

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**Lívia Vanessa Machado Costa**

**PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE ESTIRPES DE *Escherichia coli* ISOLADAS DE AMOSTRAS DE ÁGUA DESTINADA AO CONSUMO**

**Juiz de Fora**

**2017**

**Lívia Vanessa Machado Costa**

**PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE ESTIRPES DE *Escherichia coli* ISOLADAS DE AMOSTRAS DE ÁGUA DESTINADA AO CONSUMO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Humberto Moreira Húngaro

**Juiz de Fora**

**2017**

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Costa, Lívia Vanessa Machado.

Perfil de resistência a antimicrobianos de estirpes de *Escherichia coli* isoladas de amostras de água destinada ao consumo / Lívia Vanessa Machado Costa. -- 2017.

31 p.

Orientador: Humberto Moreira Húngaro

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica, 2017.

1. Água. 2. Bactérias coliformes. 3. *Escherichia coli*. 4. Antimicrobianos. 5. Perfil de resistência. I. Húngaro, Humberto Moreira, orient. II. Título.

**Lívia Vanessa Machado Costa**

**PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE ESTIRPES DE *Escherichia coli* ISOLADAS DE AMOSTRAS DE ÁGUA DESTINADA AO CONSUMO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof Dr. Humberto Moreira Húngaro - Orientador  
Universidade Federal de Juiz de Fora

---

Prof Dr. Jonathan de Magalhães Andrade  
Universidade Federal de Juiz de Fora

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Brenda Neres Targino  
Universidade Federal de Ouro Preto

---

Msc. Louise Cristine Cândido da Silva  
Universidade Federal de Juiz de Fora

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me proporcionado chegar até aqui.

Ao meu orientador, Humberto Húngaro, por toda orientação dada durante esse período, por todas as oportunidades, pelo aprendizado e, principalmente, pela eterna paciência! Obrigada pelo tempo dedicado!

Aos meus pais, por todo apoio incondicional e coragem que sempre me deram nos momentos mais difíceis no decorrer da faculdade.

À minha família que sempre me apoiou e vibrou com minhas conquistas.

Ao Artur, pelo amor, paciência, incentivo, carinho e por estar sempre presente.

A empresa Nippon Chemical que doou os sanitizantes.

Aos amigos do Laboratório de Análise de Alimentos e Águas que diretamente e indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, pela presença e colaboração.

À todas as pessoas que me apoiaram no decorrer da faculdade, o meu muito obrigada!

## RESUMO

O monitoramento de micro-organismos do grupo coliformes é a principal forma de assegurar a qualidade microbiológica da água. A presença de bactérias do grupo coliformes inviabiliza a água para o consumo humano. Geralmente, estas bactérias não são patogênicas, mas algumas estirpes estão associadas a doenças de veiculação hídrica. Além disso, estes micro-organismos podem desenvolver resistência a antimicrobianos, incluindo sanitizantes e antibióticos. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar o perfil de resistência a antimicrobianos de estirpes de *E. coli* isoladas de amostras de água destinada ao consumo. Durante o ano de 2015, foram coletadas 220 amostras de água e analisadas quanto à contagem de bactérias heterotróficas, presença de coliformes totais e *E. coli*. As estirpes de *E. coli* isoladas dessas amostras de água foram avaliadas quanto ao perfil de resistência a sanitizantes e antibióticos por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) por macrodiluição em meio líquido e pelo método de difusão em disco em ágar, respectivamente. Observou-se que 46 (20,9%) amostras de água analisadas apresentaram bactérias do grupo coliformes, das quais 20 (9,0%) estavam contaminadas por *E. coli*. Entre as 20 estirpes de *E. coli* isoladas, 11 (55%) apresentaram CIM de 2,11 mg/L, 4 (20%) com CIM de 4,22 mg/L, 3 (15%) com CIM de 1,05 mg/L e 2 (10%) com CIM de 8,44 mg/L para o hipoclorito de sódio. No caso da biguanida polimérica, 13 (65%) estirpes apresentaram CIM de 4,22 mg/L e 7 (35%) com CIM de 2,11 mg/L. Em relação ao perfil de resistência aos antibióticos, todas as estirpes isoladas foram resistentes a pelo menos um dos 11 antibióticos testados. As maiores taxas de resistência foram observadas para amoxicilina (100%) e ampicilina (80%). Algumas estirpes isoladas também foram resistentes a cefalexina (15%), cloranfenicol (5%), tetraciclina (5%) e cefotaxima (5%). Apesar do baixo número de amostras de água contaminadas por *E. coli*, a presença de estirpes multirresistentes a antibióticos e a grande variação de CIM observada para os sanitizantes testados comprometem a utilização desta água devido à possibilidade de disseminação de genes de resistência para diferentes ambientes.

Palavras-chaves: Água. Bactérias coliformes. *Escherichia coli*. Antimicrobianos. Perfil de resistência.

## ABSTRACT

The monitoring of microorganisms of the coliforms group is the main way of assuring the microbiological quality of the water. The presence of coliform bacteria makes water not suitable for human consumption. Generally, these bacteria are not pathogenic, but some strains are associated with waterborne diseases. In addition, these microorganisms may develop resistance to antimicrobials, including sanitizers and antibiotics. Thus, the objective of this work was to evaluate the antimicrobial resistance profile of *E. coli* strains isolated from samples of water intended for consumption. During the year 2015, 220 water samples were collected and analyzed regarding the counts of heterotrophic bacteria, the presence of total coliforms and *E. coli*. The *E. coli* strains isolated from these water samples were evaluated in relation to resistance profile to sanitizers and antibiotics throughout the determination of Minimal Inhibitory Concentration (MIC) by macrodilution in liquid culture medium and by disk-diffusion method in agar, respectively. It was observed that 46 (20.9%) water samples contained coliform bacteria, which 20 (9.0%) were contaminated by *E. coli*. Among the 20 *E. coli* strains isolated, 11 (55%) revealed MIC of 2.11 mg/L, 4 (20%) with MIC of 4.22 mg/L, 3 (15%) with MIC of 1.05 mg/L and 2 (10%) with MIC of 8.44 mg/L for sodium hypochlorite. In case of polymeric biguanide, 13 (65%) strains revealed a MIC of 4.22 mg/L and 7 (35%) with a MIC of 2.11 mg/L. Regarding the antibiotic resistance profile, all strains isolated were resistant to at least one of the 11 antibiotics tested. The highest resistance rates were observed for amoxicillin (100%) and ampicillin (80%). Some isolated strains were also resistant to cephalexin (15%), chloramphenicol (5%), tetracycline (5%) and cefotaxime (5%). Despite the low number of samples of water contaminated with *E. coli*, the presence of strains multiresistant to antibiotics and the large MIC variation observed for the sanitizers tested compromise the use of this water due to the possibility of dissemination of resistance genes to different environments.

Keywords: Water. Coliform bacteria. *Escherichia coli*. Antimicrobials. Resistance profile.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Contagem de bactérias heterotróficas e a enumeração de coliformes totais e <i>E. coli</i> em amostras de águas destinadas ao consumo humano recebidas no LAAA no período de 2015 que apresentaram contaminação por <i>E. coli</i> .....	21
Tabela 2 - Concentração Inibitória Mínima dos isolados de <i>E. coli</i> aos sanitizantes hipoclorito de sódio e biguanida polimérica.....	24
Tabela 3 - Perfil de resistência a antimicrobianos de estirpes de <i>E. coli</i> isoladas de amostras de água destinada ao consumo humano recebidas no LAAA no período de 2015.....	25

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	9
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	11
2.1 ÁGUA: IMPORTÂNCIA E PADRÃO DE QUALIDADE .....	11
2.2 MICRO-ORGANISMOS INDICADORES .....	11
2.2.1 Coliformes totais e <i>Escherichia Coli</i> .....	12
2.3 ANTIMICROBIANOS .....	13
2.3.1 Resistência a sanitizantes .....	13
2.3.2 Resistência a antibióticos .....	14
3 OBJETIVOS .....	16
3.1 Geral .....	16
3.2 Específicos.....	16
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	17
4.1 COLETA DAS AMOSTRAS .....	17
4.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	17
4.3 ISOLAMENTO DE <i>Escherichia coli</i> .....	18
4.4 AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) DOS ISOLADOS DE <i>Escherichia coli</i> AOS SANITIZANTES.....	18
4.4.1 Preparo dos sanitizantes .....	18
4.4.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima dos sanitizantes .....	19
4.5 TESTE DE SENSIBILIDADE DOS ISOLADOS DE <i>Escherichia coli</i> AOS ANTIBIÓTICOS.....	19
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
5.1 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS E ISOLAMENTO DE <i>Escherichia coli</i> .....	21
5.2 AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DOS ISOLADOS DE <i>Escherichia coli</i> AOS SANITIZANTES.....	23
5.3 PERFIL DE RESISTÊNCIA DOS ISOLADOS DE <i>Escherichia coli</i> AOS ANTIBIÓTICOS.....	25
6 CONCLUSÃO .....	27
REFERÊNCIAS.....	28

## 1 INTRODUÇÃO

A água é importante sobre vários aspectos, como ambientais, econômicos, políticos e sociais, incluindo seus múltiplos usos como na produção agrícola, abastecimento público, produção de hidroeletricidade, recreação, turismo, pesca, mineração, transporte e navegação (TUNDISI, 2006).

A água destinada ao consumo humano deve atender aos padrões estabelecidos pela Portaria nº 2914 de 2011 (BRASIL, 2011), a fim de assegurar a saúde de seus consumidores. A água pode veicular vários agentes patogênicos, incluindo bactérias (*Vibrio cholerae*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *Escherichia coli*); vírus (Hepatite A e o Rotavírus); protozoários (*Giardia lamblia* e *Entamoeba histolytica*); helmintos (Nematoides e *Schistosoma haematobium*); e algas (*Anabaena flosaquae* e *Microcystis aeruginosa*) (YAMAGUCHI et al., 2013). O risco sanitário mais comum associado à água destinada ao consumo humano é a sua contaminação por micro-organismos patogênicos (GORCHEV; OZOLINS, 2011).

O monitoramento de micro-organismos do grupo coliformes é a principal forma de assegurar a qualidade microbiológica da água. Além disso, um teor mínimo de cloro residual livre na água deve estar presente para assegurar sua qualidade microbiológica. A presença deste grupo de micro-organismos e ausência de cloro residual livre inviabilizam a utilização da água para o consumo humano (SOARES et al., 2016).

A espécie *E. coli* compreende micro-organismos comuns ao trato gastrointestinal de seres humanos e animais de sangue quente. Geralmente, estas bactérias não são patogênicas, mas algumas estirpes estão associadas a doenças de origem alimentar e veiculação hídrica. Além disso, alguns estudos têm demonstrado que estes micro-organismos podem desenvolver resistência a antimicrobianos, incluindo sanitizantes e antibióticos (CERF; CARPENTIER; SANDERS, 2010).

Os sanitizantes são aplicados para tratar superfícies, instrumentos, água, etc., incluindo áreas da medicina, medicina veterinária, agricultura, indústria de alimentos e área doméstica (REYBROUCK, 1998). O desenvolvimento de tolerância a estes agentes resulta em uma ineficiência do processo de higienização e pode comprometer a qualidade de produtos e processos. Do mesmo modo, a resistência a antibióticos é um problema frequente em saúde pública, que tem provocado uma crescente preocupação devido ao desenvolvimento e disseminação de múltiplas

resistências a estes agentes (MARINHO, 2013). As infecções causadas por micro-organismos resistentes tendem a responder cada vez menos a terapêutica, resultando em tratamentos mais longos, com elevados custos (CASTANHEIRA, 2013).

Os micro-organismos podem tornar-se resistentes aos antimicrobianos a partir de diferentes mecanismos, podendo atuar sobre a síntese da parede celular, na inibição da síntese protéica, sobre a estrutura e função da membrana celular, na interferência na síntese do ácido nucléicos e na atividade antimetabólica ou competitividade antagônica (ROSSI, ANDREAZZI, 2005). As fontes de micro-organismos resistentes são diversas, incluindo o uso indiscriminado de antimicrobianos em hospitais, clínica veterinária e produção animal. Os micro-organismos resistentes circulam entre diferentes habitats, incluindo a água.

Portanto, investigar a resistência destes micro-organismos isolados de água é importante devido ao desenvolvimento de bactérias multirresistentes, patogênicas ou comensais de seres humanos e animais, e a sua disseminação no meio ambiente. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil de resistência a antimicrobianos de estirpes de *E. coli*, isoladas de amostras de água destinadas ao consumo humano recebidas no Laboratório de Análise de Água e Alimentos (LAAA) durante 2015.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ÁGUA: IMPORTÂNCIA E PADRÃO DE QUALIDADE

A água é essencial para a manutenção da vida. Seja no que se refere à saúde humana ou ao funcionamento dos ecossistemas, a qual deve estar disponível em quantidade e qualidade satisfatórias. Contudo, o uso irracional da água e a falta de cuidado com os dejetos gerados trazem uma série de problemas que comprometem a qualidade e a durabilidade dos recursos hídricos destinados para produção agrícola, abastecimento público, produção de hidroeleticidade, recreação, turismo, pesca, mineração, transporte e navegação (TUNDISI, 2006).

A água para consumo humano deve atender as características de qualidade de acordo com os valores de parâmetros analíticos estabelecidos pela Portaria nº 2914, do Ministério da Saúde, de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011). Essa legislação determina que a água potável deve estar em conformidade com os padrões microbiológicos, físicos, químicos e sensoriais. A análise microbiológica da água é uma importante ferramenta para determinação da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. A pesquisa de coliformes totais e *E. coli* deve ser realizada periodicamente nos diversos pontos dos sistemas de captação, tratamento, armazenamento e distribuição de água. Além disso, deve ser realizado a contagem de bactérias heterotróficas e o monitoramento de cistos de *Giardia* spp. e oocisto de *Cryptosporidium* spp. (BRASIL, 2011).

Doenças provocadas por micro-organismos patogênicos presentes na água constituem um problema comum de saúde pública no Brasil, onde crianças, pessoas debilitadas e idosos, especialmente aqueles que vivem em condições insalubres, são os mais afetados pela baixa qualidade da água e das precárias condições de saneamento básico (GORCHEV; OZOLINS, 2011). Portanto, o acesso a água potável de qualidade e quantidade adequada é fator essencial para a prevenção de riscos à saúde e melhoria da qualidade de vida da população.

### 2.2 MICRO-ORGANISMOS INDICADORES

Os micro-organismos indicadores é um tipo de micro-organismo cuja presença na água é uma evidência de que ela está contaminada com material fecal

de seres humanos e animais de sangue quente. Para avaliar a qualidade microbiológica da água para consumo humano verifica-se a presença de bactérias do grupo coliformes, que atuam como indicadores de contaminação fecal. O indicador higiênico-sanitário de origem fecal mais importante é *E. coli*, micro-organismo designado como termotolerante, indicando que quando presente na água, a mesma está contaminada por fezes (YAMAGUCHI et al., 2013).

Os critérios para a escolha do grupo coliformes, especificamente *E. coli*, como indicador de contaminação fecal na água deve-se aos seguintes fatores: são encontrados nas fezes de seres humanos e animais de sangue quente; são facilmente detectáveis e quantificáveis por técnicas simples e economicamente viáveis; sua concentração na água contaminada possui uma relação direta com o grau de contaminação fecal; tem maior tempo de sobrevivência na água que as bactérias patogênicas intestinais; são mais resistentes aos agentes desinfetantes do que as bactérias patogênicas (BRASIL, 2013).

### **2.2.1 Coliformes totais e *Escherichia Coli***

O grupo dos coliformes totais é um subgrupo da família *Enterobacteriaceae* caracterizado como bacilos Gram-negativos, aeróbicos ou anaeróbicos facultativos, não esporulado capazes de fermentar a lactose com produção de gás, ácido e aldeído em um período de 24 a 48 horas a 35 °C. Os principais membros do grupo que podem ser veiculados pela água pertencem aos gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter* (BRASIL, 2013).

*E. coli* é o principal representante dos coliformes termotolerantes, que é um subgrupo dos coliformes totais, caracterizado por fermentar a lactose e manitol, com produção de ácido e gás em 24 horas a 45 °C (BRASIL, 2013). Apesar de *E. coli* ser um micro-organismo comum no trato gastrointestinal e não representar perigo para o seu hospedeiro, algumas estirpes podem ser patogênicas, sendo responsáveis por diarreias em crianças, septicemia, meningite neonatal e infecções do trato urinário. De acordo com os seus fatores de virulência elas podem ser classificadas em *E. coli* enteropatogênicas (EPEC), *E. coli* enterotoxigênicas (ETEC), *E. coli* enteroinvasivas (EIEC), *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC), *E. coli* enteroagregativas (EAEC) e *E. coli* de adesão difusa (DAEC) (GORCHEV; OZOLINS, 2011).

## 2.3 ANTIMICROBIANOS

Os antimicrobianos são substâncias químicas produzidas por microorganismos ou de forma sintética, com capacidade bacteriostática ou bactericida. Os antimicrobianos apresentam diferentes mecanismos de ação podendo atuar sobre a síntese da parede celular, na inibição da síntese protéica, sobre a estrutura e função da membrana celular, na interferência na síntese do ácido nucléicos e na atividade antimetabólica ou competitividade antagônica (ROSSI, ANDREAZZI, 2005).

O monitoramento de bactérias resistentes, principalmente de estirpes indicadoras de resistência, é considerado uma medida de combate ao aumento da resistência antimicrobiana. O estudo da resistência antimicrobiana em *E. coli* permite obter, ao longo do tempo, informações antecipadas sobre a sua emergência em bactérias potencialmente patogênicas (MARINHO, 2013). Embora essa bactéria, geralmente, não cause doenças, pode atuar como reservatório de genes de resistências a antimicrobianos, que podem ser transmitidos a outras bactérias patogênicas (SIQUEIRA, 2015).

### 2.3.1 Resistência a sanitizantes

Os sanitizantes são substâncias amplamente utilizadas na higienização e desinfecção de alimentos, pisos, utensílios em áreas industriais e residenciais e no controle de patógenos veiculados pela água e alimentos (RIBEIRO; CANUTO; VESCHI, 2008). O hipoclorito de sódio é uma das fontes de cloro mais utilizadas para desinfecção de superfícies, alimentos e água (RIBEIRO et al., 2008). O hipoclorito de sódio reage com prótons  $H^+$  formando o ácido hipocloroso que é um agente oxidante com efeito antibacteriano pela oxidação irreversível dos grupos sulfidril de enzimas essenciais, interrompendo as funções metabólicas da célula bacteriana (MENEZES et al., 2008). A biguanida polimérica é utilizada como desinfetante de uso geral para pisos, paredes, utensílios e equipamentos em geral. A biguanida polimérica em contato com a membrana citoplasmática leva a perda de substâncias de baixo peso molecular, tais como íons de potássio e cálcio e também causa a inibição de enzimas como a ATPase, que é uma das proteínas integrais da membrana. A possível ruptura subsequente da membrana citoplasmática pode induzir a perda de substâncias

macromoleculares, a precipitação de conteúdo citoplasmático e consequente morte celular (SANTOS; FERNANDES, 2010).

Os sanitizantes são, em geral, usados em concentrações muito elevadas em relação as suas concentrações inibitórias mínimas, sendo raramente relatado desenvolvimento de estirpes com resistência quando comparados com os antibióticos, que são utilizados em concentrações próximas da concentração inibitória mínima (KASTBJERG; GRAM, 2012). O desenvolvimento de micro-organismos resistentes aos sanitizantes, seja através de adaptação fenotípica, alteração genética ou aquisição genética, aumenta a probabilidade dos sanitizantes perderem a sua propriedade bactericida, causando graves problemas nas áreas industriais, no preparo de alimento e na saúde humana (CHAPMAN, 2003).

### **2.3.2 Resistência a antibióticos**

O uso indiscriminado de antibióticos na medicina humana e veterinária, pecuária, agricultura e produção de alimento contribui para o surgimento e propagação de bactérias resistentes a antibióticos. O desenvolvimento e a disseminação no meio ambiente de bactérias de múltiplas resistências, patogênicas ou comensais de seres humanos e animais representam um problema de saúde pública (MARINHO, 2013).

A resistência em bactérias é caracterizada pela resistência a uma ou mais classes de antibióticos. As bactérias podem apresentar mecanismos de defesa contra a ação dos antimicrobianos que podem ser intrínsecos ou adquiridos (NHAMBE, 2014). O mecanismo de resistência intrínseco ocorre quando algum micro-organismo possui gene que confere resistência a determinado antibiótico, o qual pode ser inativo e ativo pela exposição a uma droga específica ou pode ser resistente devido à falta de um sítio de ligação para um dado antibiótico (OLIVEIRA; SILVA, 2008). O mecanismo de resistência adquirido resulta da aquisição de material genético com resultado de uma transferência horizontal de genes de resistência, por mecanismo de conjugação, transdução, transformação e transposição (CASTANHEIRA, 2013).

A resistência bacteriana torna-se um mecanismo adaptativo para a preservação da espécie, onde o uso contínuo de antibióticos tem contribuído de forma determinante para o aumento da resistência de bactérias geneticamente aptas para adquirir estes mecanismos de resistência (NHAMBE, 2014). Os mecanismos de

resistência bacteriana dependem de vários fatores que podem ser inter-relacionados ou não, e os mais comuns são: inativação enzimática; alteração da permeabilidade da membrana; efluxo ativo de antibióticos; alteração do sítio de ligação do antibiótico (ROSSI, ANDREAZZI, 2005).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Geral

Avaliar o perfil de resistência a antimicrobianos de estirpes de *Escherichia coli* isoladas de amostras de água destinadas ao consumo humano recebidas no Laboratório de Análise de Alimentos e Águas (LAAA) no ano de 2015.

#### 3.2 Específicos

- Avaliar a qualidade microbiológica de amostras de água recebidas no LAAA no ano de 2015;
- Isolar estirpes de *E. coli* das amostras de água;
- Avaliar a Concentração Inibitória Mínima dos isolados de *E. coli* aos sanitizantes hipoclorito de sódio e biguanida polimérica;
- Avaliar a resistência dos isolados de *E. coli* aos antibióticos imipenem, amoxicilina, cloranfenicol, tetraciclina, gentamicina, ciprofloxacina, ampicilina, cefalexina, cefotaxima, cefepime e ceftaxima.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 COLETA DAS AMOSTRAS

Foram analisadas durante o ano de 2015, 220 amostras de água destinadas ao consumo humano proveniente de nascente, poço e abastecimento público. As amostras foram coletadas em frascos esterilizados adicionados de tiosulfato de sódio (3%) e enviadas ao Laboratório de Análise de Alimentos e Água (LAAA) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora sob condições de refrigeração de 0 a 8 °C.

### 4.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As amostras foram avaliadas quanto à contagem de bactérias heterotróficas e a enumeração de coliformes totais e *Escherichia coli*.

Brevemente, as amostras foram homogeneizadas e diluídas (direta,  $10^{-1}$  e  $10^{-2}$ ), utilizando-se água peptonada 0,1% (p/v) como diluente. Posteriormente, para a contagem de bactérias heterotróficas, alíquotas de 1 mL das diluições foram plaqueadas em placas de Petri contendo Ágar Padrão para Contagem (PCA) por meio de metodologia em profundidade (*pour plate*). As placas foram incubadas a 35 °C por 48 horas. Após a incubação, foram selecionadas placas com número de colônias entre 25 e 250 para a contagem. Os ensaios foram realizados em duplicata.

Para enumeração de coliformes totais e *Escherichia coli* foi utilizada a técnica de Número Mais Provável (RICE et al, 2012). Alíquotas de 10 mL das amostras foram inoculadas em 10 tubos contendo Lauril Sulfato Triptose (LST) em concentração dupla com tubos de Durham (teste presuntivo). Em seguida, os tubos inoculados foram homogeneizados e incubados a 35 °C por 48 horas. Os tubos que apresentaram turvação do meio e presença de gás no tubo de Durham foram considerados positivos. Uma alçada dos tubos positivos no teste presuntivo foi transferida para tubos contendo Caldo Verde Brilhante Bile (VBB) com tubos de Durham e incubados a 35 °C por 48 horas para confirmação de coliformes totais. Os tubos positivos no teste confirmativo foram repicados em Caldo *Escherichia coli* MUG (EC MUG) para confirmação de *E. coli*. Os tubos inoculados foram incubados a 35 °C por 24 horas e avaliados quanto à produção de fluorescência, sob luz ultravioleta (UV) 365 nm. Os resultados foram

expressos em NMP/100 mL utilizando-se a tabela de NMP com intervalo de confiança de 95% de probabilidade, que considera o número de tubos positivos na inoculação de 10 alíquotas de 10 mL da amostra por tubo (Blodgett, 2003).

#### 4.3 ISOLAMENTO DE *Escherichia coli*

Estirpes de *E. coli* das amostras de água positivas em caldo EC MUG foram submetidas ao isolamento em ágar Eosina Azul de Metileno (EMB). Uma alçada de um dos tubos positivos de cada amostra foi estriada em placa de Petri contendo EMB e incubada a 35 °C por 24 horas. Após incubação, colônias típicas, nucleadas com centro preto e brilho verde metálico, foram transferidas para um novo tubo contendo caldo EC MUG e incubado a 35 °C por 24 horas a fim de confirmar o isolamento de estirpes de *E. coli* por meio de fluorescência sob luz ultravioleta a 365 nm.

As estirpes de *E. coli* isoladas foram armazenadas em caldo Triptona de Soja (TSB) contendo 30% (p/v) de glicerol a -20 °C para posterior utilização. Antes dos ensaios microbiológicos, os micro-organismos congelados foram cultivados duas vezes em caldo TSB a 35 °C por 24 horas para ativação das células e mantidos em geladeira a 4 °C em tubos inclinados contendo TSA para posterior utilização.

#### 4.4 AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) DOS ISOLADOS DE *Escherichia coli* AOS SANITIZANTES

##### 4.4.1 Preparo dos sanitizantes

Os sanitizantes, hipoclorito de sódio e biguanida polimérica, foram obtidos na empresa Nippon Chemical e diluídos, com água purificada estéril, para uso de acordo com o ensaio na concentração desejada.

A concentração de cloro total e livre foi determinada pelo método N,N-dietil-p-fenilenodiamina (DPD), utilizando o aparelho pocket colorimeter II, Hach. A solução de biguanida polimérica foi determinada, segundo Mesquita *et al.* (1997), por espectrofotometria a 237 nm de absorvância. Sendo a leitura da solução convertida em porcentagem de biguanida polimérica, segundo a relação abaixo:

$$\% \text{biguanida polimérica} = A \times 8,758/V$$

Onde:

A= Absorbância da solução

V= volume da biguanida polimérica

8,758= fator de correção

#### 4.4.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima dos sanitizantes

As células de *E. coli* foram cultivadas *overnight* (15 horas) em caldo TSB a 35 °C, centrifugadas a 5.000 g por 5 min e ressuspendidas em solução fisiológica de NaCl 0.85% (p/v). O inóculo foi padronizado para concentração celular de 10<sup>8</sup> UFC/mL por meio de determinação da Absorbância a 600 nm.

Os sanitizantes foram diluídos para concentrações recomendadas por meio de diluições seriadas 1:2 em água destilada esterilizada. O sanitizante hipoclorito de sódio foi diluído nas concentrações de 0,13 a 270,0 mg/L e a biguanida polimérica nas concentrações de 0,033 a 67,5 mg/L, totalizando 12 concentrações avaliadas para cada sanitizante. Alíquotas de 0,1 mL das suspensões de células padronizadas foram adicionadas em 1,9 mL de cada concentração dos sanitizantes avaliada, durante 20 min de tempo de contato e, imediatamente inativadas. Solução de hipoclorito de sódio foi inativada com solução de 0,1M de tiosulfato de sódio e a solução de biguanida polimérica com Tween 80. Uma alíquota de 0,3 mL de cada suspensão bacteriana com sanitizante inativados foi adicionada a 1,7 mL de Caldo TSB e incubado a 35 °C por 24 horas. Em adição, uma alíquota de 0,1 mL dos tubos inoculados que não apresentaram crescimento visível foi plaqueada pelo método de plaqueamento em superfície (*spread plate*) em placas de Petri contendo TSA e incubadas a 35 °C por 24 horas. A concentração inibitória mínima foi determinada como a menor concentração de sanitizante que apresentou inibição de crescimento. Os ensaios foram realizados em triplicata.

#### 4.5 TESTE DE SENSIBILIDADE DOS ISOLADOS DE *Escherichia coli* AOS ANTIBIÓTICOS

As estirpes de *E. coli* isoladas foram analisadas quanto a resistência a antibióticos utilizando o método de difusão em disco (CLSI, 2012). A suspensão bacteriana foi preparada em solução fisiológica de NaCl 0.85% (p/v) a partir de colônias cultivadas em Ágar TSA a 35 °C por 24 horas e ajustada para a absorbância

de 0,1 a 600 nm, equivalente a uma concentração celular de  $10^8$  UFC/mL. Em seguida, com swab de algodão estéril, a suspensão foi semeada em placas de Petri contendo Ágar Mueller-Hinton (MH). Após absorção do inoculo no meio por alguns minutos, a temperatura ambiente, os discos de antibiótico foram dispostos sobre a superfície do Ágar MH. As placas foram incubadas a 35 °C por 24 horas, em posição invertida. Foram utilizados discos (Cecon) impregnados com os seguintes antimicrobianos: ampicilina (10 mcg); amoxicilina (10 mcg); cefalexina (30 mcg); cefotaxima (30 mcg); ceftioxina (30 mcg); cefepime (30 mcg); imipenem (10 mcg); ciprofloxacina (5 mcg); gentamicina (10 mcg); tetraciclina (30 mcg); cloranfenicol (30 mcg). O resultado foi interpretado de acordo com o padrão de inibição ao redor de cada disco utilizando os critérios estabelecidos pelo Manual Clinical and Laboratory Standards Institute para Enterobactérias (CLSI, 2016). As estirpes que apresentaram resistência intermediária aos antibióticos foram consideradas como resistentes.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS E ISOLAMENTO DE *Escherichia coli*

Das 220 amostras de água recebidas no LAAA em 2015, 46 (20,9%) não estavam em conformidade com a Portaria nº 2914/2011, devido a presença de bactérias do grupo coliformes. Destas amostras reprovadas, 20 (9,0%) apresentaram contaminação por *E. coli*, com carga microbiana variável entre as amostras de água avaliadas (Tabela 1).

Tabela 1 - Contagem de bactérias heterotróficas e a enumeração de coliformes totais e *E. coli* em amostras de águas destinadas ao consumo humano recebidas no LAAA no período de 2015 que apresentaram contaminação por *E. coli*.

Amostra	CBH (UFC/mL)	Coliformes Totais (NMP/100mL)	<i>E. coli</i> (NMP/100mL)	Classificação	
				Tratamento	Origem
A 1	5,4 x 10 <sup>1</sup>	23	1,1	NT	AN
A 2	<b>9,4 x 10<sup>3</sup></b>	>23	2,2	T	AA
A 3	1,3 x 10 <sup>2</sup>	12	1,1	NT	AP
A 4	7,5 x 10 <sup>1</sup>	9,2	3,6	NT	AP
A 5	5,0 x 10 <sup>2</sup>	>23	3,6	NT	AN
A 6	<b>2,2 x 10<sup>3</sup></b>	>23	2,2	NT	AN
A 7	4,4 x 10 <sup>2</sup>	>23	16	NT	AP
A 8	<b>1,45 x 10<sup>3</sup></b>	16	1,1	NT	AP
A 9	<b>5,6 x 10<sup>2</sup></b>	>23	6,9	NT	AP
A 10	<b>9,1 x 10<sup>2</sup></b>	>23	>23	NT	AN
A 11	<b>2,12 x 10<sup>3</sup></b>	>23	>23	NT	AN
A 12	<b>4,35 x 10<sup>3</sup></b>	>23	9,2	NT	AN
A 13	<b>4,3 x 10<sup>4</sup></b>	>23	6,9	NT	AP
A 14	<b>5,1 x 10<sup>3</sup></b>	>23	2,2	NT	AP
A 15	<b>4,0 x 10<sup>3</sup></b>	>23	>23	NT	AP
A 16	<b>1,4 x 10<sup>4</sup></b>	23	1,1	NT	AP
A 17	<b>6,6 x 10<sup>3</sup></b>	>23	>23	T	AA
A 18	<b>3,8 x 10<sup>3</sup></b>	6,9	1,1	T	AP
A 19	<b>7,6 x 10<sup>3</sup></b>	>23	5,1	NT	AP
A 20	2,1 x 10 <sup>1</sup>	2,2	1,1	NT	AP

Água tratada (T); Água não tratada (NT); água de nascente (AN); água de poço (AP); água de abastecimento público (AA). Resultados em negrito correspondem a amostras com contagem de bactérias heterotróficas (CBH) acima de 500 UFC/mL.

Fonte: Elaborada pela autora.

O grupo coliformes, especificamente a espécie *E. coli* é um importante indicador de contaminação de origem fecal em amostras de água destinadas ao consumo humano (YAMAGUCHI et al., 2013). Observou-se no presente trabalho que 85% das amostras que apresentaram *E. coli* foram de água não tratada provenientes de nascentes e poços, o que evidencia a necessidade de cloração para garantir a segurança microbiológica da água destinada ao consumo humano. A Portaria nº 2914/2011 recomenda que a concentração de cloro residual livre seja de 0,2 a 2 mg/L para atender a esta finalidade. Neste estudo, foram observadas três amostras de água tratada contaminadas por *E. coli*, das quais duas não apresentavam cloro residual livre e em uma a concentração foi de 0,15 mg/L.

Estudos realizados com águas de nascente e poços também evidenciaram a presença de *E. coli*, o que aumenta o risco à saúde dos consumidores deste tipo de água sem tratamento. Em estudo desenvolvido com água de nascente da região do sul do Rio Grande do Sul, Colvara et al. (2009) observaram que 70% das amostras estavam contaminadas por *E. coli*. Já em estudo realizado por Daneluz et al. (2015), a presença desta bactéria foi constatada em 84,4% das amostras de água de nascente e 57,8% das amostras de água de poço de propriedades rurais da região sudoeste do Paraná. A presença de *E. coli* na água não tratada é bastante variável e pode ocorrer em razão da deficiência na proteção dos poços e nascentes, incluindo a falta de mata ciliar ou vegetação protetora, isolamento adequado da fonte por meios de cercas para evitar que os animais tenham acesso a esses mananciais. Além disso, a chuva pode contribuir para a contaminação dos mananciais, pois favorece o carreamento de materiais orgânicos para o interior desses (FALAVINHA; DEGENHARDT, 2014). Em estudos realizados com amostras de águas tratadas, a contaminação por micro-organismos indicadores do grupo coliformes é baixa ou nula em sua maioria. Santos et al. (2015) analisaram amostras de água proveniente do sistema de tratamento do município de Nova Xavantina, Mato Grosso, e verificaram ausência de bactérias do grupo coliforme em todas as amostras. Resultados semelhantes de ausência de bactérias do grupo coliformes foram observados por Santos (2015) em amostras de água do sistema de tratamento e distribuição da cidade de Currais Novos, Rio Grande do Norte.

Em relação às bactérias heterotróficas nas amostras contaminadas por *E. coli*, observou-se uma variação na contagem de  $2,1 \times 10^1$  a  $4,3 \times 10^4$  UFC/mL. Neste requisito, 14 (70%) amostras apresentaram contagem maiores que 500 UFC/mL, ou

seja, fora do limite recomendado estabelecido pela Portaria nº 2914/2011 (Tabela 1). Estudo realizado por Silva et al (2017) em amostras de água provenientes de poços rasos em Carmo do Rio Verde, Goiás, verificou que todas as amostras analisadas apresentaram contagem de bactérias heterotróficas acima do valor recomendado. Já o estudo de Freire e Lima (2012), realizado em amostras de água tratada do município de Olinda, Pernambuco, apresentaram contagem de bactérias heterotróficas inferiores ao recomendado pela Portaria nº 2914/2011. Determinar a contagem de bactérias heterotróficas é importante, pois o aumento considerável da população bacteriana pode comprometer a detecção de micro-organismos do grupo coliformes. Além disso, embora a maioria das bactérias heterotróficas não seja patogênica, pode representar riscos à saúde, como também deteriorar a qualidade da água, provocando odores e sabores desagradáveis (BRASIL, 2013).

Embora a maioria das estirpes de *E. coli* não seja patogênicas, alguns trabalhos já detectaram estirpes patogênicas destas bactérias em água destinadas ao consumo humano (VITAL et al., 2012 e SAXENA et al., 2015). Além disso, elas podem veicular genes de resistência a antimicrobianos, incluindo resistência a ampicilina e tetraciclina (PEREIRA, 2013; VASCONCELOS et al., 2016).

## 5.2 AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DOS ISOLADOS DE *Escherichia coli* AOS SANITIZANTES

As estirpes de *E. coli* isoladas de amostras de água apresentaram uma grande variação na CIM aos dois sanitizantes avaliados. Algumas estirpes apresentaram valores de CIM maior para hipoclorito de sódio, enquanto outras para biguanida polimérica. Verificou-se que 11 (55%) isolados apresentaram CIM de 2,11 mg/L, 4 (20%) com CIM de 4,22 mg/L, 3 (15%) com CIM de 1,05 mg/L e 2 (10%) com CIM de 8,44 mg/L para o hipoclorito de sódio. Enquanto que para a biguanida polimérica, 13 (65%) isolados apresentaram CIM de 4,22 mg/L e 7 (35%) com CIM de 2,11 mg/L (Tabela 2).

Tabela 2 - Concentração Inibitória Mínima dos isolados de *E. coli* aos sanitizantes hipoclorito de sódio e biguanida polimérica.

Amostra	Concentração Inibitória Mínima (mg/L)	
	Hipoclorito de sódio	Biguanida polimérica
A 1	1,05	4,22
A 2	1,05	2,11
A 3	2,11	2,11
A 4	2,11	2,11
A 5	2,11	2,11
A 6	2,11	4,22
A 7	8,44	4,22
A 8	2,11	4,22
A 9	2,11	4,22
A 10	1,05	2,11
A 11	4,22	4,22
A 12	8,44	4,22
A 13	2,11	4,22
A 14	2,11	4,22
A 15	2,11	2,11
A 16	4,22	4,22
A 17	4,22	2,11
A 18	4,22	4,22
A 19	2,11	4,22
A 20	2,11	4,22

Fonte: Elaborada pela autora.

Essa variação pode ocorrer em função dos diferentes tipos de micro-organismos e das respostas variadas a ação dos sanitizantes (MACHADO et al., 2010). Em trabalho realizado por Capita et al. (2014), com *E. coli* ATCC 12806, observou-se que o CIM (239,0 mg/L) para hipoclorito de sódio foi maior do que os encontrados no presente estudo. Já o estudo de Vázquez-Sánchez et al. (2014), com *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, verificou um CIM de 600 mg/L para hipoclorito de sódio.

As bactérias resistentes aos sanitizantes são uma preocupação constante para a indústria de alimentos, pois os micro-organismos patogênicos podem aderir as superfícies de equipamentos e utensílios e neles formarem biofilmes, que poderão contaminar os alimentos que tiverem contato com esses objetos (TEIXEIRA et al., 2015). Além disso, bactérias resistentes podem crescer em sistemas de distribuição de água potável sob forma de biofilmes, provocando alterações na qualidade microbiológica da água (CHAVES, 2004)

### 5.3 PERFIL DE RESISTÊNCIA DOS ISOLADOS DE *Escherichia coli* AOS ANTIBIÓTICOS

Os resultados do teste de sensibilidade aos antimicrobianos mostraram que 100% das estirpes apresentaram resistência a pelo menos um dos 11 antimicrobianos testados. Pode-se observar que todas as estirpes avaliadas foram sensíveis a imipenem, gentamicina, ciprofloxacina, cefepime e ceftazidima, 95% a cloranfenicol, tetraciclina e a cefotaxima, 85% a cefalexina e 20% à ampicilina. Todas as amostras foram resistentes a amoxicilina (Tabela 3).

Tabela 3 - Perfil de resistência a antimicrobianos de estirpes de *E. coli* isoladas de amostras de água destinada ao consumo humano recebidas no LAAA no período de 2015.

Amostra	Classificação dos antibióticos										
	IMP	AMO	CLO	TET	GEN	CIP	AMP	CFX	CTX	CPM	CFO
A 1	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S
A 2	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S
A 3	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
A 4	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S
A 5	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S
A 6	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
A 7	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
A 8	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
A 9	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
A 10	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
A 11	S	R	I	S	S	S	R	S	S	S	S
A 12	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S
A 13	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
A 14	S	R	S	S	S	S	R	R	R	S	S
A 15	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
A 16	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
A 17	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S
A 18	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
A 19	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S
A 20	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S

*Imipenem 10 mcg (IMP); Amoxicilina 10 mcg (AMO); Cloranfenicol 30 mcg (CLO); Tetraciclina 30 mcg (TET); Gentamicina 10 mcg (GEN); Ciprofloxacina 5 mcg (CIP); Ampicilina 10 mcg (AMP); Cefalexina 30 mcg (CFX); Cefotaxima 30 mcg; (CTX); Cefepime 30 mcg (CPM); Cefoxitina 30 mcg (CFO); Sensível (S); Resistência intermediária (I); Resistente (R).*

Fonte: Elaborada pela autora.

Em ambientes aquáticos, os perfis de resistência encontrados em isolados de *E. coli* apresentam grande variabilidade, segundo a origem da água. Em estudo realizado por Pereira (2013), com amostras de água do Sistema Municipal de Abastecimento de Água de São José do Rio Preto, São Paulo, verificou-se que 13,88% isolados de *E. coli* foram resistentes a ampicilina. Vasconcelos et al. (2016), verificou que nenhuma amostras de água do açude de Santo Anastácio, Ceará foi resistente a ampicilina. Em contrapartida, no presente estudo, 80% das estirpes isoladas apresentaram resistência a ampicilina.

A presença de estirpes resistentes aos antibióticos é preocupante por dificultar o tratamento de doenças em humanos e animais. A *E. coli* pode causar doenças graves, como infecções do trato urinário, bacteremia e meningites (GORCHEV; OZOLINS, 2011). Segundo estudos realizados por BRAIOS et al. (2009), a *E. coli* foi o patógeno mais comumente isolados de pacientes com infecção do trato urinário adquirida na cidade de Presidente Prudente, SP, no período de 2006 a 2007, sendo observado uma prevalência de 65,97% desses patógenos. BRAIOS et al. (2009) também verificou o perfil de resistência a ampicilina dos isolados de *E. coli* das amostras de urina, observando uma elevada taxa de resistência (52,1%). Para o tratamento dessa infecção um dos medicamentos utilizados são os  $\beta$ -lactâmicos pertencentes a classe das penicilinas, como a ampicilina, que agem como inibidores da síntese da parede celular (CASTANHEIRA, 2013). Desse modo, esse antibiótico não seria mais recomendado para o tratamento desses pacientes.

Portanto, é de fundamental importância a realização de antibiogramas para avaliação do perfil de sensibilidade aos antibióticos, pois permite que os médicos escolham, entre as diversas alternativas terapêuticas, os antibióticos mais indicados ao tratamento. Além disso, investigar a resistência destes micro-organismos isolados de água é importante devido ao desenvolvimento de bactérias multirresistentes, patogênicas ou comensais de seres humanos e animais, e a sua disseminação no meio ambiente.

## 6 CONCLUSÃO

- Observou-se que um baixo número de amostras de água analisadas no LAAA no ano de 2015 estavam contaminadas por *E. coli*. Em sua maioria, estas amostras foram provenientes de nascentes e poços (água não tratada), evidenciando a importância da cloração para garantir a segurança microbiológica da água destinada ao consumo humano.
- Grandes variações na CIM de hipoclorito e biguanida polimérica foram observadas entre os isolados de *E. coli* avaliados. A veiculação destes isolados com variado perfil de resistência a sanitizantes para a indústria de alimentos através de água contaminada pode comprometer o processo de higienização e levar a formação de biofilmes e, conseqüente, contaminação dos alimentos fabricados.
- Todas as estirpes de *E. coli* isoladas das amostras de água destinadas ao consumo humano foram resistentes a pelo menos um dos 11 antibióticos testados, com maiores taxas de resistência para amoxicilina e ampicilina. A presença de micro-organismos multirresistentes a antibióticos em água pode favorecer a disseminação de genes de resistência para diferentes ambientes e dificultar o tratamento de doenças em humanos e animais.

## REFERÊNCIAS

BRASIL. **Manual Prático de Análise de Água**. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 4 ed., 2013.150 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº. 2914 de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2011.

CAPITA, R. et al. Exposure of Escherichia coli ATCC 12806 to Sublethal Concentrations of Food-Grade Biocides Influences Its Ability To Form Biofilm , Resistance to Antimicrobials , and Ultrastructure. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 4, p. 1268–1280, 2014.

CASTANHEIRA, B.A.M.G. **Mecanismos de resistência a antibióticos**. 2013. 42 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa-Portugal, 2013.

CERF, O.; CARPENTIER, B.; SANDERS, P. Tests for determining in-use concentrations of antibiotics and disinfectants are based on entirely different concepts: “Resistance” has different meanings. **International Journal of Food Microbiology**, v. 136, n. 3, p. 247–254, 2010.

CHAPMAN, J.S. Disinfectant resistance mechanisms, cross-resistance, and co-resistance. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 51, n. 4, p. 271–276, 2003.

CHAVES, L.C.D. **Estudo da Cinética de Formação de Biofilmes em Superfícies em Contacto com Água Potável**. 2004. 186 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia do Ambiente). Universidade do Minho, Braga-Portugal, 2004.

Clinical And Laboratory Standards Institute. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, M2-A11**. 11 ed., v. 32, n. 1, 59 p., 2012.

Clinical And Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, M100S**. 26 ed., v. 36, n. 1, 256 p., 2016

COLVARA, J.G.; LIMA, A.S.; SILVA, W.P. Avaliação da contaminação de água subterrânea em poços artesianos no sul do Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 1, n. 2, p. 11–14, 2009.

DANELUZ, D.; TESSARO, D. Padrão físico-químico e microbiológico da água de nascentes e poços rasos de propriedades rurais da região sudoeste do Paraná. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82, p. 1–5, 2015.

FALAVINHA, G.; DEGENHARDT, R. Qualidade microbiológica da água de nascentes e poços da comunidade de Barro Branco, Capinzal, SC. **Unoesc & Ciência**, v. 5, n. 2, p. 209–216, 2014.

FREIRE, R.C.; LIMA, R.D.A. Bactérias heterotróficas na rede de distribuição de água potável no município de Olinda-PE e sua importância para a saúde pública. **Journal of Management e Primary Health Care**, v. 3, n. 2, p. 91–95, 2012.

GORCHEV, H.G.; OZOLINS, G. Guidelines for drinking-water quality. **WHO chronicle**, v. 38, n. 3, p. 104–108, 2011.

KASTBJERG, V.G.; GRAM, L. Industrial disinfectants do not select for resistance in *Listeria monocytogenes* following long term exposure. **International Journal of Food Microbiology**, v. 160, n. 1, p. 11–15, 2012.

MACHADO, T.R.M. et al. Avaliação da resistência de *Salmonella* à ação de desinfetantes ácido peracético, quaternário de amônio e hipoclorito de sódio. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 69, n. 4, p. 475–481, 2010.

MARINHO, C.A.M. **Resistência a antibióticos em *Enterococcus* spp. e *Escherichia coli* de equinodermes: um problema ambiental e de saúde pública**. 2013. 76 p. Dissertação (Mestrado em Genética Molecular Comparativa e Tecnológica). Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real-Portugal, 2013.

MENEZES, M.M. et al. Concentração fungicida mínima das soluções de clorexidina e hipoclorito de sódio sobre *Candida albicans*. **Ciência Odontológica Brasileira**, v. 11, n. 2, p. 23–28, 2008.

MESQUITA, A.J. et al. Atividade antibacteriana e quantificação de cloridrato de polihexametileno biguanida (P.H.M.B) em tecidos musculares e vísceras de frango. p. 65–78, 1997.

NHAMBE, L.F. **Caracterização de carbapenemases do tipo KPC em enterobactérias de origem clínica**. 2014. 80 p. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas). Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 2014.

OLIVEIRA, A.C.; SILVA, R.S. Desafios do cuidar em saúde frente à resistência bacteriana: uma revisão. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 10, n. 1, p. 189–197, 2008.

PEREIRA, L.O. **Perfil de resistência aos antimicrobianos em coliformes isolados do Sistema Municipal de Abastecimento de Água de São José do Rio Preto-SP São**. 2013. 83 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto-SP 2013.

REYBROUCK, G. The testing of disinfectants. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 41, p. 269–272, 1998.

RIBEIRO, J.M.; CANUTO, K.M.; VESCHI, J.L.A. **Compostos Clorados: Aspectos Gerais e sua Utilização como Agente Sanitizante na Agricultura, Micropropagação e Pecuária**. Petrolina: Embrapa Semi-árido, 1 ed., 2008. 30 p.

SANTOS, P.D.; FERNANDES, P.H.S. Utilização de Cloridrato de Polihexametileno

Biguanida ( PHMB ) na desinfecção de indústrias cervejeiras. **Revista TECEN**, v. 3, n. 1, p. 59–67, 2010.

SANTOS, D.J. et al. Análise físico-química e microbiológica da água de poços superficiais, caixas d'água e do sistema de tratamento, em residências no município de Nova Xavantina-MT. **Revista Eletrônica da UNIVAR**, v. 1, n. 13, p. 31–36, 2015.

SANTOS, R.A. **Atividade profissional efetiva realizada em uma estação de tratamento e distribuição de água potável para consumo humano**. 2015, 26 p. Dissertação (Graduação em Tecnologia em alimentos). Instituto Federal De Educação, Ciência E Tecnologia Do Rio Grande Do Norte, Currais Novos-RN 2015.

SAXENA, T.; KAUSHIK, P.; MOHAN, M.K. Prevalence of *E. coli* O157:H7 in water sources: an overview on associated diseases, outbreaks and detection methods. **Diagnostic Microbiology e Infectious Disease**, v. 82, n. 3, p. 249–264, 2015.  
SILVA, R.A.; BARBOSA, B.G.; SILVA, L.R. Análise microbiológica da água de poços residenciais em Carmo do Rio Verde-GO. **Revista Eletrônica da Faculdade Evangélica de Ceres**, v. 6, n. 1, 2017.

SCHNEIDER, R.N.; NADVORNY, A.; SCHMIDT, V. Perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* obtidos de águas superficiais e subterrâneas, em área de produção de suínos. **Biotemas**, v. 22, n. 3, p. 11–17, 2009.

SILVA, R.A.; BARBOSA, B.G.; SILVA, L.R. Análise microbiológica da água de poços residenciais em Carmo do Rio Verde-GO. **Revista Eletrônica da Faculdade Evangélica de Ceres ANÁLISE**, v. 6, n. 1, 2017.

SIQUEIRA, G.L.C. **Indicadores de qualidade microbiológica da água de consumo, fatores de virulência e condições sanitárias dos povos indígenas Maxakali, Pataxó e xakriabá, aldeados em Minas Gerais**. 2015. 126 p. Dissertação (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto-MG 2015.

SOARES, S.S. et al. Avaliação de métodos para determinação de cloro residual livre em águas de abastecimento público. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 37, n. 1, p. 119–130, 2016.

TEIXEIRA, P. et al. O impacto de biofilmes microbianos na higiene e segurança alimentar. **Boletim de Biotecnologia**, v. 2, n. 6, p. 31–34, 2015.

TUNDISI, J.G. Novas perspectivas para a gestão de recursos hídricos. **Revista USP**, v. 70, p. 24–35, 2006.

VASCONCELOS, F.R. et al. Perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas do açude Santo Anastácio. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 405–410, 2016.

VÁZQUEZ-SÁNCHEZ, D. et al. Biofilm-forming ability and resistance to industrial disinfectants of *Staphylococcus aureus* isolated from fishery products. **Food Control**,

v. 39, n. 1, p. 8–16, 2014.

VITAL, M.; HAMMES, F.; EGLI, T. Competition of *Escherichia coli* O157 with a drinking water bacterial community at low nutrient concentrations. **Water Research**, v. 46, n. 19, p. 6279–6290, 2012.

YAMAGUCHI, M.U. et al. Qualidade microbiológica da água para consumo humano em instituição de ensino de Maringá-PR. **Mundo da Saúde**, v. 37, n. 3, p. 312–320, 2013.