



Contaminação da água de reservatórios do semiárido potiguar por bactérias de importância médica

doi:10.4136/ambi-agua.1801

Received: 08 Nov. 2015; Accepted: 01 Mar. 2016

Ermeton Duarte do Nascimento^{1*}; Claudio Marcio de Medeiros Maia²;
Magnólia Fernandes Florêncio de Araújo¹

¹Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, Brasil
Departamento de Microbiologia e Parasitologia

²Laboratorio Central Dr. Almino Fernandes (LACEN/RN), Natal, RN, Brasil
Departamento de Análise de Produto

*Autor correspondente: e-mail: ermeton_duarte@yahoo.com.br,
cmaia2004@yahoo.com.br, magffaraujo@gmail.com

RESUMO

A contaminação da água do semiárido brasileiro se tornou uma preocupação constante para os pesquisadores no país, principalmente porque essa região é considerada uma das mais carentes no Brasil e a água nessas localidades representa um importante veículo para a transmissão de doenças associadas aos recursos hídricos. Nessa pesquisa foram coletados dados físicos e químicos, bem como uma amostra da água de quatro reservatórios do semiárido potiguar durante o período seco e chuvoso de 2013 e 2014. Na Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) essas amostras foram processadas e avaliadas, em laboratório, quanto às características físico-químicas e microbiológicas. Os procedimentos de isolamento e identificação microbiana seguiram as normas do *Standard Methods for Examinations of Water and Wastewater*. Em seguida foi usado o sistema Vitek II (Bio-Merieux®) para a identificação dos espécimes e calculada a frequência de ocorrência dos isolados. Ao todo foram isoladas e identificadas 168 bactérias, sendo 97% delas Gram-negativas e apenas 3% Gram-positivas. Dentre os isolados, 73,2% foram identificados como da família *Enterobacteriaceae* e de um modo geral, os gêneros mais constantes na água dos reservatórios foram *Vibrio* e *Aeromonas*. Entre as enterobactérias, as espécies *Escherichia coli*, *Enterobacter complexo cloacae* e *Klebsiella pneumoniae* foram as mais frequentes. Não houve diferença estatística entre o número ou grupo morfotintorial encontrados nos períodos, $p=0,255$ e $p=0,237$ respectivamente. Os dados analisados indicaram uma possível contaminação da água dos reservatórios estudados por uma fonte de material fecal humano e/ou animal.

Palavras-chave: contaminação hídrica, enterobactérias, região semiárida.

Contamination of semiarid potiguar reservoirs by harmful bacteria

ABSTRACT

Water contamination in the semi-arid section of Northeast Brazil is a current concern for the country's researchers, since this region is considered one of the poorest in Brazil and the

water in these locations is a primary vehicle for disease transmission. We collected physical and chemical data as well as water samples from four semiarid potiguar reservoirs during the dry and rainy seasons of 2013 and 2014. These samples were prepared in a laboratory at the Federal University of Rio Grande do Norte (UFRN) and their physical, chemical and microbiological characteristics were evaluated. The procedures of microbial isolation and identification followed the *Standard Methods for Examinations of Water and Wastewater*. Then Vitek II system (Bio-Merieux®) was used to identify the microbial specimens and we calculated the frequency of specimens' occurrence. Altogether, 168 bacteria were isolated and identified; 97% were Gram-negative and only 3% were Gram-positive. Within the Gram-negatives, 73.2% were identified as belonging to the *Enterobacteriaceae* family and, in general terms, the most constant genera in the water reservoirs were *Vibrio* and *Aeromonas*. Among the *Enterobacteriaceae* family, the species *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* complex and *Klebsiella pneumoniae* were the most frequent. There was no statistical difference between the number or morphotype groups found in the periods, $p=0.255$ and $p=0.237$, respectively. The analyzed data indicate possible contamination of these water reservoirs by human and/or animal fecal material.

Keywords: Brazilian semiarid, enterobacteria, hydric contamination.

1. INTRODUÇÃO

A baixa qualidade das águas naturais é hoje um dos mais graves problemas mundiais. No Brasil, cerca de 87% dos municípios tem acesso à água canalizada e de qualidade para consumo, porém apenas 55% dispõem de rede de esgotamento sanitário, e naqueles onde existe rede de esgoto, somente 28% possuem um sistema de tratamento (IBGE, 2010). Na região semiárida do Brasil, pela pouca disponibilidade de água durante o ano, é comum a construção de reservatórios como uma solução adotada para a garantia de água nos períodos de seca. Porém, o grande problema observado é que parte da água armazenada perde a qualidade para consumo (Nascimento et al., 2013) por causa das ações antrópicas ou por questões naturais.

O semiárido brasileiro é uma região seca que abrange oito Estados Nordestinos e o Norte do Estado de Minas Gerais, possuindo uma área total de 980.133,079 km² onde vivem 22.5 milhões de pessoas distribuídas entre 1.135 municípios (INSA, 2014), e é considerada a região árida mais habitada do mundo. Esta região é caracterizada por um clima seco com precipitações médias anuais entre 250 e 500 mm (Cirilo, 2008), e apesar de 1.122 municípios disporem de rede de distribuição de água, 16% deles apresentam poluição ou contaminação da sua fonte de abastecimento (INSA, 2015). Como consequência, pela pouca disponibilidade, a água é considerada um fator crítico para as populações locais (GEO BRASIL, 2007).

Nessas áreas, devido ao crescimento populacional e ao mau uso dos recursos hídricos, a pouca disponibilidade da água acarreta a perda da sua qualidade devido à contaminação. Essa contaminação é uma consequência direta da ação antrópica, principalmente pela descarga de fezes humanas e animais ou esgoto doméstico nesses mananciais. Segundo a Organização Mundial de Saúde - OMS, a taxa de mortalidade por doenças associadas a água afeta mais de 5 milhões de pessoas por ano em todo o mundo (Cabral, 2010).

Entre outros fatores, a qualidade da água está diretamente ligada à presença microbiana, e o monitoramento de microrganismos torna-se essencial na busca de alternativas para questões ambientais relacionadas à água (Araújo e Costa, 2007; do Nascimento e Araújo, 2014). Nesse sentido, a identificação e quantificação de microrganismos, como bactérias, por exemplo nesses ambientes, podem ser fundamentais para a manutenção de uma boa qualidade hídrica e também alertar a favor da saúde das comunidades locais, principalmente, porque no caso de águas contaminadas, tratadas precariamente ou sem nenhum tratamento, as consequências são

a poluição, a destruição da biodiversidade e as doenças de veiculação hídrica (Cirilo, 2008).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi o isolamento e a identificação de bactérias de importância médica e a análise físico-química da água de reservatórios do semiárido potiguar que integram a Bacia hidrográfica Piancó-Piranhas-Assú.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Delimitação e caracterização da área de estudo

Este estudo foi desenvolvido utilizando amostras de água coletadas nos períodos de estiagem e chuvoso em quatro reservatórios da bacia Hidrográfica Piancó-Piranhas-Assú no semiárido norte-rio-grandense, sendo eles: Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves (nas cidades de Itajá (IJ) e São Rafael (SR)) ($05^{\circ}48'00,0''S$; $036^{\circ}55'14,1''W$ e $05^{\circ}40'08,9''S$; $036^{\circ}52'35,3''W$, respectivamente), Itans (IT) ($05^{\circ}40'08,9''S$; $036^{\circ}52'35,3''W$), na cidade de Caicó ($06^{\circ}29'39,0''S$; $037^{\circ}04'01,8''W$), Marechal Dutra (Gargalheiras (GA)), na cidade de Acari ($06^{\circ}25'20,0''S$; $036^{\circ}36'24,0''W$), e Passagem das Traíras (PT), na cidade de Jardim do Seridó ($06^{\circ}30'90,0''S$; $036^{\circ}56'41,4''W$) (Figura 1).

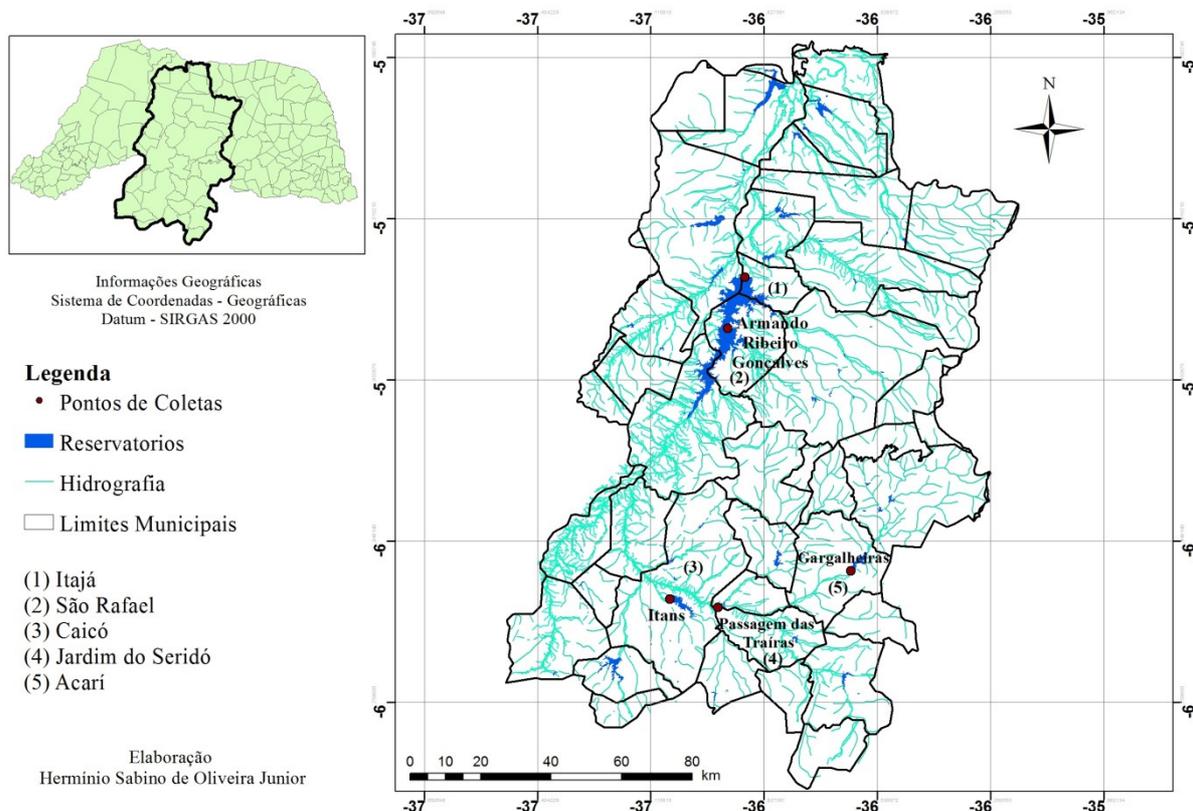


Figura 1. Mapa do Rio Grande do Norte com a localização dos reservatórios alimentados pela Bacia Hidrográfica Piancó-Piranhas-Assú onde foram realizadas as coletas.

2.2. Procedimentos metodológicos

Foram coletadas duas amostras de água, uma no período seco e outra no período chuvoso, de cada reservatório em cada cidade, totalizando 10 amostras. As coletas ocorreram de agosto de 2013 a meados de janeiro de 2014 (período seco) e de fevereiro a junho de 2014 (período chuvoso). As amostras foram coletadas na sub-superfície da água às margens dos reservatórios, a uma profundidade mínima de 20 cm em frascos estéreis de 5000 mL. Em seguida, os frascos foram armazenados e transportados sob refrigeração, até o processamento no Laboratório de Microbiologia Aquática - LAMAq/UFRN. Foram coletados dados físicos e

químicos (Temperatura, pH, cloreto e turbidez) da água por meio da Sonda Multiparâmetro YSI 650 MDS®. Em cada reservatório, o ponto de coleta escolhido encontra-se próximo a uma região com grande atividade antrópica.

No laboratório, toda a amostra foi processada seguindo normas do *Standard Methods for Examinations of Water and Wastewater* (APHA et al., 2012), adaptadas pelo Laboratório Central de Saúde Pública do Rio Grande do Norte Dr. Almino Fernandes (LACEN-RN) e avaliada quanto a turbidez, em turbidímetro DLM® para em seguida ser fracionada em cinco partes e submetida a análise microbiológica para isolamento e identificação de: 1º) *Escherichia coli*; 2º) *Salmonella* spp.; 3º) *Shigella* spp.; 4º) *Vibrio* spp. e *Aeromonas* spp. e 5º) *Chromobacterium violaceum*, Gram-positivos, Gram-negativos não fermentadores de glicose e outras enterobactérias.

Todas as amostras foram submetidas a filtração preconizada pelo *Standard Methods for Examinations of Water and Wastewater* (APHA et al., 2012). Durante a filtração foi utilizada uma membrana de éster de celulose com uma malha de 0,45µm e 47 mm de diâmetro (Millipore®). Após a filtração, o semeio primário também seguiu normas da APHA et al. (2012) e o isolamento e a técnica de Gram seguiram as orientações de Koneman e Winn (2008). Para identificação das espécies bacteriana foi usado o sistema automatizado Vitek II (Bio-Merieux®), que usa a combinação de reações bioquímicas e leitura em espectrofotometria para a identificação dos isolados bacterianos.

Foi calculada a frequência de ocorrência (F), expressa em porcentagem, sendo esta a relação entre a ocorrência das diferentes espécies e o número total de amostras ($F=(Pa \times 100)/P$), em que Pa é o número de amostras em que a espécie "a" está presente e P é o número total de amostras analisadas (Lobo e Leighton, 1986). As espécies foram consideradas:

constantes: quando $F > 50\%$

comuns: quando $10\% < F < 50\%$

raras: quando $F < 10\%$

Além da análise estatística descritiva, foi utilizado o test *t* de student do Programa SPSS® Statistics 17.0, considerando um $\alpha=0,05$, para avaliar os grupos morfotintoriais e os gêneros bacterianos encontrados entre os períodos e os reservatórios.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período avaliado foram mensurados os valores de temperatura, pH, Cl⁻ e NTU+ e calculado o *p* para cada dado coletado (Tabela 1).

Tabela 1. Dados físicos e químicos da água dos reservatórios Gargalheiras (GA), Itans (IT), Passagem das traíras (PT) e Armando Ribeiro Gonçalves nas cidades de Itajá (IJ) e São Rafael (SR), avaliados durante o período seco (S) e chuvoso (C), bem como o resultado da estatística (*p*).

	GA		IT		PT		IJ		SR		<i>p</i>
	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	
Temp	27,04	28,15	29,43	30,18	28,85	30,47	28,35	30,21	28,55	29,54	0,00
pH	8,79	7,81	8,34	6,81	8,55	6,99	6,9	6,97	7,7	6,4	0,02
Cl ⁻	230,7	66,53	152,5	22,64	260,8	10,60	12,86	7,15	16,5	22,95	0,08
NTU+	43,4	21,1	1,90	5,7	58,7	18,1	18,8	12,6	20,8	23,5	0,21

Nesse mesmo período foram coletados e identificados nos cinco reservatórios 168 isolados bacterianos, tendo sido 74 (44,0%) no período seco e 94 (56,0%) no período chuvoso. Durante a estiagem, nove bactérias (12,1%) foram isoladas no Gargalheiras, 12 (16,2%) no Passagem das Traíras, 15 (20,3%) no Itans, 19 (25,7%) no Armando Ribeiro Gonçalves, na cidade de Itajá e 19 (25,7%) no Armando Ribeiro Gonçalves, na cidade de São Rafael. No período chuvoso, 23 (24,5%) foram isoladas no Gargalheiras, 19 (20,2%) no Passagem das Traíras, 18 (19,1%) no Itans, 17 (18,1%) no Armando Ribeiro Gonçalves, na cidade de Itajá e 17 (18,1%) no Armando Ribeiro Gonçalves, na cidade de São Rafael (Figura 2). Não houve diferença estatística do número de bactérias isoladas entre o período seco e o chuvoso e nem entre os reservatórios ($p=0,255$).

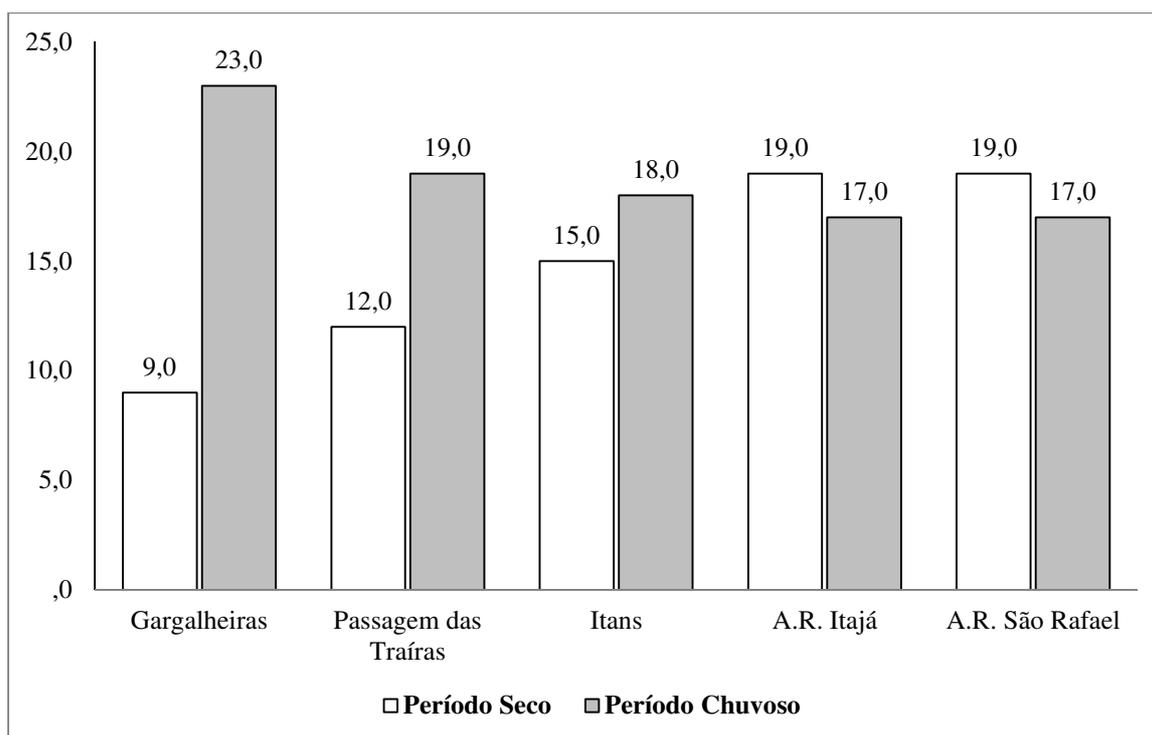


Figura 2. Número de isolados bacterianos dos reservatórios estudados durante o período seco e chuvoso (A.R. = Reservatório Armando Ribeiro Gonçalves).

Após o isolamento, as bactérias foram identificadas e entre os grupos morfotintoriais isolados, 97% pertencem ao grupo das bactérias Gram-negativas e 3% ao grupo das Gram-positivas. Entretanto, não há diferença estatística da prevalência dos grupos morfotintoriais entre os períodos seco e chuvoso e nem entre os reservatórios ($p=0,237$).

Dentre as Gram-negativas, as enterobactérias apresentaram uma prevalência de 73,2%. De um modo geral, a análise da frequência de ocorrência mostrou que 57,2% das bactérias identificadas são comuns na água desses reservatórios e 42,8% são consideradas constantes naqueles ambientes. Os Gram-positivos, com apenas 20%, foram menos frequentes que os Gram-negativos. Os gêneros mais constantes na água desses reservatórios foram *Vibrio* e *Aeromonas* com 100% de frequência de ocorrência cada, o primeiro no período seco e o segundo no chuvoso. Na família *Enterobacteriaceae*, os gêneros mais constantes foram *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Proteus* com 80% cada. (Tabela 2).

As espécies mais constantes na água dos reservatórios foram aquelas do grupo *Enterobacter* complexo *cloacae*, *E. coli* e *K. pneumoniae* com 80% de frequência de ocorrência cada. Foram identificadas dois espécimes de *V. cholerae* sorotipo não-O1 e não-O139, uma no reservatório Gargalheiras e outra no Itans (Tabela 3).

Tabela 2. Frequência de ocorrência (F) de gêneros bacterianos identificados nos reservatórios Gargalheiras (GA), Passagem das Traíras (PT), Itans (IT) e Armando Ribeiro Gonçalves, nas cidades de Itajá (IJ) e São Rafael (SR) no semiárido potiguar, coletados nos períodos seco (S) e chuvoso (C), divididos por enterobactérias, Bacilos Gram-negativos não fermentadores de glicose (NF), outros Gram-negativos (GN) e Gram-positivos. • ≤ 2 ind./ por amostra ●3-5 ind./por amostra ○ ≥ 6 ind./por amostra.

Reservatórios	Período	Gram-negativos														Gram-positivos		
		Enterobactérias													NF		Outros GN	
		<i>Serratia</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Morganella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Providencia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Kluyvera</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Leclercia</i>	<i>Pantoea</i>	<i>Edwardsiella</i>				<i>Pseudomonas</i>
GA	S	•	•	•	•	•										•		
	C				○	●	●		•		●					•	•	
PT	S			•	•	•	●	•	•							•		•
	C		●	•	•	•		•	•			•					•	•
IT	S		•			•		•	○						•	•		•
	C		●	•				•	○				•			•	●	
IJ	S		•		•			○		•						•	○	
	C		●	•	●	•	•						•				●	
SR	S		●		•	•		●	●					•	•	●		
	C		●	●	•			•	●							•	•	
F	S (%)	20	80	40	80	80	20	80	60	20	0	0	0	0	40	100	40	40
	C (%)	0	80	80	80	60	40	60	100	0	20	20	20	20	0	40	100	20

A maior parte da contaminação dos ambientes aquáticos acontece por meio do despejo de dejetos industriais e urbanos. Esses dejetos são caracterizados não apenas pela presença de numerosas substâncias químicas tóxicas e carcinogênicas, como os metais pesados por exemplo, mas também por matéria orgânica que inclui uma microbiota típica, a qual pode contaminar a água e entrar na cadeia alimentar, causando um perigo considerável à saúde da população (Páll et al., 2013). Embora vários trabalhos sobre a contaminação desses ambientes já tenham sido desenvolvidos no Brasil (Alves et al., 2002; Buzelli e Cunha-Santino, 2013; Nascimento e Araújo, 2013), o isolamento de patógenos, em fontes de água se torna mais difícil devido a algumas limitações metodológicas, como por exemplo, a baixa concentração bacteriana na superfície da água (Páll et al., 2013). Neste trabalho, essa limitação foi amenizada pelo aumento da quantidade de água filtrada analisada, seguindo metodologia da APHA et al. (2012).

Tabela 3. Frequência de ocorrência (F) de espécies bacterianas identificadas nos reservatórios Gargalheiras (GA), Passagem das Traíras (PT), Itans (IT) e Armando Ribeiro Gonçalves, nas cidades de Itajá (IJ) e São Rafael (SR) no semiárido potiguar, coletados nos períodos seco (S) e chuvoso (C). •≤2 ind./ por amostra ●3-5 ind./por amostra ○≥6 ind./por amostra.

Gênero	Espécie	Reservatórios					F S/C (% / %)
		GA S/C	PT S/C	IT S/C	IJ S/C	SR S/C	
<i>Serratia</i>	<i>S. marcescens</i>	•					20 / 00
	<i>S. fonticola</i>	•					20 / 20
<i>Enterobacter</i>	<i>E. cloacae</i>	•	•	••	••	••	80 / 80
	<i>E. aerogenes</i>	•	•				20 / 20
<i>Morganella</i>	<i>M. morganii</i> ssp. <i>Morganii</i>	•	••	•	•	•	40 / 80
<i>Proteus</i>	<i>P. vulgaris</i>					•	20 / 00
	<i>P. mirabilis</i>	•○			••	•	40 / 40
	<i>P. penneri</i>	•	•				40 / 00
	<i>P. vulgaris/penneri</i>		•				00 / 20
<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	••	••	•	•	•	80 / 60
<i>Providencia</i>	<i>P. alcalifaciens</i>		•				20 / 00
	<i>P. stuartii</i>	•	•				20 / 20
	<i>P. rettgeri</i>	•			•		00 / 40
<i>Citrobacter</i>	<i>C. youngae</i>		••				20 / 20
	<i>C. amalonaticus</i>			•			20 / 00
	<i>C. freundii</i>			•	•	••	40 / 40
<i>Klebsiella</i>	<i>K. pneumoniae</i>	•	••	••	•	••	60 / 10
	<i>K. oxytoca</i>			•			00 / 20
<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i> spp.	•					00 / 20
<i>Kluyvera</i>	<i>K. ascorbata/cryocrescens</i>				•		20 / 00
<i>Pseudomonas</i>	<i>P. aeruginosa</i>			•		•	40 / 00
	<i>V. cholerae</i>	••		•			40 / 20
	<i>V. vulnificus</i>			•	•	•	60 / 00
<i>Vibrio</i>	<i>V. fluvialis</i>	•	•	•			40 / 00
	<i>A. sóbria</i>	•	•	•	••	••	40 / 10
	<i>A. caviae</i>				•	•	40 / 00
<i>Aeromonas</i>	<i>A. hydrophila</i>			•	•		00 / 40
	<i>S. aureus</i>			•			20 / 00
<i>Staphylococcus</i>	<i>S. intermedius</i>		••				20 / 20

Dados físicos e químicos dos diversos trabalhos realizados anteriormente a esta pesquisa em vários reservatórios, rios e lagos potiguares corroboram com os resultados encontrados neste trabalho (Eskinazi-Sant'Anna et al., 2007; da Costa et al., 2009; Nascimento e Araújo, 2013), e mostraram que estes ambientes estão eutrofizados. Neste estudo, as temperaturas e o pH foram os únicos dados físico e químico que variaram entre os períodos seco e chuvoso e as análises estatísticas mostram isso, com $p=0,00$ e $p=0,02$, respectivamente. Mas apesar dessa

diferença estatística, as temperaturas permaneceram elevadas (temperaturas médias superiores a 24°C) praticamente durante todo o período de coleta. Resultados semelhantes foram encontrados por Eskinazi-Sant'Anna et al. (2007), quando analisaram os mesmos reservatórios.

Segundo Silva et al. (2011), a temperatura da água dos reservatórios no semiárido potiguar e a abundância de nutrientes praticamente constantes durante todo o ano favorecem a eutrofização. Em estudo anterior Eskinazi-Sant'Anna et al. (2007) mostraram que a alta concentração de nutrientes, e especificamente de fósforo total nesses reservatórios, bem como a elevada concentração da comunidade zooplancônica na biomassa total, não apresentaram flutuações sazonais durante o ano. E ainda, a análise de regressão utilizando a densidade dessas comunidades zooplancônicas como variável dependente mostrou uma correlação positiva entre o zooplâncton e o bacterioplâncton nesses ambientes. Araújo e Costa (2007), em estudo realizado com a água de reservatórios do semiárido potiguar, também encontraram uma elevada densidade bacteriana e assumem que a eutrofização nesses ambientes deve exercer uma forte influência na composição e na biomassa da comunidade microbiana desses locais.

Nesse contexto, é importante considerarmos que as bactérias, devido a sua enorme diversidade metabólica, são capazes de utilizar compostos orgânicos e sintéticos, com consequente relevância na assimilação e degradação dos detritos (Pomeroy, 1974), provavelmente isso explicaria o porquê do isolamento de bactérias heterotróficas em todos os locais de coleta, em todos os reservatórios, durante todo o período estudado nesta pesquisa.

Neste trabalho foi encontrada uma maior prevalência para as bactérias Gram-negativas (97,0%) e apenas 3,0% de prevalência de Gram-positivas. Esse resultado corrobora com aquele encontrado em um trabalho realizado anteriormente na Barragem Armando Ribeiro Gonçalves, nos anos de 2009 e 2010, nas cidades de Itajá, São Rafael e Assú, quando os autores apenas identificaram bactérias Gram-negativas na água do reservatório, e aceitaram que poderia está intimamente associado a contaminação por material fecal humano ou animal (Nascimento e Araújo, 2013).

Vários outros trabalhos relatam uma maior frequência de bactérias Gram-negativas nos ambientes aquáticos estudados. Em Pernambuco, num estudo realizado em 1993, os maiores índices de contaminação foram de bactérias Gram negativas (90,3%) e apenas 9,7% de bactérias Gram-positivas (Alves et al., 2002). Numa pesquisa realizada no Estado de São Paulo, Rodrigues et al. (2009), acharam resultados semelhantes de prevalência de Gram-negativos para o Rio Piracuama e apenas identificaram uma espécie de Gram-positiva.

Segundo Sigeo (2004), nos ambientes aquáticos, a frequência entre as bactérias Gram-negativas e Gram-positivas é bem diferente. Nesses ambientes, a maior parte das bactérias pertence ao grupo das Gram-negativas enquanto são relatados poucos representantes do grupo das Gram-positivas. Ainda segundo esse autor, o predomínio de determinados grupos bacterianos em determinados ambientes acontece devido a uma maior adaptação individual em decorrência a uma maior ou menor variação genética e expressão gênica entre os diferentes grupos ou entre diferentes indivíduos do mesmo grupo.

A prevalência de enterobactérias nesse estudo (76,0%) foi corroborada com os resultados de Nascimento e Araújo (2013), que encontraram 78,0% em um trabalho realizado no semiárido potiguar. Enquanto que no Rio Piracuama/SP, os autores identificaram uma prevalência maior da família *Enterobacteriaceae* (90,0%) (Rodrigues et al., 2009). A justificativa para a prevalência da família *Enterobacteriaceae* nos ambientes aquáticos neste estudo pode estar intimamente associada à contaminação desses ambientes por material fecal humano ou animal, considerando que essa família é normalmente identificada como parte integrante da microbiota intestinal humana e animal, e que são descritas inúmeras atividades antrópicas que levam a contaminação desses ambientes por esse grupo de bactérias (Silva et

al., 2007). Porém, alguns gêneros dessa família também são encontrados nos ambientes aquáticos como parte integrante da sua microbiota (Rodrigues et al., 2009; Nascimento e Araújo, 2013).

Neste trabalho foi observada uma maior frequência de isolamento e identificação de enterobacteriácias durante o período chuvoso. Segundo Rodrigues et al. (2009), há uma relação direta do aumento do número da frequência de usuários e de animais próximos as margens de corpos d'água durante os meses mais quentes e o aumento do número de coliformes totais, fecais e a identificação de cepas da família *Enterobacteriaceae* na água desses corpos d'água nos meses das estações chuvosas. Provavelmente por que os usuários desses reservatórios liberam suas excretas no solo durante os meses mais quentes e há o carregamento desses contaminantes para a água, pela água das chuvas, durante as estações chuvosas. Apesar de ter sido relatada a contaminação desses ambientes por meio da liberação de dejetos de excretas animais e humanos nos corpos d'água da Bacia Hidrográfica Piancó-Piranhas-Assú durante todo o ano (Silva et al., 2007).

A família *Enterobacteriaceae* está dividida em três grupos que se apresentam diferentemente no meio ambiente. O grupo I que é composto apenas pela *Escherichia coli*, considerada um excelente indicador de contaminação fecal, porque resiste no ambiente por pouco tempo, e demonstra uma contaminação recente nesses locais. O grupo II, considerado ubíquo, porque pode ser encontrado tanto no intestino do homem e dos animais como também no meio ambiente. E a sua presença no ambiente aquático não indica necessariamente contaminação fecal, sendo seus representantes algumas espécies de *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter*. E o grupo III, composto por bactérias que vivem no ambiente aquático, plantas e pequenos animais, formado por *Raoultella planticola*, *R. terrigena*, *Enterobacter amnigenus* e *Kluyvera intermedia* (*Enterobacter intermedius*), *Serratia fonticola*, e os gêneros *Budvicia*, *Buttiauxella*, *Leclercia*, *Rahnella*, *Yersinia*, e a maioria das espécies de *Erwinia* e *Pantoea* (Cabral, 2010).

Um fator que deve ser observado com mais atenção nesta pesquisa, é que a frequência de ocorrência das bactérias de um modo geral, foi considerada comum ou constante para a água dos reservatórios avaliados. Esse achado se torna preocupante uma vez que todas as bactérias identificadas neste trabalho são consideradas potencialmente patogênicas para o ser humano e sua frequência nesses locais expõe os usuários a maiores riscos de saúde pública.

A maior constância (100%) dos gêneros *Vibrio* e *Aeromonas* na água desses reservatórios neste estudo é facilmente justificada. O gênero *Vibrio* está naturalmente presente na microbiota aquática (Páll et al., 2013) e tem uma alta capacidade adaptativa aos mais diversos nichos ambientais, provavelmente porque evolutivamente teve que se adaptar a diversos estressores ambientais, como escassez de nutrientes, flutuações na salinidade e temperatura, e resistir a predação por protistas heterotróficos e bacteriófagos (Lutz et al., 2013).

Esse gênero também foi identificado por outros pesquisadores em diversos ambientes aquáticos no Brasil (Costa et al., 2008; Rebouças et al., 2011; Ramos et al., 2014). Na Baía do Sul, perto da Ilha de Santa Catarina, no Sul do Brasil, as espécies patogênicas de víbrio mais frequentes foram *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus*. Segundo os autores da pesquisa, houve uma correlação direta entre a temperatura elevada da água e o isolamento de *V. vulnificus* nesse ambiente (Ramos et al., 2014). Segundo Rebouças et al. (2011), num trabalho realizado com água de cultivo de camarão no Ceará, o grande risco do isolamento de espécies de *Vibrio* está no fato desse gênero poder ser um reservatório para genes de patogenicidade, inclusive de resistência às drogas antimicrobianas, e nesse trabalho os autores perceberam que o padrão de resistência a essas drogas não estava relacionado a uma espécie apenas, mas ao gênero como um todo. Costa et al. (2008), também alertam para o aumento do número de isolamento de espécimes de *Vibrio* nos ambientes aquáticos cada vez mais resistentes aos antibióticos.

Além disso, o risco que representa o isolamento de espécies de *Vibrio* reside no fato da

possibilidade da identificação de *V. Cholerae* sorotipo O1, agente etiológico da cólera, ou o sototipo O139, um sorotipo asiático raro, ambos extremamente patogênicos. Entretanto, os únicos dois espécimes de *V. Cholerae* isolados neste estudo não são do tipo O1 e nem do tipo O139. Porém, mesmo isolados de *V.cholerae* não O1 ou não O139 podem causar episódios diarreicos brandos em indivíduos saudáveis ou imunocomprometidos, quando ingeridos (Cabral, 2010). Em condições de estresse ambiental, *V. cholerae* pode entrar em um "estado-viável-mas-não-cultivável", em que normalmente não crescem nos meios de cultura utilizados para cultivo, reduzem em tamanho, mas continuam viáveis, resistindo aos mais diversos ambientes por longos períodos de tempo. A capacidade de *V.cholerae* resistir nos mais diversos ambientes está diretamente associada à produção de biofilme e de um polissacarídeo próprio do gênero (Vibrio PolySaccharide - VPS), que permitem a captação de nutrientes disponíveis na superfície à qual podem aderir (Lutz et al., 2013).

Já o gênero *Aeromonas*, considerado ubíquo no meio ambiente, é composto por bacilos Gram-negativos amplamente distribuídos no ambiente aquático, podendo ser encontrados tanto em água doce como em salobras, e até mesmo em águas residuais, e são considerados um importante patógeno associado à contaminação alimentar (Cabral, 2010), e responsável por vários surtos alimentares (Beaz-Hidalgo e Figueras, 2013). Indivíduos desse gênero podem causar principalmente gastroenterite em crianças, idosos e pacientes imunocomprometidos, mas também septicemia e óbito (Gowda et al., 2015).

Como muitas outras bactérias, o gênero *Aeromonas* é conhecido por possuir uma variedade de fatores de virulência que podem mediar a adesão e a invasão dos tecidos do hospedeiro, desde componentes estruturais mais comuns, como flagelo, fímbria e LPS (lipopolissacarídeo), até mecanismos mais sofisticados, como a produção de produtos de secreção extracelular, como hemolisinas, por exemplo, sistemas de secreção de toxinas, sistemas de aquisição de ferro e até mecanismos de comunicação por *Quorum sensing* (Beaz-Hidalgo e Figueras, 2013).

Neste trabalho, o gênero *Staphylococcus* foi o único representante entre as bactérias Gram-positivas, apresentando 3,0% do total de bactérias isoladas e identificadas. Resultado semelhante foi encontrado por Rodrigues et al. (2009), no rio Piracuama/SP, para quem a explicação da presença dessa bactéria na água é o fato de que o gênero *Staphylococcus* é membro da microbiota normal da pele humana e no contato primário com águas superficiais, podem passar da pele para o corpo d'água.

No que se refere à família *Enterobacteriaceae*, os gêneros mais frequentes neste estudo foram *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Proteus*, com 80% de frequência de ocorrência cada. Esses resultados são corroborados por vários estudos anteriores, como em um trabalho realizado com a água do Rio Arga, no norte da Espanha, em que os autores encontraram os mesmos gêneros da família *Enterobacteriaceae* e associaram essa contaminação com a descarga de esgoto doméstico ao longo do rio (Goñi-Urriza et al., 2000). Na cidade de Nyala, no Sudão, também foram isolados os mesmos gêneros na água de abastecimento, fazendo-se a mesma associação com a contaminação por águas residuais (Abdelrahman e Eltahir, 2011).

No Brasil, Nascimento e Araújo (2013), identificaram praticamente os mesmos organismos em um trabalho realizado em um reservatório do semiárido potiguar, possivelmente em decorrência do escoamento da água da bacia. Em águas do parque Nacional da Serra do Cipó e do Rio do Peixe em Minas Gerais, os autores identificaram esses gêneros da família *Enterobacteriaceae* em 111 isolados bacterianos, indicando uma possível contaminação externa desses ambientes aquáticos (Lima-Bittencourt et al., 2007).

É importante ressaltar que entre esses cinco gêneros mais constantes na água dos reservatórios estudados nesta pesquisa, três deles (*Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*) fazem parte do grupo dos coliformes não fecais, conhecidos também como coliformes totais.

Entretanto, todos os gêneros participantes do grupo dos coliformes foram isolados e identificados neste trabalho, inclusive *Escherichia coli*, o único realmente considerado indicativo de contaminação fecal nos ambientes aquáticos (Cabral, 2010). Esses achados levam a uma maior preocupação e necessidade de cuidados quanto ao uso da água desses reservatórios. Considerando que essas bactérias foram isoladas na maioria deles, tanto no período seco como no chuvoso, pode-se concluir que esses ambientes estão sendo frequentemente contaminados por material fecal.

Ainda no contexto deste trabalho, as espécies mais constantes na água dos reservatórios foram aquelas do grupo *Enterobacter* complexo *cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, com 80% de frequência de ocorrência cada. Como essas três espécies fazem parte do grupo dos coliformes, esses achados dão mais força à afirmação de contaminação dos ambientes estudados por constante descarga de material fecal.

4. CONCLUSÕES

A utilização dos rios e reservatórios da bacia do rio Piancó-Piranhas-Assu para abastecimento público, recreação e pesca no semiárido brasileiro faz com que a qualidade da água seja um fator preocupante, já que muitos efluentes de atividades industriais e domésticas são lançados nestes ambientes.

Neste trabalho evidencia-se a contaminação dos ambientes aquáticos estudados por bactérias de importância médica e a indicação de uma contaminação constante desses reservatórios por material orgânico de origem fecal. Além da temperatura e do pH, os únicos dados físico e químicos que apresentaram diferença estatística entre os períodos seco e chuvoso, nenhum outro dado parece variar ao longo do ano. Apesar disso, a temperatura, um fator de grande importância nos ambientes aquáticos, se mostra elevada durante todo o período de coleta e pode estar influenciando o desenvolvimento bacteriano.

Todas as bactérias isoladas neste estudo são consideradas patogênicas para o ser humano e considerando que no meio rural, o risco de ocorrência de surtos de doenças de veiculação hídrica é mais alto que nas áreas urbanas, principalmente em função da possibilidade de contaminação bacteriana de águas que muitas vezes são captadas inadequadamente e situadas próximas a fontes de contaminação, estudos detalhados sobre os possíveis mecanismos de patogenicidade nesses microrganismos são extremamente necessários.

Praticamente todos os gêneros de enterobactérias mais frequentemente isolados nas principais infecções hospitalares foram isolados e identificados neste estudo. Este fato faz com que estudos desta natureza se tornem indispensáveis à microbiologia porque contribuem para esclarecer e explicar o surgimento de novos casos de doenças associadas aos ambientes aquáticos e possibilitam a identificação de agentes contaminantes nesses ambientes.

5. REFERÊNCIAS

- ABDELRAHMAN, A. A.; ELTAHIR, Y. M. Bacteriological quality of drinking water in Nyala, South Darfur, Sudan. **Environmental monitoring and assessment**, v. 175, n. 1-4, p. 37-43, abr. 2011. <http://dx.doi.org/10.1007/s10661-010-1491-7>
- ALVES, N. C.; ODORIZZI, A. C.; GOULART, F. C. Microbiological analysis of mineral water and drinking water of reservoir supplies, Brazil. **Revista saúde pública**, v. 36, n. 6, p. 749-751, 2002. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102002000700014>

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION – AWWA; WATER ENVIRONMENT FEDERATION - WEF. **Standard methods of examination of water and wastewater**. 22. ed. Washington, 2012. p. 1360
- ARAÚJO, M. F. F. DE; COSTA, I. A. S. Comunidades microbianas (bacterioplâncton e protozooplâncton) em reservatórios do semi-árido brasileiro. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 3, p. 422–432, 2007.
- BEAZ-HIDALGO, R.; FIGUERAS, M. J. *Aeromonas* spp. whole genomes and virulence factors implicated in fish disease. **Journal of Fish Diseases**, v. 36, n. 4, p. 371–388, 2013. <http://dx.doi.org/10.1111/jfd.12025>
- BUZELLI, G. M.; CUNHA-SANTINO, M. B. DA. diagnóstico da qualidade da água e estado reservatório de Barra Análise e trófico do Diagnosis and analysis of water quality and trophic state of Barra Bonita reservoir , SP. **Revista Ambiente e Água**, v. 8, n. 1, p. 186–205, 2013. <http://dx.doi.org/10.4136/1980-993X>
- CABRAL, J. P. S. Water microbiology. Bacterial pathogens and water. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 7, n. 10, p. 3657–703, 2010. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph7103657>
- CIRILO, J. A. Políticas públicas de recursos hídricos para o semi-árido. **Estudos Avançados**, v. 22, n. 63, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-40142008000200005>
- COSTA, R. A.; FERNANDES VIEIRA, G. H. F.; SILVA, G. C.; FERNANDES VIEIRA, R. H. S. DOS; SAMPAIO, S. S. Susceptibilidade “ in vitro ” a antimicrobianos de estirpes de *Vibrio* spp. isoladas de camarões (*Litopenaeus vannamei*) e de água de criação destes animais provenientes de uma fazenda de camarões no Ceará – Nota prévia. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 6, p. 458–462, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-95962008000600007>
- DA COSTA, I. A. S.; CUNHA, S. R. DE S.; DE FÁTIMA PANOSSO, R.; ARAÚJO, M. F. F.; SOUZA MELO, J. L. DE; ESKINAZI-SANT’ANNA, E. M. Dinâmica de cianobactérias em reservatórios eutróficos do semi-árido do Rio Grande Do Norte. **Oecologia Brasiliensis**, v. 13, n. 02, p. 382–401, 2009. <http://dx.doi.org/10.4257/oeco.2009.1302.11>
- DO NASCIMENTO, E. D.; ARAUJO, M. F. F. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquatic environments in Brazil : a systematic review. **Revista Ambiente e Água**, v. 9, n. 2, p. 239–249, 2014. <http://dx.doi.org/10.4136/1980-993X>
- ESKINAZI-SANT’ANNA, E. M.; MENEZES, R.; COSTA, I. S.; DE FÁTIMA PANOSSO, R.; ARAÚJO, M. F.; DE ATTAYDE, J. L. Composição da comunidade zooplanctônica em reservatórios eutróficos do semi-árido do rio grande do norte. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 3, p. 410–421, 2007. <http://dx.doi.org/10.4257/oeco.2007.1103.10>.
- GEO-BRASIL. **GEO Brasil - Recursos Hídricos**: resumo executivo. Brasília: Brasil GEO, 2007. (Temática)

- GOÑI-URRIZA, M.; CAPDEPUY, M.; ARPIN, C.; RAYMOND, N.; CAUMETTE,†P.; QUENTIN, C. Impact of an urban effluent on antibiotic resistance of riverine *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas* spp. **Applied and environmental Microbiology**, v. 66, n. 1, p. 125–32, 2000. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.66.1.125-132.2000>
- GOWDA TANUJA, K. G. M.; REDDY VISHWANATHA, R. A. P.; DEVLEESSCHAUWER BRECHT, Z. N. N.; CHAUDHARI SANDEEP, P.; KHAN WAQAR, A.; SHINDE SHILPA, V. et al. Isolation and Seroprevalence of *Aeromonas* spp. among common food animals slaughtered in Nagpur, Central India. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 12, n. 7, p. 1–5, 2015. <http://dx.doi.org/10.1089/fpd.2014.1922>
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA – IBGE. **Pesquisa nacional do saneamento básico**. Rio de Janeiro, 2010.
- INSTITUTO NACIONAL DO SEMIÁRIDO - INSA. **Website**. 2014. Disponível em: <http://www.insa.gov.br>. Acesso em: 05 abril 2015.
- KONEMAN, E. W.; WINN, W. C. **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- LIMA-BITTENCOURT, C. I.; CURSINO, L.; GONÇALVES-DORNELAS, H.; PONTES, D. S.; NARDI, R. M. D.; CALLISTO, M. et al. Multiple antimicrobial resistance in *Enterobacteriaceae* isolates from pristine freshwater. **GMR Genetics and molecular research**, v. 6, n. 3, p. 510–21, 2007.
- LOBO, E.; LEIGHTON, G. Estructuras comunitarias de las fitocenosis planctonicas de los sistemas de desembocaduras de rios y esteros de la zona central de Chile. **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, v. 22, n. 1, p. 1-29, 1986.
- LUTZ, C.; ERKEN, M.; NOORIAN, P.; SUN, S.; MCDUGALD, D. Environmental reservoirs and mechanisms of persistence of *Vibrio cholerae*. **Frontiers in microbiology**, v. 4, , p. 375, 2013. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2013.00375>
- NASCIMENTO, V. S. F.; ARAÚJO, M. F. F.; NASCIMENTO, E. D. DO; SODRÉ NETO, L. Epidemiologia de doenças diarreicas de veiculação hídrica em uma região semiárida brasileira. **ConScientiae e Saúde**, v. 12, n. 3, p. 353–361, 2013. <http://dx.doi.org/10.5585/ConsSaude.v12n3.4241>
- NASCIMENTO, V. S. F.; ARAÚJO, M. F. F. DE. Ocorrência de bactérias patogênicas oportunistas em um reservatório do semiárido do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 7, n. 1, p. 91–104, 2013.
- PÁLL, E.; NICULAEI, M.; KISS, Y.; ŞANDRU1, C. D.; SPÎNU1, M. Human impact on the microbiological water quality of the rivers. **Journal of medical microbiology**, v. 62, p. 1635–40, 2013. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.055749-0>.
- POMEROY, L. R. The Ocean's food web, a changing paradigm. **BioScience**, v. 24, n. 9, p. 499–504, 1974. <http://dx.doi.org/10.2307/1296885>
- RAMOS, R. J.; MIOTTO, L. A.; MIOTTO, M.; SILVEIRA JUNIOR, N.; CIROLINI, A.; SILVA, H. S. DA; et al. Occurrence of potentially pathogenic *Vibrio* in oysters (*Crassostrea gigas*) and waters from bivalve mollusk cultivations in the South Bay of Santa Catarina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 3, p. 327–333, 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0069-2014>

- REBOUÇAS, R. H.; DE SOUSA, O. V.; LIMA, A. S.; VASCONCELOS, F. R.; DE CARVALHO, P. B.; DOS FERNANDES VIEIRA, R. H. S. Antimicrobial resistance profile of *Vibrio* species isolated from marine shrimp farming environments (*Litopenaeus vannamei*) at Ceará, Brazil. **Environmental research**, v. 111, n. 1, p. 21–4, jan. 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2010.09.012>
- RODRIGUES, J. R. D. D.; JORGE, A. O.; UENO, M. Evaluation of the quality of waters of two areas used for recreation of the River Piracuama-SP. **Revista Biociências**, v. 15, n. 2, p. 88–94, 2009.
- SIGEE, D. C. **Freshwater microbiology**. 1st. ed. Manchester: John Wiley and Sons, 2004.
- SILVA, S. M. DA et al. **Levantamento ambiental do Rio Piranhas- Açu / Atividades poluidoras ou potencialmente poluidoras**. Natal/RN e João Pessoa/PB: [s.n.] 2007.
- SILVA, L. A. P. DA; ARAÚJO, F.; PANOSSO, R.; CAMACHO, F.; COSTA, I. A. S. As águas verdes dos Reservatórios do Rio Grande do Norte: o problema das cianobactérias e cianotoxinas. **Boletim ABLimno**, v. 1, n. 36, 2011.