

Artigo Técnico

Qualidade microbiológica de águas naturais quanto ao perfil de resistência de bactérias heterotróficas a antimicrobianos

Microbiological quality of natural waters on the resistance profile of heterotrophic bacteria to antimicrobials

Karina da Costa Sassi Bortoloti¹, Rogerio Melloni^{2*}, Paulo Sérgio Marques³, Brenda Mayra Fernandes de Carvalho⁴, Mariléia Chaves Andrade⁵

RESUMO

A clínica hospitalar se depara diariamente com desafios terapêuticos advindos da presença de bactérias multirresistentes a antibióticos. Todavia, considerando que há evidência de bactérias multirresistentes nos ambientes solo e água, o presente estudo objetivou avaliar os aspectos microbiológicos de fontes de águas naturais potenciais para consumo no município de Itajubá (MG), incluindo a determinação do perfil de resistência de bactérias heterotróficas a antimicrobianos, não exigida nos critérios atuais de potabilidade. Para isso, foram realizadas análises das características microbiológicas em 11 fontes canalizadas durante a estação chuvosa e 9 fontes durante a estação seca, incluindo coliformes totais, *Escherichia coli*, densidade de bactérias heterotróficas e teste de resistência de bactérias heterotróficas a agentes antimicrobianos, além de características físicas e químicas. Os resultados obtidos evidenciaram elevadas porcentagens de resistência de bactérias heterotróficas aos antimicrobianos, sem relação com a época de amostragem. Entretanto, não se verificou relação entre resistência bacteriana e densidades de bactérias heterotróficas e coliformes totais, o que pode levar à falsa ideia de ausência de risco nas águas naturais estudadas que apresentem baixa contaminação.

Palavras-chave: antibióticos; qualidade da água; antibiograma.

ABSTRACT

The hospital clinic daily faces therapeutic challenges arising from the presence of multidrug-resistant bacteria to antibiotics. However, considering there is evidence of multi-resistant bacteria in soil and water environments, this study aimed to evaluate the microbiological aspects of potential natural water sources for consumption in the city of Itajubá (MG, Brazil), including the determination of the resistance profile of heterotrophic bacteria to antimicrobials, which is not required in the current potability criteria. Thus, we performed analyzes of the microbiological characteristics in 11 channeled sources during the rainy season and nine sources during the dry season, including total coliforms, *Escherichia coli*, density of heterotrophic bacteria and resistance testing of heterotrophic bacteria to antimicrobial agents, besides physical and chemical characteristics. The results showed high resistance percentages of heterotrophic bacteria to antimicrobials, unrelated to the sampling time. However, there was no relationship between bacterial resistance and density of heterotrophic bacteria and total coliforms, which can lead to the false idea of the absence of risk in the natural studied waters presenting low contamination.

Keywords: antibiotics; water quality; antibiogram.

INTRODUÇÃO

O aumento da incidência de bactérias multirresistentes no ambiente hospitalar tem alertado as comunidades científicas em todo o mundo. Doenças infecciosas causadas por bactérias multirresistentes implicam em dificuldades na seleção do antibiótico adequado, podendo, inclusive, levar a óbito pacientes com terapia antimicrobiana inadequada.

Entretanto, a presença de bactérias resistentes às diversas classes de antibióticos tem sido evidenciada não somente em ambientes hospitalares, mas também no meio ambiente (CAUMO *et al.*, 2010).

A evolução e a disseminação da resistência bacteriana no meio ambiente ocorrem, dentre outras formas, por meio da pressão seletiva imposta pelo uso indiscriminado de antibióticos na medicina humana

¹Prefeitura de Itajubá - Itajubá (MG), Brasil.

²Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI) - Itajubá (MG), Brasil.

³Laboratorista de Microbiologia da UNIFEI - Itajubá (MG), Brasil.

⁴Faculdade de Medicina de Itajubá - Itajubá (MG), Brasil.

⁵Universidade Federal de Minas Gerais - Belo Horizonte (MG), Brasil.

*Autor correspondente: rogerio.melloni@gmail.com

Recebido: 28/09/2016 - Aceito: 24/04/2017 - Reg. ABES: 169903

e veterinária (TAVARES, 2000). A pressão seletiva ocorre porque o contato repetitivo de bactérias com baixas concentrações de antibióticos favorece a predominância das cepas mais resistentes e, com isso, torna-se frequente o predomínio de cepas multirresistentes, principalmente em locais onde é comum o uso de antibióticos (ANVISA, 2007).

Outro fator responsável pelo rápido crescimento do número de espécies bacterianas multirresistentes é a capacidade das bactérias de transferir os genes de resistência a outras bactérias, inclusive entre espécies diferentes (CAUMO *et al.*, 2010). Diante disso, o risco da presença de bactérias multirresistentes no meio ambiente deve ser valorado e a ingestão hídrica de fontes naturais potenciais para consumo, sem tratamento prévio, constitui um risco potencial, principalmente quando realizada por populações suscetíveis.

As alterações climáticas, a poluição e o consumo excessivo e insustentável dos recursos hídricos têm causado o racionamento cada vez mais frequente da água (LIMA *et al.*, 2011), levando a população a buscar fontes alternativas de abastecimento. Além disso, a população tem por hábito e questões culturais, muitas vezes equivocadas, consumir água proveniente de fontes que, de acordo com o Manual de Inspeção Sanitária em Abastecimento de Água, referem-se a soluções alternativas de abastecimento oriundas de mananciais subterrâneos: nascentes e minas (BRASIL, 2007).

A qualidade microbiológica das águas de nascentes pode estar comprometida pela falta de proteção vegetal e de barreiras no seu entorno, o que permite o acesso das enxurradas de água que podem carregar fezes animal ou mesmo humana, podendo conter bactérias multirresistentes e, por fim, causar a contaminação do recurso hídrico (PRZYGODDA, BONA & FALCONI, 2009).

O consumo de água imprópria e a falta de saneamento, em conjunto, constituem a segunda maior causa de mortalidade infantil, sendo responsáveis por 1,8 milhão de mortes de crianças por complicações de diarreia no mundo, o equivalente a 4.900 mortes por dia (PNUD, 2006). Com isso, a preocupação em oferecer fontes seguras de abastecimento é cada vez mais frequente e algumas variáveis tornam-se úteis para avaliar a qualidade das águas por meio de características físicas, químicas e microbiológicas.

Os padrões de potabilidade são descritos pela Portaria do Ministério da Saúde (MS) 2.914/11, que define como critério microbiológico a ausência de coliformes totais, *Escherichia coli* e limita a contagem de bactérias heterotróficas ao máximo de 500 UFC mL⁻¹ (BRASIL, 2011). Entretanto, a análise do perfil de resistência bacteriana em águas para consumo não é uma exigência da portaria, apesar de pesquisas indicarem sua necessidade (ADESOJI; OGUNJOBI; OLATOYE, 2017; FREITAS *et al.*, 2017; CARVALHO, 2015; CAUMO *et al.*, 2010), o que subestima o risco de infecção por bactérias multirresistentes nos dias atuais.

Contudo, nota-se que ações para conter a disseminação da resistência bacteriana no meio ambiente ainda são escassas e, com isso,

elevam-se os gastos em saúde para combater microrganismos resistentes no ambiente hospitalar (WHO, 2014).

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de fontes de águas naturais atualmente utilizadas e outras sob investigação para consumo, no município de Itajubá (MG), quanto ao perfil de resistência de bactérias heterotróficas a antimicrobianos. Dessa forma, pretende-se alertar sobre a importância do monitoramento ambiental como medida preventiva para a detecção de genes bacterianos multirresistentes, antes da interação com o organismo humano, garantindo, assim, a qualidade do recurso hídrico e a preservação da saúde populacional.

METODOLOGIA

O município de Itajubá está localizado no sul do Estado de Minas Gerais, nas coordenadas geográficas de 22°30'30", latitude sul, e 45°27'20", longitude oeste (PREFEITURA DE ITAJUBÁ, 2014). De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010), o município possui uma população de 90.658 habitantes, distribuída em uma área territorial de 294,835 km², o equivalente a 307,49 hab./km². Encontra-se nas encostas da Serra da Mantiqueira, o que lhe confere uma topografia do tipo ondulado-montanhosa, sendo a maior parte do território montanhoso (78%) e o restante ondulado (12%) e plano (10%). Possui, em seu conjunto geográfico, oito serras principais, além de outras menores não enumeradas, e 57 bairros limitados pelos municípios de São José do Alegre, Maria da Fé, Wenceslau Brás, Piranguçu, Piranguinho e Delfim Moreira (PREFEITURA DE ITAJUBÁ, 2014).

No presente estudo, foram selecionadas 11 fontes potenciais de captação de água para consumo em Itajubá (MG), de modo a obter áreas distintas e abrangentes do município e priorizando fontes próximas às áreas urbanizadas. No entanto, seis delas estão sendo consumidas atualmente (3, 4, 5, 6, 7 e 8) e as demais (1, 2, 9, 10 e 11) se encontram sob investigação e com potencial de utilização, em virtude de sua vazão e de estarem em zona urbana, exceto a fonte 9, que está na zona rural. A localização das fontes foi obtida a partir dos registros das coordenadas geográficas (latitude e longitude) no momento da coleta das amostras, por meio de GPS (*Global Positioning System*), representadas na Tabela 1.

As amostras foram obtidas durante as estações chuvosa e seca, consecutivas. A primeira coleta foi realizada nos meses de outubro e novembro de 2013 e a segunda, em setembro de 2014. De acordo com dados do Boletim Meteorológico de Ciências Atmosféricas da Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI) (2017), em outubro e novembro de 2013 houve, respectivamente, precipitação de 196 e 276 mm, enquanto em setembro de 2014 foram registrados apenas 88,6 mm. Diante desses dados, para fins comparativos, consideraram-se a primeira e a segunda coletas como estações chuvosa e seca, respectivamente.

A amostragem hídrica, em ambas as estações, foi feita em três repetições e acondicionada em frascos estéreis com capacidade para 500 mL. No total, foram obtidas 33 amostras na estação chuvosa, referentes às 11 fontes selecionadas, e 27 amostras na estação seca, referentes a 9 das 11 fontes selecionadas, devido à ausência de vazão nas fontes 7 e 8. As amostras foram mantidas sob refrigeração, em caixa de isopor e gelo, até a chegada ao laboratório para as análises.

A quantificação de coliformes totais e de *Escherichia coli* foi feita por meio do método Colilert®, aprovado pelo método padrão para análise de água e esgoto *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1999).

A contagem da densidade total de bactérias heterotróficas foi realizada por meio da semeadura, em câmara de fluxo laminar, de 0,1 mL de cada amostragem de água em placa de Petri contendo meio de cultura *Plate Count Agar* (PCA) (APHA, 1999). Na sequência, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35°C±0,5°C por 48±3 horas (CETESB, 2006), seguindo-se a contagem total das colônias formadas.

Posteriormente, foram selecionadas 4 colônias de bactérias heterotróficas em cada placa, obtendo-se o máximo de 12 colônias por ponto. As colônias selecionadas foram repicadas em tubos individuais contendo o meio de cultivo PCA. Em seguida, foram submetidas à incubação em estufa bacteriológica a 35°C±0,5°C por 48±3 horas, a fim de possibilitar seu crescimento isolado (CETESB, 2006).

De posse da seleção e do isolamento das cepas bacterianas, procedeu-se à execução do antibiograma. Para isso, utilizou-se o método de disco-difusão de Kirby-Bauer (BAUER *et al.*, 1966). Para a execução da técnica, foram selecionados dez antibióticos, de modo a abranger as diversas classes/subclasses de antimicrobianos: Amoxicilina (AMO) 10 mcg, Gentamicina (GEN) 10 mcg, Aztreonam (ATM) 30 mcg, Cefalexina (CFE) 30 mcg, Cefepime (CPM) 30 mcg, Cefoxitina (CFO) 30 mcg, Ciprofloxacina (CIP) 5 mcg, Cloranfenicol (CLO) 30 mcg, Penicilina G (PEN) 10 U.I e Vancomicina (VAN) 30 mcg. Os halos de

inibição formados ao redor do disco de cada antimicrobiano foram medidos, em mm, com o auxílio de um paquímetro digital e, então, comparados com os diâmetros de referência para a classificação sensível (S), intermediário (I) ou resistente (R), fornecidos pelo fabricante dos discos de antibióticos (CECON).

As análises físicas e químicas tiveram o objetivo de fornecer dados complementares sobre a qualidade do recurso hídrico e compreendem: turbidez, sólidos totais, potencial hidrogeniônico (pH), acidez, alcalinidade, oxigênio dissolvido, carbono orgânico, dureza e condutividade elétrica. Essas análises foram realizadas conforme as técnicas recomendadas no manual prático de análise de água da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA, 2006).

De posse de todos os dados físicos, químicos, microbiológicos e do perfil de resistência bacteriana, realizou-se a análise multivariada, por meio da técnica de componentes principais, utilizando-se o *software* PC-ORD®, que possibilitou correlacionar todos os atributos simultaneamente e, com isso, estabelecer a relação existente entre as variáveis analisadas e a qualidade do recurso hídrico (MCCUNNE & MEFFORD, 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análises microbiológicas

Os resultados das características microbiológicas obtidas das 11 fontes durante a estação chuvosa e das 9 fontes na estação seca podem ser observados, simultaneamente, na Tabela 2.

Com base no critério de potabilidade estabelecido pela Portaria MS 2.914/11, observa-se que, entre as fontes analisadas, quatro delas (3, 5, 6 e 11) apresentaram, em ambas as estações, quantidade de bactérias heterotróficas dentro dos limites estabelecidos pela portaria vigente (até 500 UFC mL⁻¹), o que representa metade das fontes atualmente

Tabela 1 - Localização das fontes selecionadas.

Fontes	Latitude (S)	Longitude (O)	Localização e uso das fontes
1	22°26'45,6"	45°25'15,7"	Propriedade particular, zona urbana e não utilizada para consumo.
2	22°26'45,6"	45°25'15,7"	Propriedade particular, zona urbana e não utilizada para consumo.
3	22°26'37,4"	45°25'15,4"	Comunidade de oração, zona urbana e utilizada para consumo após filtração.
4	22°26'16,1"	45°25'41,0"	Área pública, zona urbana e utilizada para consumo sem tratamento prévio.
5	22°24'45,6"	45°26'50,3"	Universidade, zona urbana e utilizada para consumo sem tratamento prévio.
6	22°26'27,1"	45°25'57,7"	Clube recreativo, zona urbana e utilizada para consumo sem tratamento prévio.
7	22°24'27,8"	45°27'54,7"	Área pública, zona urbana e utilizada para consumo sem tratamento prévio.
8	22°24'27,7"	45°27'54,8"	Área pública, zona urbana e utilizada para consumo sem tratamento prévio.
9	22°26'08,7"	45°26'27,6"	Propriedade particular, zona rural e não utilizada para consumo.
10	22°26'37,8"	45°25'55,6"	Propriedade particular, zona urbana e não utilizada para consumo.
11	22°26'18,7"	45°28'08,55"	Propriedade particular, zona urbana e não utilizada para consumo.

utilizadas para consumo humano em conformidade com o critério de potabilidade para essa característica. As demais fontes já utilizadas para consumo humano (4, 7 e 8) apresentaram, em pelo menos um período, chuvoso ou seco, contagens de bactérias heterotróficas insatisfatórias.

Considerando que 6 das fontes analisadas já são utilizadas para consumo e que, dessas, 3 apresentaram contagens elevadas de bactérias heterotróficas (4, 7 e 8) em pelo menos uma estação, estudos complementares relacionados à saúde coletiva são necessários, principalmente em grupos populacionais suscetíveis que consomem águas naturais sem tratamento prévio, a fim de estabelecer se há correlação entre o consumo dessas águas e o perfil epidemiológico relacionado com agravos à saúde decorrentes da ingestão hídrica.

O risco de infecção microbiológica por meio da ingestão dessas águas torna-se ainda mais preocupante quando se analisam os resultados apresentados nas demais características microbiológicas exigidas pela Portaria MS 2.914/11 (coliformes totais e *Escherichia coli*).

Em relação aos coliformes totais, todas as fontes apresentaram resultado positivo em ambas as estações, sendo que os maiores valores da estação chuvosa ocorreram simultaneamente nas águas das fontes 9 e 10, seguidas pelas fontes 7 e 2, respectivamente; enquanto na estação seca os maiores valores ocorreram na fonte 2, seguida simultaneamente pelas fontes 1 e 10. Entretanto, a presença de coliformes totais na água em estado bruto não implica necessariamente em contaminação, uma vez que as bactérias desse grupo se encontram amplamente difundidas na natureza (BRASIL, 2007). A Portaria MS 2.914/11 determina ausência de coliformes totais em 100 mL de amostra de águas destinadas ao consumo e, por essa razão, nenhuma dessas fontes pode ser considerada própria para tal finalidade. No entanto, das fontes apresentadas, somente a água da fonte 7 é atualmente utilizada para consumo sem tratamento prévio, merecendo atenção especial de reavaliação a fim de evitar problemas de saúde coletiva.

A presença da bactéria *Escherichia coli*, considerada indicativo de contaminação fecal, foi evidenciada em aproximadamente 80% das

fontes, apontando contaminação recente, uma vez que essa espécie sobrevive pouco tempo no ambiente (PONGELUPPE et al., 2009). Nesse sentido, somente as águas das fontes 4 e 5 — durante a estação chuvosa — e 4 e 6 — durante a estação seca — apresentaram ausência total dessas bactérias, caracterizando-se como de excelente qualidade microbiológica para consumo, com base exclusivamente nesse parâmetro. As demais fontes, mesmo aquelas já utilizadas para consumo humano (3, 7 e 8), não possuem água própria para essa finalidade, e as análises devem ser refeitas com o objetivo de buscar a origem da contaminação.

Outros estudos também apresentaram incidências para a presença de coliformes totais e *Escherichia coli* em águas obtidas de fontes naturais, como o realizado por Przygodda, Bona e Falconi (2009) em análise de 515 amostras de águas *in natura* em municípios do Estado do Paraná, das quais 78,64% continham coliformes totais e 40,5% eram positivas para *Escherichia coli*.

A presença de bactérias heterotróficas com alto índice de resistência bacteriana pode ser útil para estabelecer o perfil de resistência ambiental, que, associado à possibilidade de transferência do gene de resistência para outras espécies bacterianas potencialmente patogênicas, pode causar agravos à saúde, com chances reduzidas de sucesso em posterior tratamento (CAUMO et al., 2010). Essa preocupação é essencial em estudos de saúde pública, já que a proximidade das fontes naturais com as áreas urbanas contribui para o consumo dessas águas.

Teste de sensibilidade aos antimicrobianos

Os resultados da média de porcentagem de resistência de bactérias heterotróficas aos antimicrobianos testados entre as estações chuvosa e seca, independentemente da fonte analisada, demonstraram que a maior porcentagem média de cepas resistentes (49%) durante a estação chuvosa ocorreu frente ao antimicrobiano penicilina (PEN), seguido pelo aztreonam (ATM), com porcentagem média de 44%. Durante a estação seca, os antimicrobianos que proporcionaram maior

Tabela 2 - Densidade média de bactérias heterotróficas (UFC mL⁻¹) e média do número mais provável (NMP 100 mL⁻¹) para as características microbiológicas (coliformes totais e *Escherichia coli*) obtidas nas amostragens hídricas das fontes, durante as estações chuvosa e seca.

Estações	Característica microbiológica	Fonte										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Chuvosa	Heterotróficas (UFC mL ⁻¹)	60	1.223	150	2.520	7	90	567	690	2.163	437	143
	Colif. Totais (NMP 100 mL ⁻¹)	94,2	1.985,4	663,8	266,6	13,0	472,5	2.274,9	1.031,1	2.419,2	2.419,2	884,5
	<i>E. coli</i> (NMP 100 mL ⁻¹)	6,4	21,8	8,7	0,0	0,0	0,7	20,8	5,1	1,4	84,2	22,3
Seca	Heterotróficas (UFC mL ⁻¹)	780	610	260	170	60	280	*	*	80	990	470
	Colif. Totais (NMP 100 mL ⁻¹)	2419,2	>2.419,2	1.913,6	100,5	131,3	172,2	*	*	187,2	2.419,2	344,8
	<i>E. coli</i> (NMP 100 mL ⁻¹)	200,5	200,5	30,6	0,0	28,8	0,0	*	*	1,0	27,1	144,5

(*) amostra não obtida nas fontes 7 e 8 devido à ausência de vazão.

porcentagem média de cepas resistentes foram a penicilina (PEN) e a amoxicilina (AMO), com 65 e 49%, respectivamente. O ciprofloxacino (CIP) foi o antimicrobiano com menor porcentagem média de resistência em ambas as estações, representando apenas 1 e 8% do total de cepas resistentes, respectivamente.

A penicilina foi o antimicrobiano menos eficiente nas duas estações. Segundo Gangle (2005), o predomínio de resistência à penicilina pode ser explicado pelo uso excessivo desde a sua descoberta, em 1928, o que foi evidenciado por estudos comparativos entre a porcentagem de isolados resistentes à penicilina de hospitais em meados de 1930 e em 2005, cuja resistência elevou-se de 1 para 90%, respectivamente.

Os resultados da média de porcentagem de resistência de bactérias heterotróficas aos antimicrobianos testados entre as estações chuvosa e seca, por fonte analisada, podem ser visualizados na Figura 1.

De acordo com a Figura 1, as águas das fontes com maior porcentagem de resistência bacteriana durante a estação chuvosa foram as de número 5 (40%) e 4 (33%), lembrando que a fonte 5 apresentou melhor resultado microbiológico nas densidades bacterianas e que ambas são utilizadas para consumo humano (Tabela 2). Em contraste, a fonte 9 foi a que apresentou menor porcentagem de testes resistentes. Em contrapartida, durante a estação seca, as fontes 6 e 4, também atualmente utilizadas para consumo e com menor presença de *E. coli*, apresentaram as maiores porcentagens de resistência, 61 e 43%, respectivamente. As fontes com menores porcentagens de bactérias heterotróficas resistentes, no período da estação seca, foram as de número 10 e 5, com 15 e 17%, respectivamente, a última utilizada no consumo humano quando a vazão é suficiente.

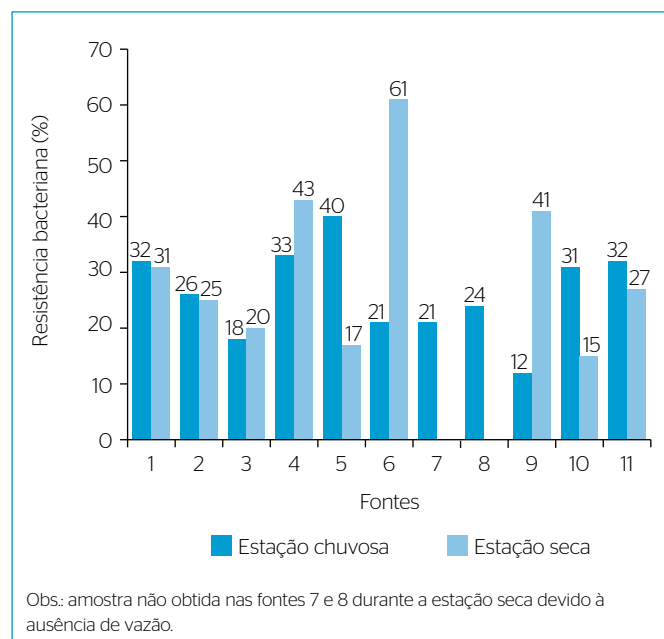


Figura 1 – Porcentagem média de resistência de bactérias heterotróficas, por fonte, em amostras obtidas durante as estações chuvosa e seca.

Todas as fontes citadas com elevadas porcentagens de resistência bacteriana, tanto na estação chuvosa (5 e 4) como na seca (6 e 4), são rotineiramente utilizadas para consumo sem tratamento prévio. Considerando a elevada porcentagem de resistência observada em algumas fontes e que aproximadamente 80% delas apresentaram contaminação com *Escherichia coli* (indicador de contaminação fecal), evidencia-se a vulnerabilidade de contaminação e o risco da ingestão de suas águas em estado bruto, mesmo exibindo excelente qualidade microbiológica (ausência de *E. coli*), conforme a Portaria MS 2.914/11.

A fonte 4 manteve a segunda colocação com maior porcentagem de resistência de bactérias heterotróficas dentre os testes efetuados com antimicrobianos específicos durante as duas estações, enquanto a fonte 5 apresentou a maior porcentagem de cepas resistentes durante a estação chuvosa e a menor porcentagem durante a estação seca.

Análises físico-químicas

Os resultados de condutividade, oxigênio dissolvido, pH, turbidez, acidez, alcalinidade, dureza total, carbono orgânico e sólidos dissolvidos totais das amostras de água, coletadas nas épocas chuvosa e seca, encontram-se na Tabela 3. Apesar de somente dureza total, turbidez e sólidos dissolvidos totais serem exigidos pela Portaria MS 2.914/11, os demais parâmetros podem funcionar como indicadores de poluição, uma vez que alterações de pH e acidez podem ter causas antropogênicas por meio de despejos domésticos e industriais, respectivamente. Além disso, valores elevados de alcalinidade podem estar associados a processos de decomposição de matéria orgânica, e o carbono orgânico constitui um nutriente essencial para o crescimento de bactérias heterotróficas (BRASIL, 2006).

Para dureza, recomenda-se que os valores não ultrapassem 500 mg L⁻¹, o que de fato não ocorreu em todas as amostras, mesmo aquelas não utilizadas para consumo humano. As amostras de água coletadas nas fontes estudadas, durante a estação seca, apresentaram, de modo geral, valores mais elevados de acidez, carbono orgânico, dureza e concentração de oxigênio dissolvido (exceto as fontes 9, 10 e 11, não utilizadas para consumo). A presença de oxigênio dissolvido constitui uma das características mais importantes para avaliar a qualidade do meio hídrico, e sua concentração é considerada inversamente proporcional à poluição hídrica devido ao seu consumo durante o processo de decomposição de poluentes orgânicos, quando existentes, por microrganismos aeróbios (BRASIL, 2006).

Todas as fontes apresentaram, em ambas as estações, valores de pH dentro da faixa ideal de potabilidade (pH 6–9,5) recomendada pela Portaria MS 2.914/11 para sistemas de distribuição, bem como determinações de alcalinidade abaixo do limite ideal para águas naturais (500 mg L⁻¹ de CaCO₃). A quantificação de sólidos dissolvidos totais também compõe o elenco de parâmetros de potabilidade exigidos pela

Portaria MS 2.914/11, entretanto, nenhuma das amostras coletadas nas fontes analisadas ultrapassou o limite máximo permitido de 1.000 mg L⁻¹.

Dessa forma, somente nas fontes 3, 4, 10 e 11 foi obtido algum parâmetro em desacordo com os critérios de potabilidade da Portaria MS 2.914/11. As fontes 3 e 4, durante a estação chuvosa, juntamente com a fonte 11, em ambas as estações, apresentaram condutividade acima de 100 µS cm⁻¹, o que reflete a possibilidade de ambiente impactado, principalmente, por esgotos domésticos, cujo valor pode atingir 1.000 µS cm⁻¹ (BRASIL, 2006). Dessas, somente as fontes 3 e 4 podem ter uma situação considerada crítica, uma vez que já são utilizadas para consumo humano, com filtração prévia e *in natura*, respectivamente (Tabela 1). A água da fonte 10 apresentou, durante a estação chuvosa, valor acima de 5,0 unidades de turbidez nefelométrica (UTN), o qual é permitido pela Portaria. A causa da turbidez pode ser natural, decorrente de altos índices pluviométricos e das características geológicas próprias das bacias, ou antropogênica, decorrente do lançamento de

esgotos, tanto domésticos como industriais (BRASIL, 2006). No entanto, a água dessa fonte não é consumida atualmente, e sua não conformidade a impede de ser utilizada enquanto não forem realizadas investigações para a identificação da fonte de poluição.

Análise de componentes principais

O método estatístico de componentes principais (*Principal Component Analysis* — PCA) possibilitou a análise simultânea de todos os parâmetros. O resultado permitiu explicar 47,1% da variância total dos parâmetros analisados durante a estação chuvosa, utilizando-se dois componentes principais: o primeiro (CP1) explicou 27,4% e o segundo (CP2), 19,7%. Durante a estação seca, a variância de 51,4% pôde ser explicada pelo primeiro (35,2%) e pelo segundo (16,2%) componentes principais. Os gráficos gerados dos componentes principais (CP1 × CP2), tanto para a estação chuvosa como para a seca, estão apresentados na Figura 2.

Tabela 3 - Médias dos parâmetros físico-químicos das amostragens hídricas obtidas das fontes de estudo, durante as estações chuvosa e seca.

Fonte	Cond. µS cm ⁻¹	OD mg L ⁻¹	pH	Turb. NTU	Acidez mg CaCO ₃ L ⁻¹	Alcal. mg CaCO ₃ L ⁻¹	Dureza mg CaCO ₃ L ⁻¹	COT mg L ⁻¹	Sólidos dissolvidos totais mg L ⁻¹
Estação chuvosa									
1	89,97	6,43	7,3	0,86	10,67	44,00	29,18	0,00	115,56
2	46,37	6,14	8,0	1,50	8,00	21,33	15,36	0,73	110,00
3	113,43	6,24	7,4	0,73	12,00	41,33	29,95	0,00	120,00
4	118,87	5,42	7,2	0,24	36,00	69,33	3,79	0,00	143,33
5	28,50	3,71	6,2	0,23	32,00	18,67	9,22	0,00	44,44
6	89,17	4,45	6,9	0,26	38,67	108,00	33,79	0,00	162,22
7	35,23	7,85	6,0	2,83	30,67	22,67	16,90	0,00	51,11
8	40,37	7,77	6,3	2,10	26,67	12,00	0,00	0,00	44,44
9	16,93	10,60	7,8	3,20	9,33	17,33	13,82	0,00	74,44
10	56,83	10,48	8,2	5,04	12,00	40,00	23,04	0,28	115,56
11	116,97	9,67	6,5	0,81	36,00	14,67	27,65	0,00	181,11
Estação seca									
1	77,10	9,64	7,27	0,66	49,33	29,60	55,30	8,42	110,00
2	68,50	9,37	7,14	0,60	33,33	25,33	33,79	9,70	133,33
3	61,40	9,67	7,09	0,60	38,00	25,20	62,98	10,88	113,33
4	86,60	9,38	6,62	0,18	46,00	32,20	61,44	9,98	130,00
5	38,70	9,55	7,02	0,30	34,00	28,00	30,72	8,19	83,33
6	53,30	9,28	7,29	2,02	44,00	24,20	32,26	7,41	76,67
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	21,30	9,17	8,25	0,90	26,67	26,67	23,04	8,51	36,67
10	67,60	9,20	8,53	2,70	42,67	28,40	69,12	*	103,33
11	141,60	9,45	7,38	0,60	30,00	29,33	35,33	5,47	120,00

Cond. (condutividade), OD (oxigênio dissolvido), Turb. (turbidez), Alcal. (alcalinidade), COT (carbono orgânico total). (*) Valor não detectável. (-) amostra não obtida nas fontes 7 e 8 devido à ausência de vazão.

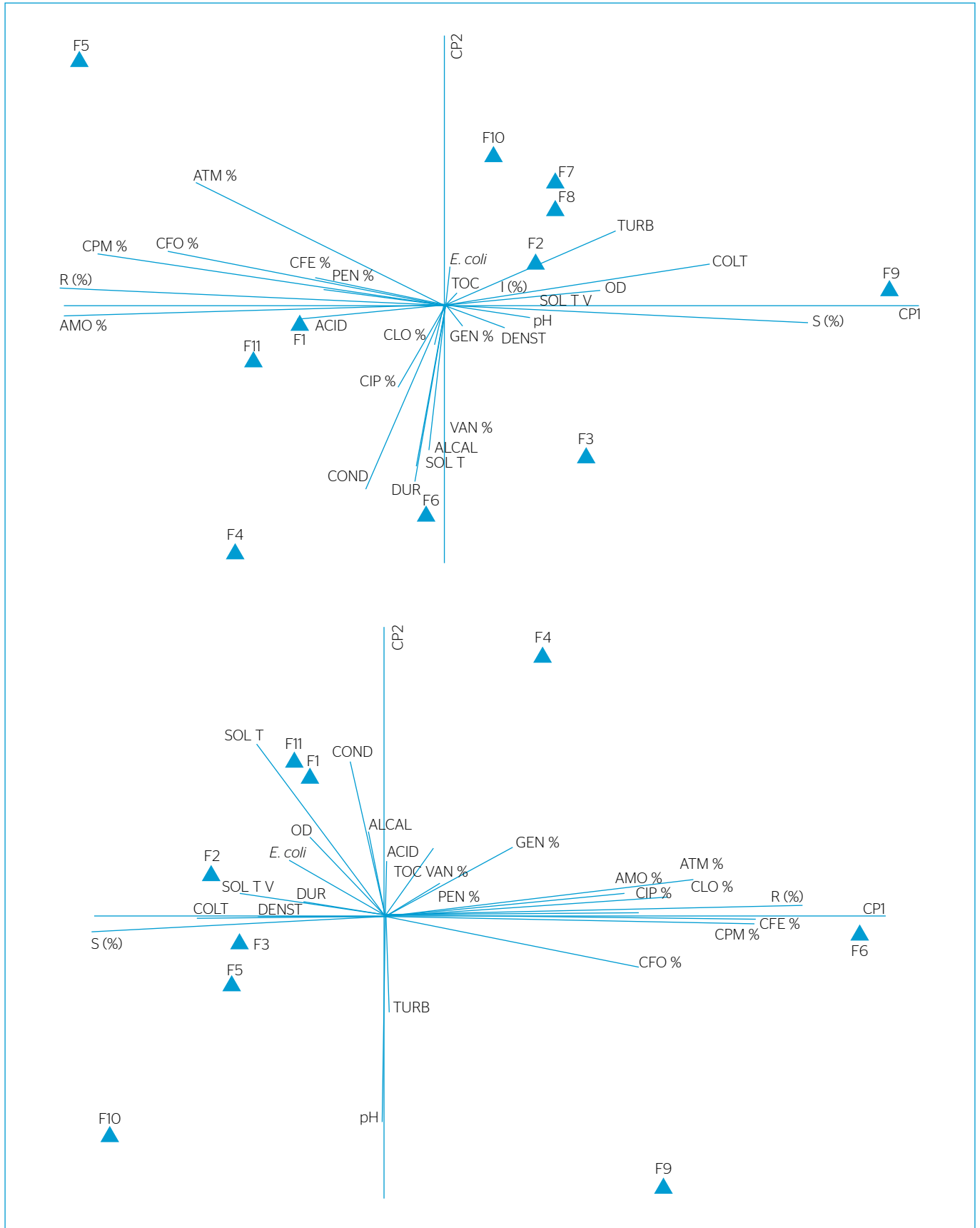


Figura 2 - Componentes principais CP1 x CP2, representativos das médias dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos e do percentual de resistência de bactérias heterotróficas a 10 antimicrobianos das amostragens hídricas de 11 fontes (▲), coletadas durante as estações chuvosa (superior) e seca (inferior).

Na estação chuvosa, constata-se que as águas das fontes 1, 4, 5, 6 e 11 apresentaram relação significativa de resistência bacteriana a um grande número de antibióticos, sendo as fontes 4, 5 e 6, já utilizadas para consumo humano (Tabela 1), as que melhor se relacionaram com elevada porcentagem média de resistência bacteriana e baixa densidade total de bactérias heterotróficas. Salienta-se que as águas das fontes 4 e 5, do ponto de vista microbiológico, não apresentaram contaminação fecal e, portanto, revelaram ausência de *E. coli* (Tabela 2). Esse resultado contraria o obtido por Carvalho (2015) que, ao analisar a correlação entre a resistência de bactérias heterotróficas a antibióticos e os atributos microbiológicos em nascentes do município de Itajubá (MG), observou relação positiva entre resistência bacteriana e altas densidades de bactérias heterotróficas, tanto na estação chuvosa como na seca. Nota-se também que essas mesmas fontes (4, 5 e 6) apresentaram relação inversa (ocupação de quadrantes opostos) com pH, turbidez, concentração de oxigênio dissolvido e carbono orgânico total, respectivamente, o que indica não haver relação entre a resistência a antibióticos e a poluição hídrica. Entretanto, alterações do pH e presença de turbidez não necessariamente implicam em poluição hídrica, dadas suas origens decorrentes também de processos naturais (BRASIL, 2006). Todavia, segundo esse mesmo autor, e conforme citado anteriormente, a concentração de oxigênio dissolvido é considerada inversamente proporcional à poluição hídrica, razão pela qual pode-se suspeitar da presença de poluição nas fontes 4, 5 e 6, com o agravante de resistência a antibióticos.

Baseando-se apenas nos critérios atuais de qualidade microbiológica da água (Portaria MS 2.914/11), as fontes 4, 5 e 6, já utilizadas para consumo humano, em seu estado bruto, poderiam ser consideradas as de melhor qualidade durante a estação chuvosa. Entretanto, ao incluir a característica referente ao perfil de resistência de bactérias heterotróficas, essas fontes teriam sua classificação alterada devido ao risco potencial desses recursos hídricos disseminarem a resistência bacteriana e afetarem a saúde pública.

Ao contrário, as fontes 2, 3, 7, 8, 9 e 10 apresentaram baixa porcentagem de resistência bacteriana aos antimicrobianos e relação direta com a concentração de oxigênio dissolvido, coliformes totais, turbidez e carbono orgânico total, concordando com os resultados obtidos por Carvalho (2015). Além disso, as fontes 2 e 10 também apresentaram contagens elevadas de *Escherichia coli* (Tabela 2), associadas, principalmente, aos valores de carbono orgânico total e turbidez, indicando poluição com contaminante fecal. Contudo, deve-se enfatizar que as águas dessas duas fontes não são e não devem ser utilizadas para consumo humano (Tabela 1), descartando o seu potencial de utilização com essa finalidade.

Analisando-se o resultado dos componentes principais durante a estação seca (Figura 2), constata-se que as fontes 4, 6 e 9 — as duas primeiras já utilizadas para consumo humano — apresentaram relação de maior resistência bacteriana dos isolados de bactérias heterotróficas (Figura 1),

independentemente das suas densidades elevadas. Esse resultado contraria, novamente, aquele apresentado por Carvalho (2015), que encontrou elevada resistência dessas bactérias a antibióticos associada às altas densidades. Entretanto, estudos mostram que a resistência bacteriana não se relaciona necessariamente com a espécie em si, mas com o local em que as bactérias foram isoladas, podendo ser influenciada pela presença de bactérias exógenas e/ou poluentes (BAQUERO; MARTINÉZ; CANTÓN, 2008).

Ao contrário, as fontes 3, 5 e 10 apresentaram bactérias com menor resistência a antibióticos durante a estação seca. Dessas, a fonte 5 constitui uma exceção, com resultado inverso para esse parâmetro durante a estação chuvosa, enquanto as fontes 3 e 10 continuaram apresentando baixo número de isolados resistentes, tanto na estação chuvosa como na seca. No entanto, a fonte 3, já utilizada para consumo humano, apresentou resultado positivo para *E. coli* nas duas épocas, indicando a ocorrência de contaminação fecal e, conseqüentemente, inviabilizando sua utilização para consumo.

Já as fontes 1, 2 e 11, não utilizadas para consumo humano, apresentaram relações de *E. coli*, coliformes totais e densidade de bactérias heterotróficas com concentração de oxigênio dissolvido, sólidos solúveis totais, condutividade elétrica e dureza, parâmetros que, com base naqueles permitidos pela Portaria MS 2.914/11, impedem sua utilização para consumo.

Portanto, a análise da resistência a antibióticos de bactérias heterotróficas pode alterar o parecer final da qualidade e potabilidade das águas, devendo ser vista como um método complementar à determinação dos parâmetros recomendados pela Portaria MS 2.914/11. A utilização de diferentes metodologias de detecção de antibióticos e microrganismos resistentes deve ser sempre incentivada (BAQUERO; MARTINÉZ; CANTÓN, 2008), visando à recomendação segura do uso de águas para consumo.

CONCLUSÕES

As estações do ano afetam a qualidade microbiológica da água nas diferentes fontes analisadas, ocorrendo maior densidade de *Escherichia coli* na época seca.

Não há influência das estações climáticas do ano no perfil da resistência de bactérias heterotróficas aos antimicrobianos.

Maior porcentagem média de resistência de bactérias heterotróficas é observada para penicilina, em ambas as estações, seguida pela amoxicilina (estação seca) e pelo aztreonam (estação chuvosa), e menor porcentagem para ciprofloxacino, em ambas as estações.

Maiores porcentagens de resistência de bactérias heterotróficas aos antimicrobianos ocorrem independentemente de suas densidades elevadas e da contaminação microbiológica com *Escherichia coli* das águas das fontes estudadas.

REFERÊNCIAS

- ADESOJI, A.T.; OGUNJOBI, A.A.; OLATOYE, I.O. (2017) Characterization of Integrons and Sulfonamide Resistance Genes among Bacteria from Drinking Water Distribution Systems in Southwestern Nigeria. *Chemotherapy*, v. 62, n. 1, p. 34-42. <https://doi.org/10.1159/000446150>
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). (2007) *Resistência microbiana*. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/mec_enzimatico.htm>. Acesso em: 13 abr. 2017.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). (1999) *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20. ed. Washington, DC.: APHA/AWWA/WEF. 1120 p.
- BAQUERO, F.; MARTÍNEZ, J.L.; CANTÓN, R. (2008) Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 19, p. 260-265. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.05.006>
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.; SHERRIES, J.C.; TURK, M. (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 45, p. 493-496.
- BOLETIM METEOROLÓGICO DE CIÊNCIAS ATMOSFÉRICAS DA UNIFEI. *Portal*. Itajubá. Disponível em: <http://cat-unifei.blogspot.com.br/2014_01_01_archive.html>. Acesso em: 13 abr. 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. (2006) *Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano*. Brasília: Ministério da Saúde. (Série B. Textos Básicos de Saúde).
- _____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. (2007) *Inspecção Sanitária em Abastecimento de água*. Brasília: Ministério da Saúde. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
- _____. Ministério da Saúde. (2011) *Portaria nº 2.914*, 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. Brasília: Ministério da Saúde.
- CARVALHO, B.M.F. (2015) *Qualidade hídrica e perfil de resistência de bactérias heterotróficas em águas de nascentes sobre diferentes usos do solo, na microbacia do ribeirão José Pereira (Itajubá - MG)*. 93 f. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Universidade Federal de Itajubá, Itajubá.
- CAUMO, K.; DUARTE, M.; CARGNIN, S.T.; RIBEIRO, V.B.; TASCIA, T.; MACEDO, A.J. (2010) Resistência bacteriana no meio ambiente e implicações na clínica hospitalar. *Revista Liberato*, v. 11, n. 16, p. 183-190.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL DE SÃO PAULO (CETESB). (2006) *Norma técnica L5 201, de janeiro de 2006*. Contagem de bactérias heterotróficas: método de ensaio. São Paulo: CETESB. 14 p.
- FREITAS, D.G.; SILVA, R.D.R.; BATAUS, A.M.; BARBOSA, M.S.; BRAGA, C.A.S.B.; CARNEIRO, L.C. (2017) Bacteriological water quality in school's drinking fountains and detection antibiotic resistance genes. In: CLINICAL MICROBIOLOGY AND ANTIMICROBIALS, 2017. *Anais...* Londres.
- FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). (2006) *Manual prático de análise de água*. Brasília: Ministério da Saúde.
- GANGLE, B.J. (2005) *Sources and occurrence of antibiotic resistance in the environment*. 125 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Maryland, College Park.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). (2010) *Ministério do Planejamento Orçamento e Gestão - @cidades - Itajubá*. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/>>. Acesso em: 13 abr. 2017.
- LIMA, J.A.; DAMBROS, M.V.R.; ANTONIO, M.A.P.M.; JANZEN, J.G.; MARCHETTO, M. (2011) Potencial da economia de água potável pelo uso de água pluvial: análise de 40 cidades da Amazônia. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 16, n. 3, p. 291-298. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-41522011000300012>
- MCCUNE, B.; MEFFORD, M.J. (1997) *Multivariate analysis of ecological data*. Version 3.12. Gleneden Beach: MjM Software.
- PONGELUPPE, A.T.; OLIVEIRA, B.D.; SILVA, E.A.; AGUILEIRA, K.K.; ZITEI, V.; BASTOS, M.F. (2009) Avaliação de coliformes totais, fecais em bebedouros localizados em uma instituição de ensino de Guarulhos. *Revista Saúde*, v. 3, n. 2, p. 5-9.
- PREFEITURA DE ITAJUBÁ. (2014) *Localização*. Disponível em: <http://www.itajuba.mg.gov.br/cidade/localizacao.php>>. Acesso em: 13 abr. 2017.
- PROGRAMA DAS NAÇÕES UNIDAS PARA O DESENVOLVIMENTO (PNUD). (2006) *Relatório do desenvolvimento humano*. PNUD.
- PRZYGODDA, F.; BONA, E.A.M.D.; FALCONI, F.A. (2009) Quantificação de coliformes totais e *Escherichia coli* da água *in natura* dos municípios pertencentes a 10ª regional da saúde. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE DO ESTADO DO PARANÁ, 1. *Anais...* Cascavel.
- TAVARES, W. (2000) Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. *Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 33, n. 3, p. 281-301. <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822000000300008>
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). (2014) *Antimicrobial Resistance: global report on surveillance*. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf?ua=1>. Acesso em: 13 abr. 2017.