

Avaliação microbiológica de águas de recreação por meio da análise de resistência de bactérias heterotróficas a antibióticos

Paula Thaís Ranzani de França

Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Recursos Hídricos, da Universidade Federal de Itajubá (Unifei)

paulinba.ranzani@gmail.com

Rogério Melloni

Docente da Universidade Federal de Itajubá (Unifei), Instituto de Recursos Naturais.

rogerio.melloni@gmail.com

Recebido: 02/10/13 - revisado: 30/03/14 - aceito: 24/06/14

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de águas de áreas de recreação da região sul de Minas Gerais por meio da resistência de bactérias heterotróficas (normalmente somente quantificada) a diferentes antibióticos. Do total de isolados de bactérias, obtidas em meio de cultura Plate Count Agar, 77,8% foram resistentes à penicilina e 56% foram resistentes a pelo menos três antibióticos (consideradas multirresistentes ou superbactérias) e 10% foram sensíveis a todos os antibióticos testados. Tais resultados evidenciam indiretamente a larga presença dos diferentes antimicrobianos nas águas de recreação estudadas e mostram a necessidade de estudos relacionados aos possíveis impactos dos mesmos na saúde coletiva.

Palavras Chave: Resistência a antimicrobianos. Bactérias multirresistentes. Superbactérias.

INTRODUÇÃO

Apesar de a água potável ter sido, durante séculos, considerada um bem infinito, atualmente é vista como um recurso natural de valor econômico e social, essencial à existência dos seres vivos e à manutenção dos ecossistemas do planeta, tornando-se uma preocupação mundial.

Essa preocupação vem crescendo nas últimas décadas, uma vez que o aumento exponencial da população traz um consequente aumento da ocupação irregular ou imprópria de áreas de mananciais (RIBEIRO et al., 2009), o que provoca a degradação da qualidade e modificação na composição da água, gerada pelo despejo de poluentes nos cursos hídricos (SILVA et al., 2008; TERRA et al., 2008).

A água doce, potável ou não, possui relevância ímpar no desenvolvimento da sociedade, dentre seus principais usos, são destacados o consumo humano, irrigação de plantações, dessedentação de animais e o lazer. A queda na qualidade das águas de recreação implica num alto risco a saúde dos banhistas uma vez que esta é responsável pela veiculação de grande número de doenças, tais como gastroenterites, cólera, conjuntivites e dermatites (CASTRO et al., 2007).

Segundo estudo desenvolvido por Dorevitch et al. (2011) águas recreacionais contaminadas representam sério risco à saúde pública, principalmente entre os banhistas que possuem contato direto – natação – devido ao risco de ingestão de água durante as atividades recreacionais.

Como forma de vida predominante em todos os ambientes, as bactérias são frequentemente usadas para monitorar a qualidade do ambiente, uma vez que, sob os efeitos dos fatores ambientais, podem adquirir características específicas, e ainda, servir como bons indicadores da presença de poluentes (LO-

BOVA et al., 2002). Isso é possível porque a célula microbiana é dinâmica e se adapta rapidamente a mudanças nas condições ambientais, alterando seu fenótipo e/ou genótipo. Uma das propriedades bacterianas usadas para avaliar o impacto antropogênico no ambiente é a sua resistência a antibióticos.

O termo bactéria heterotrófica engloba todas as bactérias que usam nutrientes orgânicos para o seu crescimento, está presente em todos os ambientes e possui gêneros patogênicos como *Salmonella* sp.; *Shigella* sp.; *Legionella* sp.; entre outros. Dessa forma, a observação de um número excessivo de bactérias heterotróficas resistentes a antimicrobianos em determinado ambiente indica uma mudança drástica nas condições ambientais devido a impactos diretos ou indiretos de fatores não naturais (LOBOVA et al., 2002).

Substâncias antibióticas lançadas em ambientes hídricos também podem afetar fortemente a composição de bacteriocenos no ecossistema. Uma revisão feita por Sommer e Dantas (2011) mostra os riscos do uso prolongado de antimicrobianos uma vez que os mesmos agem de forma inespecífica, atingindo também espécies da microflora natural de hospedeiros simbióticos – como o homem – alterando, assim, toda a estrutura da comunidade simbiótica, o que pode causar danos ao hospedeiro.

A resistência bacteriana a antimicrobianos pode ser intrínseca, associada com a penetração reduzida do antibiótico na célula, ou pode ser extrínseca, relacionado a processos dinâmicos como mudanças no transporte do antibiótico para dentro da célula, modificações moleculares, ou produção de enzimas que modificam e inativam o antibiótico (BENNET, 2008; OLIVEIRA et al., 2010; YURTSEV et al., 2013). Essa resistência pode ser determinada tanto por genes cromossômicos como por elementos genéticos extracromossômicos - plasmídeo-R, os últimos considerados particularmente importantes no processo

de transferência da resistência em função da sua capacidade de replicação independente do genoma e facilidade de dispersão de genes de resistência (SVARA; RANKIN, 2011; YURTSEV et al., 2013).

Bactérias com resistência intrínseca a antibióticos são encontradas na natureza (SOMMER; DANTAS, 2011), porém aquelas fecais com alto nível de resistência antimicrobiana, presentes no esgoto doméstico, podem disseminar a resistência às bactérias ambientais (OLIVEIRA et al., 2010; NUÑEZ et al., 2012).

A habilidade de muitas espécies de bactérias, incluindo as patogênicas, de adquirir resistência aos agentes antimicrobianos tem se tornado um problema global já que são o maior motivo de insucesso nos tratamentos de doenças infecciosas, principalmente devido à evolução, causada pela exposição por tempos prolongados aos antibióticos, de patógenos multirresistentes que são virtualmente intratáveis (SOMMER; DANTAS, 2011).

Embora organismos resistentes possam ser encontrados em ambientes naturais, a maioria está associada aos impactos causados pelo homem (GANGLÉ, 2005). Assim, o aparecimento de bactérias resistentes é comum em ambientes que recebem efluentes contendo resíduos de agentes antimicrobianos, liberados por meio da urina, fezes e metabólitos de pessoas submetidas à antibioticoterapia (HALLING-SORENSEN et al., 1998; CAUMO et al., 2010; NUÑEZ et al., 2012). A disseminação dos genes de resistência entre as bactérias é causada, principalmente, pelo uso indiscriminado de substâncias antibióticas em práticas médicas e também no controle de doenças em animais, já que a pressão seletiva imposta no trato gastrointestinal de animais e humanos com o uso de antimicrobianos refletem uma microflora resistente (GANGLÉ, 2005; SVARA; RANKIN, 2011; RESENDE et al., 2012; TOPRAK et al., 2013). O patógeno, uma vez tratado com substância antimicrobiana, se torna resistente a antimicrobianos similares (LOBOVA et al., 2002).

As bactérias aquáticas frequentemente mostram múltipla resistência (DAVIS, 1992). Isso porque, nos últimos anos, para superar o problema de resistência aos antimicrobianos utilizados nos tratamentos de doenças infecciosas, tem ocorrido um aumento do uso de drogas, de diferentes mecanismos de ação, combinadas para potencializar a eficácia nos tratamentos, resultando em bactérias resistentes a tais drogas utilizadas, multirresistentes ou superbactérias (GANGLÉ, 2005; SOMMER; DANTAS, 2011).

Segundo estudo desenvolvido por Halling-Sorensen et al. (1998), quando bactérias resistentes a vários antibióticos presentes no ambiente entram novamente no trato gastrointestinal humano, podem promover nova transferência de resistência e, assim, comprometer a eficácia dos regimes terapêuticos tradicionais, tornando os tratamentos à infecção mais difíceis. Porém, em estudo apresentado por Sommer e Dantas (2011), não houve transferência lateral de genes resistentes no trato gastrointestinal de humanos que ingeriram cepas resistentes, apesar de ter havido multiplicação das mesmas. Isso mostra tanto a transferência de genes de resistência quanto a capacidade das cepas resistentes se estabelecerem com a microbiota autóctone, comprometendo a eficácia dos tratamentos.

Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo

avaliar a qualidade microbiológica de águas de recreação da região sul do Estado de Minas Gerais – Brasil, onde há exposição primária dos banhistas aos microrganismos, por meio da análise de resistência de isolados de bactérias heterotróficas a diferentes antimicrobianos.

MATERIAL E MÉTODOS

O Estado de Minas Gerais está localizado na região sudeste do Brasil, não possuindo contato com o oceano. As amostras destinadas ao estudo foram coletadas em rios e cachoeiras de cinco cidades do sul de Minas Gerais, conforme descrito no quadro 1.

As amostras de água utilizadas para as análises microbiológicas foram coletadas durante o final do verão, entre os meses de fevereiro e março de 2012, em frascos esterilizados e em três repetições por local. Foram mantidas refrigeradas e analisadas dentro de um período não superior a seis horas. Todas as amostras foram coletadas uma única vez, em função de limitações de recursos laboratoriais e tempo envolvido nas análises.

Quadro 1 – Descrição dos pontos de amostragem de água de recreação

Ponto	Coordenadas geográficas	Descrição do local de amostragem	Cidade (MG)
P1	22°28'33"S 45°23'47"O	Rio, de fácil acesso à população. Importante fonte de lazer no verão.	Itajubá
P2	22°41'02"S 45°50'57"O	Cachoeira próxima ao centro da cidade, frequentada por banhistas o ano todo.	Gonçalves
P3	22°32'05"S 45°39'10"O	Cachoeira próxima à zona rural. Bairro afastado do centro da cidade. Cultura próxima é banana.	Brazópolis
P4	22°19'26"S 45°18'22"O	Cachoeira próxima à zona rural, com população ao redor. Bairro afastado do centro da cidade. Cultura próxima é café.	Maria da Fé
P5	22°31'43"S 45°24'21"O	Rio, de fácil acesso à população. Importante fonte de lazer no verão. Área de pasto e serve para des-sedentação do gado.	Wenceslau Braz

A avaliação da densidade de bactérias heterotróficas foi feita através da técnica de contagem de superfície, spread plate, segundo metodologia descrita em APHA (1999), inoculando 0,1 mL de cada amostra em placa contendo meio de cultura Plate Count Agar (PCA). Após o período de incubação, cada placa foi dividida em quatro quadrantes, para a seleção dos isolados

para transferência e reserva em tubos inclinados contendo o mesmo meio de cultura. Os quatro isolados por placa foram, então, caracterizados fenotipicamente, conforme formato e diâmetro da colônia, produção de exopolímeros, borda, cor e elevação da colônia, de forma a contemplar diferentes aspectos morfofuncionais.

Para atender aos objetivos propostos, foi realizado um pós-teste dos isolados selecionados com o objetivo de determinar quais deles eram, de fato, bactérias heterotróficas não pertencentes ao grupo dos coliformes, já que o foco desse trabalho era trabalhar com bactérias ambientais e não necessariamente oriundas de efluentes ou redes de esgoto, o que caracterizariam as do grupo coliforme. O teste foi desenvolvido conforme padronizado pela Norma Técnica L5.214 da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB, 2006), por meio da técnica de tubos múltiplos.

O teste de sensibilidade a antimicrobianos foi aplicado a todos os isolados de bactérias heterotróficas não coliformes, utilizando-se o método de disco-difusão, aplicado em meio de cultura PCA, de acordo com o Comitê Nacional de Padronização de Laboratório Clínico (NCCLS, 2003). Assim, cento e trinta e um isolados (131) foram testados aos seguintes antimicrobianos, selecionados em virtude da importância na área médica (BRASIL, 2010): amoxicilina (AMO) 30 µg, ampicilina (AMP) 10 µg, ciprofloxacina (CIP) 5µg, cloranfenicol (CLO) 30 µg, eritromicina (ERI) 15 µg, estreptomicina (EST) 10 µg, gentamicina (GEN) 10 µg, penicilina (PEN) 10 UI, rifampicina (RIF) 30 µg, vancomicina (VAN) 30 µg, azitromicina (AZI) 15 µg e tetraciclina (TET) 30 µg.

Foi aplicada estatística descritiva com os dados de densidade de bactérias heterotróficas, com cálculos de média, desvio padrão, variância e amplitude. Posteriormente, fez-se análise de agrupamento, abordando os padrões de resistência dos isolados aos diferentes antimicrobianos, por meio do *software* Statistica 5.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados relacionados à densidade total de bactérias heterotróficas encontram-se no Quadro 2.

Maiores médias de densidade de bactérias heterotróficas foram obtidas nos pontos P4 e P3, seguidos pelos pontos P5, P2 e, finalmente, o ponto P1, com o menor valor. Uma maior variação de amplitude nos dados amostrados ocorreu nos pontos P2 e P4, ambos ambientes de cachoeira. Vale ressaltar que, diferentemente do exposto na Portaria nº2.914 (MS, 2011), que recomenda que as densidades obtidas nas análises de contagem total de bactérias heterotróficas não ultrapassem 500 UFC/mL da amostra, não há normatização para densidades de bactérias heterotróficas em águas destinadas à recreação (CONAMA, 2000). Esse fato realça a importância dos resultados obtidos e torna-se preocupante a grande ocorrência e distribuição de bactérias heterotróficas com potencial variado de resistência a antibióticos advindos de fontes diversas.

Essa variação dos dados nos diferentes locais amostrados já era esperada e corrobora dados de Mudryk (2005), uma vez que as repetições foram coletadas de forma a abranger toda a

Quadro 2 - Resultados da avaliação da densidade total de bactérias heterotróficas nos diferentes pontos de coleta

Ponto de coleta*	Amplitude		Desvio Padrão	Variância
	Média	(menor-maior valor)		
	----- UFC mL ⁻¹ -----			
P1	360,0	280,0-416,6	58,2	5077,3
P2	757,8	630,0-990,0	164,5	40581,8
P3	1397,8	1293,3-1476,7	77,0	8892,3
P4	4337,8	3880,0-4996,7	477,5	342067,3
P5	873,3	1153,3-1376,7	66,7	8888,4

* Onde: P1 – Ponto 1 Rio Itajubá, P2 – Ponto 2 Cachoeira Gonçalves, P3 – Ponto 3 Cachoeira Brasópolis, P4 – Ponto 4 Cachoeira Maria da Fé e P5 – Ponto 5 Rio Wenceslau Braz

área utilizada para recreação. Tanto a cachoeira de Gonçalves (P2) como a cachoeira de Maria da Fé (P4) são extensas, com ambientes variando de corredeira a piscinas naturais, o que explica a variação na densidade de bactérias heterotróficas encontradas em cada réplica. A cachoeira de Brasópolis (P3) possui um curso d'água estreito e pouca variação de ambientes, assim como os rios, o que explica a maior homogeneidade dos dados amostrados entre as réplicas.

Considerando o total de 131 isolados bacterianos que foram submetidos ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos, verificou-se que 77,9% dos isolados foram resistentes à penicilina, 54,2% à amoxicilina, 38,2% à eritromicina, 36,6% à ampicilina e 35,9% à vancomicina e 16,0% a rifampicina. Segundo Gangle (2005), com o uso excessivo da penicilina, desde sua descoberta em 1928, houve um aumento nos padrões de resistência, o que pode ser exemplificado pelo aumento de menos de 1% de cepas resistentes de *Staphylococcus aureus*, em meados de 1930, para 90% das cepas isoladas em hospitais, em 2005. Segundo o mesmo autor, o alto índice de resistência à penicilina, ampicilina e amoxicilina é preocupante devido à alta diversidade de microrganismos patogênicos serem resistentes a tais drogas, tais como *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Salmonella* spp., *Vibrio* spp. e algumas linhagens patogênicas de *Escherichia coli*, todas envolvidas em doenças relacionadas ao trato gastrointestinal. Alta resistência bacteriana à penicilina, azitromicina, ampicilina e gentamicina também foi observada por Resende et al. (2012) em aquicultura e por Nuñez et al. (2012), em efluentes domésticos, aumentando o risco sanitário.

Segundo Brasil (2010), a penicilina, assim como seus derivados, ampicilina e amoxicilina, são antimicrobianos pertencentes ao grupo do β-lactâmicos, bactericidas que possuem como mecanismo de ação a interferência na síntese da parede celular bacteriana. Um fator preocupante encontrado no presente estudo, nos diferentes pontos de coleta, foi além da observação de alto índice de resistência aos antimicrobianos do grupo dos

β -lactâmicos, a observação de isolados resistentes também à eritromicina, pertencente ao grupo dos macrolídeos que, diferentemente dos β -lactâmicos, possui amplo espectro de ação, atuando na síntese de proteína, podendo ser bactericida ou bacteriostático, dependendo das concentrações indicadas. Essa relação entre as duas classes de antimicrobianos pode ser dada pelo uso alternativo da eritromicina em pacientes alérgicos à penicilina, sendo ambos utilizados para o mesmo tipo de infecções.

Outra observação a ser feita é o comportamento de resistência/sensibilidade aos antimicrobianos rifampicina (16,0%) e vancomicina (35,9%). A vancomicina é um antimicrobiano do grupo dos glicopeptídeos, possui atividade contra microrganismos gram-positivos, ação bactericida, atuando na inibição da biossíntese da parede celular, alterando a permeabilidade da membrana e a síntese de RNA microbiano (ANVISA, 2008a; Brasil, 2010). Como sua única forma de apresentação é como infusão intravenosa, seu uso é restrito a hospitais no tratamento de infecções consideradas sérias (ANVISA, 2008a). A rifampicina, por sua vez, é um antimicrobiano macrocíclico complexo, bactericida, que inibe a síntese de RNA, de uso restrito a tratamentos de tuberculose e hanseníase (ANVISA, 2008b). A observação de isolados resistentes a tais antimicrobianos não era esperado, uma vez que não há resistência cruzada entre vancomicina e outras classes de antimicrobianos (ANVISA, 2008a) e, mesmo sendo de uso restrito e/ou controlado, apresentaram uma grande quantidade de cepas resistentes, sendo 21 cepas resistentes a rifampicina e 47 resistentes a vancomicina.

Os resultados obtidos estão de acordo com aqueles observados por Vignesh et al. (2012), em estudo com microrganismos isolados de diferentes ambientes costeiros de recreação, onde as maiores resistências foram observadas nos grupos dos glicopeptídeos (VAN), β -lactâmicos (PEN, AMO, AMP) e macrolídeos (ERI), enquanto as menores taxas de resistência foram encontradas nos grupos da tetraciclina (TET), aminoglicosídeos (GEN), quinolonas (CIP) e anfenicol (CLO).

No estudo realizado por Halling-Sorensen (1998), foi observado que a resistência à eritromicina, cloranfenicol e tetraciclina foi limitada a locais contaminados por esgoto doméstico. No presente estudo, não foi encontrado isolado resistente a cloranfenicol em nenhum dos pontos amostrados. No entanto,

foram obtidos três isolados resistentes à tetraciclina e todos os pontos apresentaram isolados resistentes à eritromicina. Estudo mais recente desenvolvido por Watkinson et al. (2009) sugere que em locais onde foi observada uma maior quantidade de bactérias resistentes haveria uma maior descarga de efluentes com antibióticos.

Microrganismos multirresistentes apresentam grande importância na saúde pública por tornar cada vez mais difícil o tratamento de doenças infecciosas. A porcentagem de isolados sensíveis e resistentes a antimicrobianos, de cada ponto de amostragem, é mostrada na figura 1. É possível observar que para os cinco pontos amostrados, mais de 40% dos isolados foram resistentes a três ou mais antimicrobianos, sendo que no P3 esse número chega a mais de 70%.

Se considerar todos os isolados selecionados, tem-se que 56% dos isolados foram considerados multirresistentes (resistência a mais de três antibióticos), 34% resistentes a um ou dois antibióticos e somente 10% foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados. O resultado obtido para as áreas de recreação de água doce foram mais críticos do que os 30% encontrados em estudo semelhante desenvolvido em águas de recreação marinha (MUDRYK, 2005).

Os altos índices de bactérias multirresistentes encontradas podem ser explicados pelo período em que foram realizadas as coletas, entre os meses de fevereiro e março. Durante os meses de verão há um aumento na observação de isolados multirresistentes no ambiente devido ao aumento do aporte alóctone, tanto pelo aumento na frequência de turistas, quanto pela maior quantidade de chuvas (LOBOVA et al., 2002).

Essa alta densidade de bactérias multirresistentes observada pode ser considerada alarmante, uma vez que, em contato com o organismo, tais isolados, mesmo não sendo patógenos potenciais ou oportunistas, podem ter condições de se estabelecerem no organismo e, dessa forma, transferirem genes de resistência à microflora comensal ou possíveis patógenos causadores de infecção (SOMMER; DANTAS, 2011).

Outro aspecto preocupante é a capacidade de bioacumulação de genes de resistência e contaminação ambiental, conforme apresentado em estudo de Barkovskii et al. (2012), os quais verificaram a presença de genes de resistência à tetraciclina

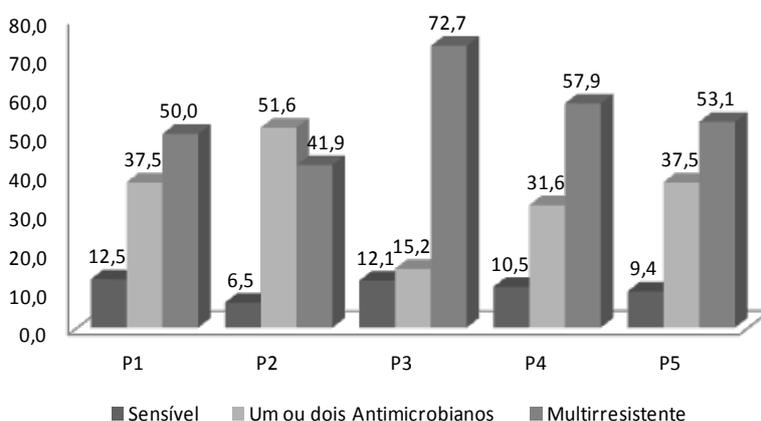


Figura 1 - Porcentagem de isolados sensíveis e resistentes a antimicrobianos, de cada ponto de amostragem

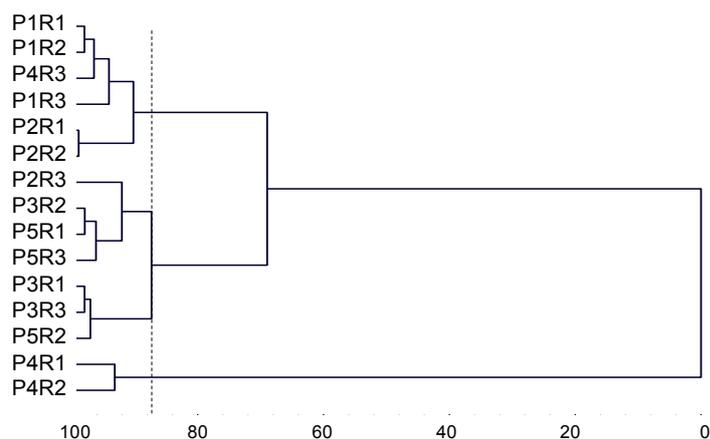


Figura 2 - Dendrograma de similaridade entre as três repetições (R1, R2 e R3) de cada ponto de coleta (P1, P2, P3, P4 e P5), construído por meio do seu padrão de resistência aos antimicrobianos analisados. A linha tracejada indica a separação dos grandes grupos com aproximadamente 90% de similaridade

em ostras estuarinas, mesmo quando a análise da composição da coluna d'água revelou resultados negativos para a presença de tetraciclina. Segundo os autores, a capacidade das ostras de bioacumular algumas espécies de microrganismos (como *Pseudomonas* e *Aeromonas sp.*) pode ser revertida dependendo das alterações de temperatura e salinidade, podendo ser considerada como sumidouro ou fonte de disponibilidade de genes de resistência em ambientes estuarinos.

O resultado da análise de agrupamento abordando os padrões de resistência dos isolados para cada ponto de coleta pode ser visto na Figura 2. Confirma-se a grande semelhança de comportamento observada entre os padrões de resistências aos diferentes antimicrobianos pelos isolados obtidos de todos os pontos, com formação de três grandes grupos com aproximadamente 90% de similaridade. Esse resultado confirma o alto índice de contaminação das águas de recreação por agentes de resistência diferentes, como os antibióticos estudados, mesmo em condições locais distintas, como os rios e cachoeiras ora avaliados.

O alto índice de bactérias multirresistentes nas águas de recreação contraria o que se esperava após a Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº20/2011, onde a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) passou a controlar a venda de antibióticos, dificultando o seu uso indiscriminado e irresponsável, o que desfavoreceria a entrada no ambiente e surgimento de novas populações de microrganismos resistentes. Porém, ainda não há controle no uso de antibióticos na medicina preventiva, tanto na aquicultura como na agropecuária, sendo, muitas vezes, acrescentados à ração para prevenir doenças.

No entanto, nem agências internacionais como a Agência de Proteção Ambiental (EPA, 1986) nos EUA e nem a Comissão Europeia para qualidade de águas recreacionais (EC, 1994) utilizam bactérias heterotróficas e/ou sua resistência a antibióticos no monitoramento dessas águas. Ambas fazem uso de bactérias relacionadas ao grupo coliforme (fecais e *E. coli*) e enterococos intestinais no monitoramento, com frequências de amostragem variáveis em função do uso das áreas pelos banhistas.

Portanto, a presença de um grande número de isolados

de bactérias heterotróficas apresentando múltipla resistência em amostras de águas utilizadas para recreação é preocupante para a saúde pública internacional, por ser uma forma de disseminação de genes de resistência entre bactérias ambientais, alóctones e simbiontes de animais e seres humanos.

Sugere-se que estudos futuros abordem a relação entre bactérias heterotróficas e a contaminação ambiental por antibióticos ou genes de resistência, de modo que essa variável possa ser considerada em análises recomendadas em futuras portarias de balneabilidade e também de potabilidade.

CONCLUSÕES

A grande maioria dos isolados bacterianos apresenta alta resistência à penicilina (77,9%), amoxicilina (54,2%), eritromicina (38,2%), ampicilina (36,6%), vancomicina (35,9%) e rifampicina (16,0%), e nenhum foi resistente ao cloranfenicol.

Considerando todos os isolados, 56% são considerados multirresistentes (resistência a mais de três antibióticos), 34% resistentes a um ou dois antibióticos e somente 10% sensíveis a todos os testados.

Há uma homogeneidade no padrão de resistência dos isolados, independentemente do ponto de coleta. Esse comportamento homogêneo quanto ao padrão de resistência é preocupante uma vez que indica um alto índice de contaminação das águas de recreação por agentes de resistência diferentes, mesmo em condições locais distintas, como os rios e cachoeiras avaliados.

AGRADECIMENTOS

À Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de mestrado concedida à primeira autora, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), pelo apoio.

REFERÊNCIAS

- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde. *Registro de antibióticos do Brasil Ltda*. Revisão: Agosto, 2008a. Disponível em: <[http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM\[26312-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM[26312-1-0].PDF)>. Acesso em: 27 jan., 2013.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde. *Fundação para o remédio popular – FRUP*. Governo do Estado de São Paulo, 2008b. Disponível em: <[http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM\[25632-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM[25632-1-0].PDF)>. Acesso em: 27 jan., 2013.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde. Dispõe sobre o controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos, de uso sob prescrição, isoladas ou em associação, 2011. Disponível em: <http://www.uberlandia.mg.gov.br/uploads/cms_b_arquivos/5930.pdf>. Acesso em: 27 jan., 2013.
- APHA - American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20.ed. APHA, AWWA, WEF, 1999. 1120p.
- BARKOVSKII, A. L.; THOMAS, M.; HURLEY, D.; TEEMS, C. Environmental factors responsible for incidence of antibiotic resistance genes in pristine *Crassostrea virginica* reefs. *Marine Pollution Bulletin*.v. 64, p. 2692-2698, 2012.
- BENNETT, P.M. Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *British Journal of Pharmacology*, v.153, p.s347-s357, 2008.
- BRASIL.MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria da Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. *Formulário Terapêutico Nacional 2010. Renome 2010*. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. 2.ed. Brasília, DF, 2010. 1140 p.
- CASTRO, A. M. V.; QUEIROZ, A. L. M.; ARAÚJO, E. L. B.; NASCIMENTO, G. S. M.; JESUS, I. A.; VASCONCELOS, M. A. A.; CABRAL, T. M. A.; NASCIMENTO, G. G. *Parâmetros microbiológicos de águas de rios coletadas em alguns municípios da Paraíba*. ENCONTRO DE INICIAÇÃO A DOCÊNCIA, 10, UFPB – 2007. Disponível em:<<http://www.prac.ufpb.br/anais/IXEnex/iniciacao/documentos/anais/7.TECNOLOGIA/7CTDTQAMT01.pdf>> Acesso em: 02out., 2013.
- CAUMO, K.; DUARTE, M.; CARGIN, S.T.; RIBEIRO, V.B.; TASCA, T.; MACEDO, A.J. Resistência bacteriana no meio ambiente e implicações na clínica hospitalar. *Revista Liberato*, v.11, n.16, p.89-188, jul./dez. 2010.
- CETESB. Norma técnica L5.201, de janeiro de 2006. *Contagem de bactérias heterotróficas: método de ensaio*. São Paulo, 2006. 14p.
- CONAMA. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 274, de 29 de novembro de 2000. Define os critérios de balneabilidade em águas brasileiras. *DOU*. nº 18, de 25 de janeiro de 2001, . Ministério do Meio Ambiente, 2000. Seção 1, p. 70-71
- DAVIS, J. Another look at antibiotic resistance. *Journal of General Microbiology*,v. 138 p.1553-1559, 1992.
- DOREVITCH, S.; PANTHI, S.; HUANG, Y.; LI, H.; MICHALEK, A. M.; PRATAP, P.; WROBLEWSKI, M.; LIU, L.; SCHEFF, P. A.; LI, A. Water ingestion during water recreations. *Water Research*, v. 45, p. 2020–2028, 2011.
- EC - EUROPEAN COMMISSION. Proposal for a council directive concerning the quality of bathing water. Document COM (94) 36, final, commission of European communities, Brussels, 1994.
- EPA – ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Ambient Water Quality Criteria for Bacteria - 1986. EPA 440/5-84-002; EPA Office of water, DC, USA, 1986.
- GANGLE, B.J. *Sources and occurrence of antibiotic resistance in the environment*. 2005. 125 f. Thesis (Master of Science) - Faculty of the Graduate School of the University of Maryland, College Park, 2005.
- HALLING-SORENSEN, B.J.; NIELSEN, S.N.; LANZKY, P.F.; INGERSLEV, F. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – A Review. *Chemosphere*, v. 36, p.357-393, 1998.
- LOBOVA, T.I.; BARKHATOV, Y.V.; POPOVA, L.Ye. Antibiotic resistance of heterotrophic bacteria in Shira Lake: natural and anthropogenic impacts. *Aquatic Microbiology and Ecology*, v. 30, p.11-18, 2002.
- MS. MINISTÉRIO DA SAÚDE. 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. *DOU* de 14/12/2011 (nº239, Seção 1, pag. 39). Ministério da Saúde, Gabinete do Ministro. 2011.
- MUDRYK, Z.J. Occurrence and distribution antibiotic resistance of heterotrophic bacteria isolated from a marine beach. *Marine Pollution Bulletin*, v. 50, p.80-86, 2005.

- NCCLS. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, 8. ed., v. 23, n.1, 2003.
- NUÑEZ, L.; TORNELLO, C.; PUENTES, N.; MORETTON, J. Bacterias resistentes a antibióticos em águas grises como agentes de risco sanitário. *Revista Ambiente & Água*, v.7, n.1, 2012.
- OLIVEIRA, A. J. F. C.; FRANÇA, P. T. R.; PINTO, A. B. Antimicrobial resistance of heterotrophic marine bacteria isolated from seawater and sands of recreational beaches with different organic pollution levels in southeastern Brazil: evidences of resistance dissemination, *Environmental Monitoring Assess*, v. 169, p. 375–384, 2010.
- RESENDE, J.A.; SILVA, V.L.; FONTES, C.O.; SOUZA-FILHO, J.A.; OLIVEIRA, T.L.R.; COELHO, C.M.; CÉSAR, D.E.; DINIZ, C.G. Multidrug-resistance and toxic metal tolerance of medically importante bactéria isolated from na aquaculture system. *Microbes and Environments*, v.27, n.4, p.449-455, 2012.
- RIBEIRO, C. M.; BEZ-BATTI, E. C.; YAMANE, A. T.; FILA, A. E.; BRUZAMOLIN, R. H.; PASTORIO, S. C.; CHIAMOLERA, L.; FREITAS-LIDANI, K. C. Análise microbiológica do Rio Belém, Curitiba – PR. *Cadernos da escola de saúde*, v. 02, p.1-11,2009.
- SILVA, S. M.; CARVALHO, L.; QUEROL, E.; QUEROL, M. V.; GONÇALVES, J. F. Aspectos microbiológicos do arroio Salso de Cima e Rio Uruguai, na região urbana de Uruguaiana, RS, Brasil, *Biodiversidade Pampeana*, v. 6, n.1, p. 34–39, 2008.
- SOMMER, M. O. A.; DANTAS, G. Antibiotics and the resistant microbiome. *Current Opinion in Microbiology*, v. 14, p. 1 – 8, 2011.
- SVARA, F.; RANKIN, D.J. The evolution of plasmid-carried antibiotic resistance. *BMC Evolutionary Biology*, v.11, n.130, 2011.
- TERRA, V. R.; PRATTE-SANTOS, R.; ALIPRANDI, R. B.; BARCELOS, F. F.; AZEVEDO Jr, R. R.; BARBIÉRI, R. S. Avaliação microbiológica das águas superficiais do rio Jucu Braço Sul, ES, Brasil, *Natureza online*, v. 6, n. 1, p. 48-52, 2008.
- TOPRAK, E.; VERES, A.; MICHEL, J.B.; CHAIT, R.; HARTL, D.L.; KISHONY, R. Evolutionary paths to antibiotic resistance under dynamically sustained drug stress. *Nature Genetics*, v.44, n.1, p.101-105, 2013.
- VIGNESH, S.; MUTHUKUMAR, K.; JAMES, R. A. Antibiotic resistant pathogens versus human impacts: A study from three eco-regions of the Chennai coast, southern India. *Marine Pollution Bulletin*, v. 64, p. 790-800, 2012.
- YURTSEV, E.A.; CHAO, H.X.; DATTA, M.S.; ARTEMOVA, T.; GORE, J. Bacterial cheating drives the population dynamics of cooperative antibiotic resistance plasmids. *Molecular Systems Biology*, v.9, n. 683, p. 1-7, 2013.
- WATKINSON, A. J.; MURBY, E. J.; KOLPIN, D.W.; COSTANZO, S. D. The occurrence of antibiotics in an urban watershed: From wastewater to drinking water. *Science of the Total Environment*, n. 407, p. 2711 - 2723.

Microbiological Evaluation of the quality of Water in Recreation Areas by Analysis of the Resistance of Heterotrophic Bacteria to Antibiotics

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the antimicrobial resistance of heterotrophic bacteria isolated from recreation areas in southern Minas Gerais through the resistance of heterotrophic bacteria (usually only quantified) to different antibiotics. Among the total number of isolated strains obtained from the Plate Count Agar culture medium 77.8% were resistant to penicillin and 56% were resistant to at least three antibiotics (multidrug resistant or superbug) and 10% were sensitive to all antibiotics tested. These results indirectly show the large presence of antimicrobials in the water of the recreation areas that were studied and the need to study the possible impacts on public health.

Keywords: *Antimicrobial resistance. Heterotrophic bacteria. Multiresistant bacteria. Superbug.*