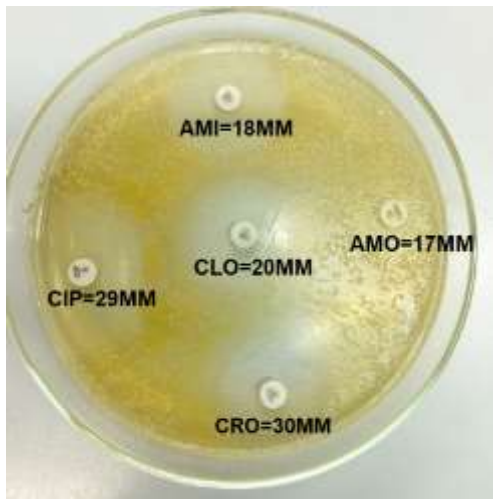
Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 59 - Caracterização do Ponto P2, sito arroio Cercado

Identificação do Ponto "P2"		
		
Detecção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	14 mm	Resistente
Amoxicilina	15 mm	Resistente
Ceftriaxona	30 mm	Resistentência intermediária
Ciprofloxacina	25 mm	Resistente
Cloranfenicol	19 mm	Resistente




Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 60 - Caracterização do Ponto P1, sito arroio Boa Vista

Identificação do Ponto "P1"		
		
Detecção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	18 mm	Resistente
Amoxicilina	17 mm	Resistente
Ceftriaxona	30 mm	Resistência intermediária
Ciprofloxacina	29 mm	Resistente
Cloranfenicol	20 mm	Resistente

Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 61 - Caracterização do Ponto P2, sito arroio Boa Vista

Identificação do Ponto "P2"		
		
Deteção de Cepas de <i>E. coli</i>		Antibiograma
		
Diâmetro (mm)		Caracterização
Amicacina	18 mm	Resistente
Amoxicilina	17 mm	Resistente
Ceftriaxona	30 mm	Resistente
Ciprofloxacina	29 mm	Resistente
Cloranfenicol	20 mm	Resistente

Fonte: Autoria própria, 2021.