

Avaliação da resistência microbiana de enterobactérias isoladas a partir de água da praia em São José de Ribamar – MA

Evaluation of microbial resistance of enterobacteria isolated from beach water in São José de Ribamar - MA

Evaluación de la resistencia microbiana de enterobacterias aisladas de agua de playa en São José de Ribamar – MA

Recebido: 25/06/2022 | Revisado: 12/07/2022 | Aceito: 17/07/2022 | Publicado: 24/07/2022

Rafaella de Oliveira Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9446-1224>
Universidade CEUMA, Brasil
E-mail: rafa.300199@gmail.com

Fernanda Oliveira dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7794-8735>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: nanda.veirantos1@gmail.com

Érica Silva Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4422-4378>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: ericoliver.eo36@gmail.com

Nádia Barbosa da Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5310-5311>
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, Brasil
E-mail: nadya152009@hotmail.com

Mikaelly Moanny Ramalho da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0621-8564>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: mikaellymoanny@gmail.com

Anna Paula Silva da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1146-2051>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: anna.pss@discente.ufma.br

Jéssika Patrícia Serejo Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2823-8531>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: jessika.costa@discente.ufma.br

Adenilde Nascimento Mouchrek

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3270-1437>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: adenil@bol.com.br

Amanda Mara Teles

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5068-4696>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: damarateles@hotmail.com

Resumo

Este estudo teve por objetivo avaliar a qualidade bacteriológica da água da praia de São José de Ribamar - MA nos períodos seco e chuvoso. A partir destas amostras, foram isoladas e identificadas espécies da família Enterobacteriaceae, as quais foram avaliadas quanto à sua resistência frente à antibióticos comerciais. As amostras de água foram coletadas em três pontos da praia e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Federal do Maranhão para realização das análises microbiológicas. Além de medidas de pH e salinidade, a identificação das enterobactérias foi realizada conforme a metodologia descrita em APHA – Standard Methods for the examination of Water and Wastewater. Estes microrganismos foram submetidos aos antibióticos convencionais utilizando-se o método de difusão em discos (MDD): ampicilina (AMP, 10 µg), gentamicina (GEN, 10 µg), cloranfenicol (CLO, 30 µg) e ácido pipemídico (PIP, 30 µg). Através dos testes bioquímicos, foi possível identificar 11 espécies de enterobactérias, entre as quais houve predominância percentual da *Escherichia coli*, em ambos os períodos do ano avaliados. Os resultados dos ensaios de MDD mostraram que apenas a espécie *Citrobacter*

koseri se mostrou sensível a todos os antibióticos avaliados. Além disso, também foi possível constatar que é todas as bactérias demonstraram perfil antimicrobiano sensível ao Cloranfenicol. Tendo em vista a presença de espécies da família Enterobacteriaceae nas amostras avaliadas, observar-se contaminação significativa na praia de São José de Ribamar.

Palavra-chave: Água de praia; Contaminação; Antibióticos.

Abstract

This study aimed to evaluate the bacteriological quality of the water of the beach of São José de Ribamar / MA in the dry and rainy periods, the species of the family *Enterobacteriaceae* in the water were also identified, verifying their resistance against commercial antibiotics. The water samples were collected at three points on the beach and sent to be analyzed at the Laboratory of Food and Water Microbiology at the Federal University of Maranhão. Identification of *Enterobacteriaceae* was performed, according to the methodology described in APHA - Standard Methods for the examination of Water and Wastewater. Ph and salinity measurements being submitted to conventional antibiotics ampicillin (AMP, 10 µg), gentamicin (GEN, 10 µg), chloramphenicol (CLO, 30 µg) and pipemidic acid (PIP, 30 µg)), where the method of disk diffusion. PH and salinity measurements were also carried out. Through biochemical identification, 11 species were presented and *Escherichia coli* was observed in a higher percentage in both periods. In addition, through MDD, the species *Citrobacter koseri* was the only one that showed sensitivity to all antibiotics and all bacteria showed an antimicrobial profile sensitive to chloramphenicol. According to the species found, significant contamination can be observed on the beach of São José de Ribamar.

Keyword: Beach water; Contamination; Antibiotics.

Resumen

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la calidad bacteriológica del agua de la playa de São José de Ribamar / MA en los períodos secos y lluviosos, también se identificaron las especies de la familia *Enterobacteriaceae* en el agua, verificando su resistencia frente a antibióticos comerciales. Las muestras de agua se recolectaron en tres puntos de la playa y se enviaron para ser analizadas en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Agua de la Universidad Federal de Maranhão. La identificación de *Enterobacteriaceae* se realizó, de acuerdo con la metodología descrita en APHA - Métodos estándar para el examen de agua y aguas residuales. Las mediciones de pH y salinidad se someten a antibióticos convencionales ampicilina (AMP, 10 µg), gentamicina (GEN, 10 µg), cloranfenicol (CLO, 30 µg) y ácido pipemídico (PIP, 30 µg)), donde el método de difusión en disco. También se realizaron mediciones de pH y salinidad. Mediante identificación bioquímica se presentaron 11 especies y se observó *Escherichia coli* en mayor porcentaje en ambos períodos. Además, a través de MDD, la especie *Citrobacter koseri* fue la única que mostró sensibilidad a todos los antibióticos y todas las bacterias mostraron un perfil antimicrobiano sensible al cloranfenicol. Según las especies encontradas, se puede observar una contaminación significativa en la playa de São José de Ribamar.

Palabras clave: Água de praia; Contaminación; Antibióticos.

1. Introdução

A água é um recurso de extrema importância para os seres humanos e, a sua qualidade, bem como os nutrientes que dela podem advir precisam ser sempre estudados. Paula et al. (2022) relatam em seus estudos que há a necessidade de haver monitoramento de meios desta natureza, mesmo que em zonas urbanas ou afastadas da sociedade. Isto é preciso devido a facilidade que a água tem de ser contaminada por microrganismos patogênicos. Todavia, a qualidade deste meio hídrico varia, visto que ela é usada em uso populacional, agricultura, entre outras atividades humanas e, cada um tem a sua limitação quanto a possibilidade de presença bacterianas.

De acordo com a CONAMA nº 274, as águas são consideradas impróprias, dentre outros fatores quando não atender aos critérios básicos de águas próprias e, além disso, possuírem valores superiores a 2500 coliformes fecais (termotolerantes) ou 2000 *Escherichia coli* ou 400 enterococos por 100 mililitros (Brasil, 2001). O problema da poluição de recursos hídricos, como o mar, torna-se cada vez mais preocupante devido a, uma vez poluído, acarretam prejuízos de característica ambiental e humano. É um problema de saúde pública.

O estado do Maranhão é caracterizado por ser cercado pelo oceano Atlântico. Estima-se que 641 quilômetros são de costa litorânea pelo estado e, que possuem diversas atividades turísticas, financeira e demais atividade. Há uma intensa circulação de pessoas nos locais costeiros à praia e, isto gera intenso podendo gerar grande amontoamento de lixo e líquidos sem qualquer tratamento prévio (Freitas et al., 2020).

Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo analisar e avaliar a resistência microbiana de enterobactérias isoladas a partir de água da praia em São José de Ribamar – MA, uma cidade situada à 30 quilômetros da capital maranhense, São Luís. A avaliação da qualidade bacteriológica da água da praia de São José de Ribamar-MA foi realizada nos períodos secos e chuvosos, identificando bioquimicamente as espécies da família *Enterobacteriaceae* na água e verificando a resistência dessas frente à antibióticos comerciais.

2. Metodologia

Durante um período de dez meses, foram analisadas sessenta amostras de água coletadas na praia de São José de Ribamar – MA, a fim de se verificar o efeito de sazonalidade na sua qualidade microbiológica.

2.1 Coleta das Amostras

As coletas foram realizadas levando-se em consideração as áreas de maior possibilidade de contaminação. A área de coleta foi subdividida em três pontos: *i*) em frente a uma galeria pluvial, responsável pelo despejo da água das ruas, oriunda de residências, bares e restaurantes; *ii*) nas proximidades do lançamento de esgoto *in natura* oriundo de localidades próximas e; *iii*) na área de maior fluxo de banhistas, localizada próxima a casas, bares e restaurantes, tendo como fontes poluidoras lixo, canais de drenagem e outros detritos. Após a coleta, as amostras foram assepticamente acondicionadas em caixas isotérmicas e transportadas, imediatamente, ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Todas as análises foram realizadas conforme as técnicas recomendadas pelo *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods – APHA*.

2.2 Análises microbiológicas

2.2.1 Isolamento e identificação das enterobactérias

Para o isolamento e identificação de enterobactérias nas amostras de água, inicialmente, 25 mL de cada uma das amostras coletadas foram homogeneizadas em 225mL de Caldo Infusão de Cérebro e Coração (Caldo BHI) e incubada em estufa bacteriológica a 37 °C por 3 h. Este caldo proporciona a recuperação das condições fisiológicas do microrganismo e estimula a produção enzimática aumentando o potencial patogênico. Após o período de incubação, 25 mL foram transferidos para 225 mL de Caldo *Escherichia coli* (Caldo E.C.) e incubado a 37 °C por 24 h. O isolamento foi realizado em meio seletivo e diferencial, Ágar Eosina Azul de Metileno (Ágar EMB).

Para a identificação das espécies de enterobactérias, inicialmente, foram selecionadas três colônias típicas nos meios de cultura seletivos, ou seja, colônias com aspecto de brilho metálico esverdeadas ou negras no Ágar EMB. Em seguida, as colônias foram semeadas em Ágar Tripton de Soja (Ágar TSA) e incubadas a 37 °C por 24 h, de acordo com a metodologia proposta por Kornacki e Johnson (2001).

A identificação dos microrganismos isolados foi realizada utilizando-se os testes bioquímicos convencionais: indol, citrato de Simmons, vermelho de metila (VM), produção de acetoina (Vogues-Proskauer - VP), malonato, fermentação de carboidratos (manitol, arabinose e xilose), descarboxilação do aminoácido lisina, motilidade e produção de H₂S em Ágar SIM (Apha, 2001).

2.2.2 Avaliação do perfil antimicrobiano das bactérias frente a antibióticos convencionais

Para avaliação do perfil antimicrobiano, as cepas isoladas e identificadas foram repicadas em caldo de tripton de Soja (TSB) e incubadas a 37 °C por 24 h. Após esse período, as culturas tiveram sua densidade celular ajustada com água estéril, de

modo a se obter uma suspensão microbiana com a turbidez comparável a solução padrão de 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹) de acordo com as normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (Clsi, 2015).

As suspensões microbianas foram testadas frente a antimicrobianos comerciais com concentração definidas: ampicilina (AMP, 10 µg), gentamicina (GEN, 10 µg), Cefalotina (CFL, 20 µg) e tetraciclina (TET, 30 µg). Neste ensaio, foi adotado o método de difusão de disco (MDD), que consiste na aplicação do inóculo da suspensão bacteriana em placas de Petri contendo Ágar Mueller Hinton (AMH), utilizando-se um swab estéril. Após esta etapa, discos com antibióticos são distribuídos nas placas com o auxílio de uma pinça esterilizada (Bauer, 1966). As placas foram, então, incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por 24 h. Cada um dos ensaios foi realizado em triplicata, de modo que os diâmetros dos halos de inibição foram mensurados incluindo-se o diâmetro dos discos contendo o antibiótico (Clsi, 2015).

2.3 Análises Físico-Químicas

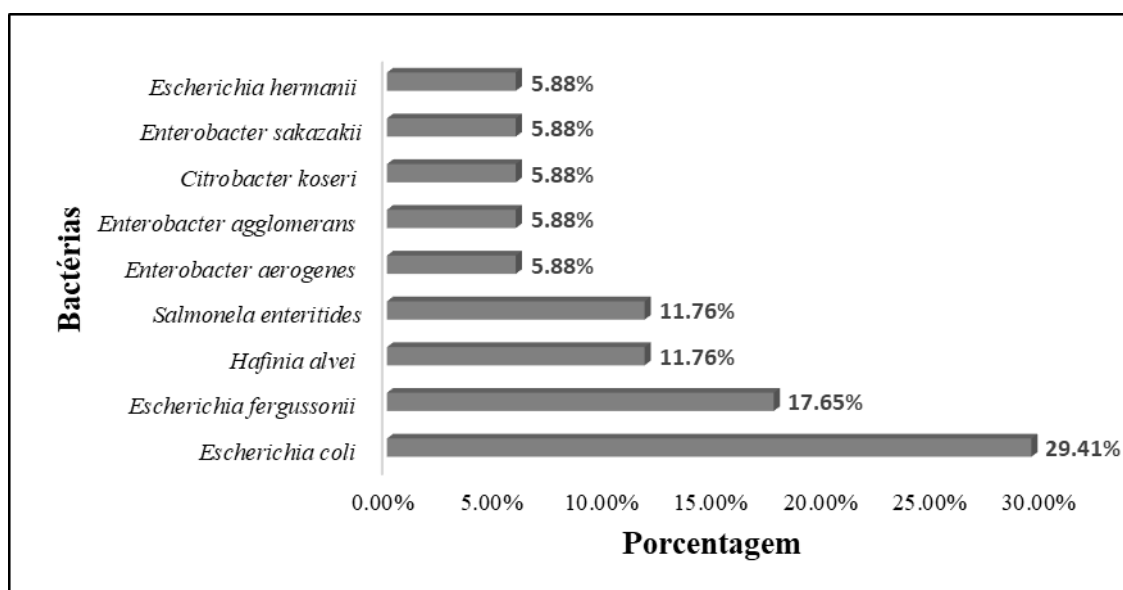
As análises físico-químicas para a determinação do pH foi realizada triplicata, utilizando-se um medidor de pH (modelo mPA210 da marca MS Tecnocon, método 017/IV), de acordo; com as diretrizes do Manual de Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz (Ial, 2008).

A análise de salinidade foi realizada através da quantificação de íons cloreto por volumetria de precipitação, usando o dicromato de potássio (K₂CrO₄) como indicador e solução de nitrato de prata (AgNO₃) como titulante, conforme estabelecido pelo método de Mohr.

3. Resultados e Discussão

Foram identificadas durante as análises laboratoriais, dezessete cepas de espécies da família *Enterobacteriaceae* no primeiro ponto de amostragem, conforme verificado na Figura 1.

Figura 1. Enterobactérias isoladas e identificadas a partir da água da praia de banho de São José de Ribamar - MA (Ponto 1 – Período seco).



Fonte: Autores (2020).

Os dados permitem observar a predominância da espécie *E. coli* em relação às demais enterobactérias isoladas no ponto de coleta 1, representando quase um terço dos microrganismos identificados.

Apesar da predominância da *E. coli*, a presença do gênero *Salmonella* entre os microrganismos identificados também merece destaque, uma vez que bactérias deste gênero também atuam como indicadores de qualidade sanitária. Alguns animais homeotermos podem excretar *Salmonella* através das fezes que, por sua vez, pode vir a contaminar águas, solo e, até mesmo, outros animais que servem alimento para o ser humano.

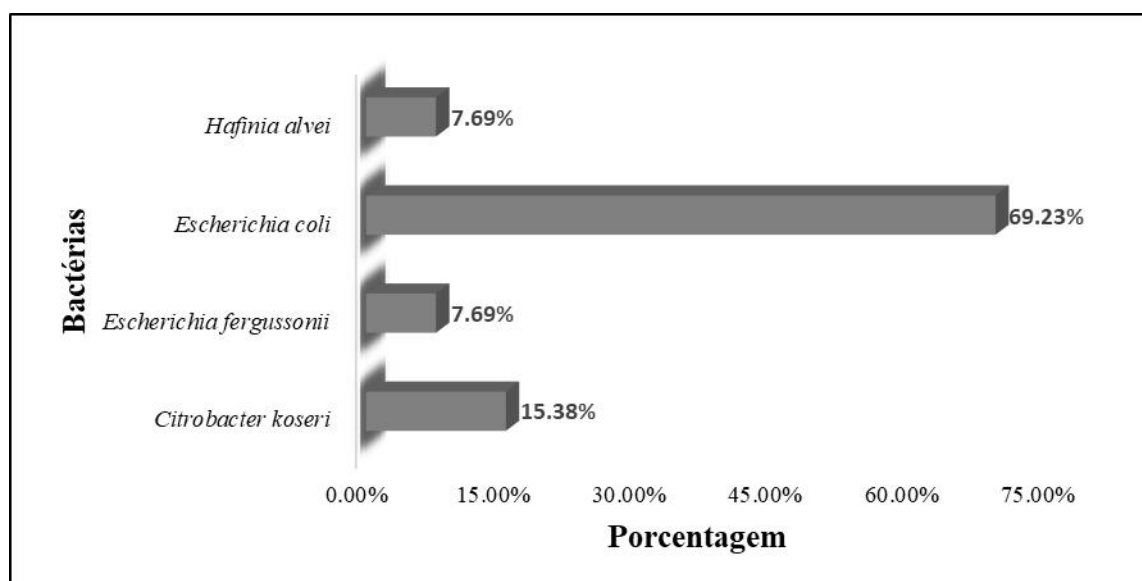
Os dados da Figura 1 revelam que cepas da espécie *Salmonella enteritidis* representam 11,76% das bactérias isoladas a partir das amostras de água do ponto 1, um percentual que, apesar de pequeno, despertam um alerta para a qualidade da água marinha da cidade de São José de Ribamar - MA. Diversas pesquisas relatam a incidência de *Salmonella* em alimentos de origem marinha, alertando para o perigo potencial desses patógenos como causadores de gastroenterites em humanos induzida pelo consumo de alimentos contaminados (Cheng et al., 2008; Asai et al., 2008; Carvalho et al., 2009).

Em se tratando de saúde pública, deve-se atentar não apenas para o potencial da água do mar de atuar como veículo de transmissão de doenças hídricas aos banhistas (gastroenterite, hepatite A, cólera, febre tifoide, entre outras), mas, também, para a contaminação dos alimentos provenientes do mar. Os mariscos e mexilhões podem transformar-se em veículos de contaminação, já que estes organismos filtram uma grande quantidade de água, resultando na bioacumulação de bactérias e vírus presentes na água do mar.

Embora a severidade das doenças provocadas por *Salmonella* seja dependente da virulência da estirpe e das condições do hospedeiro humano, a presença destes microrganismos é um fator preocupante, uma vez que a cidade em questão faz parte do polo turístico da ilha de Upaon-Açu, sendo bastante famosa pela culinária rica em pescados e frutos do mar.

No que se refere ao ponto 2 de amostragem, foram isoladas e identificadas treze cepas de enterobactérias, conforme apresentado no gráfico da Figura 2. Ainda que a quantidade de cepas e a variedade de espécies identificadas tenham se mostrado menor em relação ao ponto 1 de amostragem, os dois pontos são acometidos pelo mesmo tipo de contaminação, uma vez que foi constatada a presença dos mesmos microrganismos.

Figura 2. Enterobactérias isoladas e identificadas a partir da água da praia de banho de São José de Ribamar - MA (Ponto 2 – Período seco).



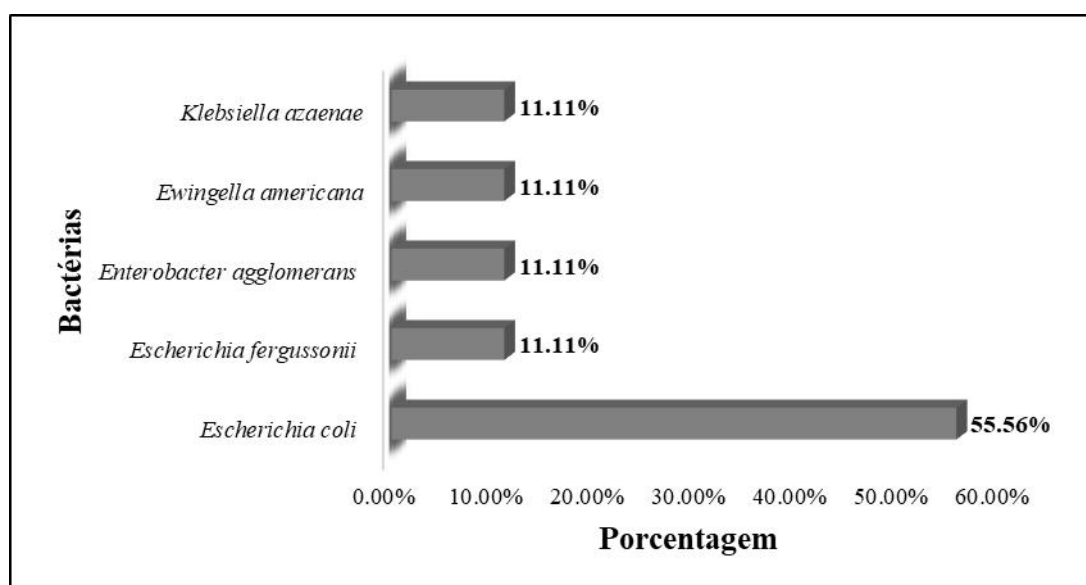
Fonte: Autores (2020).

Chama-se aqui atenção para a predominância da *E. coli* em relação às demais espécies identificadas, representando quase 70% do total de cepas avaliadas. A presença deste bioindicador de poluição fecal em maior percentual sugere uma região de maior contaminação, dada o despejo de esgoto em tratamento adequado no ponto 2.

Enterobactérias, ente elas a *E. coli*, representam um dos principais indicadores sanitários, podendo ocorrer em água do mar como resultado de contaminação fecal em decorrência da poluição humana, onde estes micro-organismos podem sobreviver durante um longo período, comprometendo a qualidade bacteriológica do ambiente (Huss, 1997).

A partir das amostras de água coletadas no terceiro ponto de amostragem, foram isoladas e identificadas nove cepas, distribuídas em cinco espécies diferentes, conforme apresentado no gráfico da Figura 3.

Figura 3. Enterobactérias isoladas e identificadas a partir da água da praia de banho de São José de Ribamar - MA (Ponto 3 – Período seco).



Fonte: Autores (2020).

Além dos microrganismos encontrados nos demais pontos avaliados, foi possível constatar a presença da *Ewingella americana*. Apesar da indefinição deste microrganismo como um patógeno real ou um agente infeccioso oportunista, existem relatos recentes da literatura quanto a casos de infecções envolvendo a *E. americana* (Esposito et al., 2019; Meisler et al., 2020; Hassan et al., 2012).

Nesta pesquisa foi encontrada uma diversidade de enterobactérias, as quais podem ser encontradas na natureza ou podem fazer parte da microbiota do intestino de animais. A *E. coli*, no entanto, é um tipo de enterobactéria exclusiva do trato intestinal de animais de sangue quente, não tendo como habitat natural o ambiente marinho. Portanto, sua presença indica contaminação de origem fecal nos três pontos avaliados.

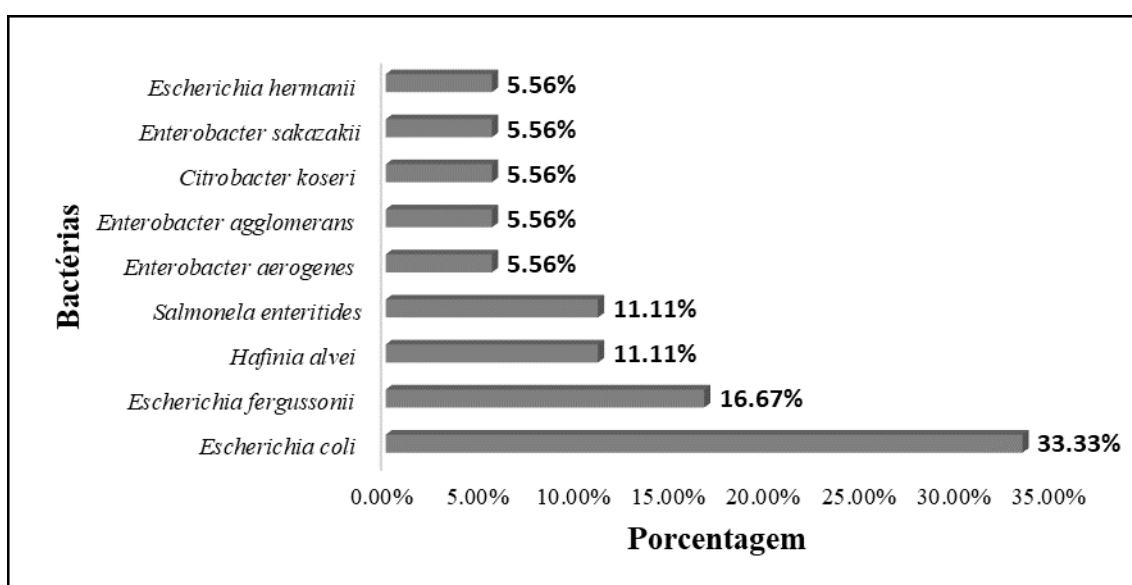
Os dados obtidos para o período seco demonstraram altos níveis de contaminação da água marinha por espécies da família *Enterobacteriaceae*, possivelmente causada pelos poluentes originados do esgoto doméstico lançado no ambiente costeiro sem tratamento adequado, o que compromete a qualidade deste recurso hídrico. A contaminação do mar pode acontecer em consequência de despejo direto de esgoto, por água de drenagem pluvial já contaminada clandestinamente por lançamento de esgoto ou por deságue de rios contaminados.

A falta de saneamento constitui um dos mais sérios problemas ambientais e de saúde pública, principalmente nas áreas urbanas. Pesquisas realizadas por Souza & Silva et al. (2015) na cidade de São Luís, apresentaram uma estrutura de saneamento básico com baixa porcentagem de tratamento de efluentes e que atende apenas uma pequena parcela da população local.

3.1 Período chuvoso

Conforme já destacado, as análises foram realizadas em dois períodos sazonais diferentes. No período chuvoso, foram isoladas e identificadas dezoito cepas a partir das amostras coletadas no ponto 1, dispostas no gráfico da Figura 4.

Figura 4. Enterobactérias isoladas e identificadas a partir da água da praia de banho de São José de Ribamar - MA (Ponto 1 – Período chuvoso).

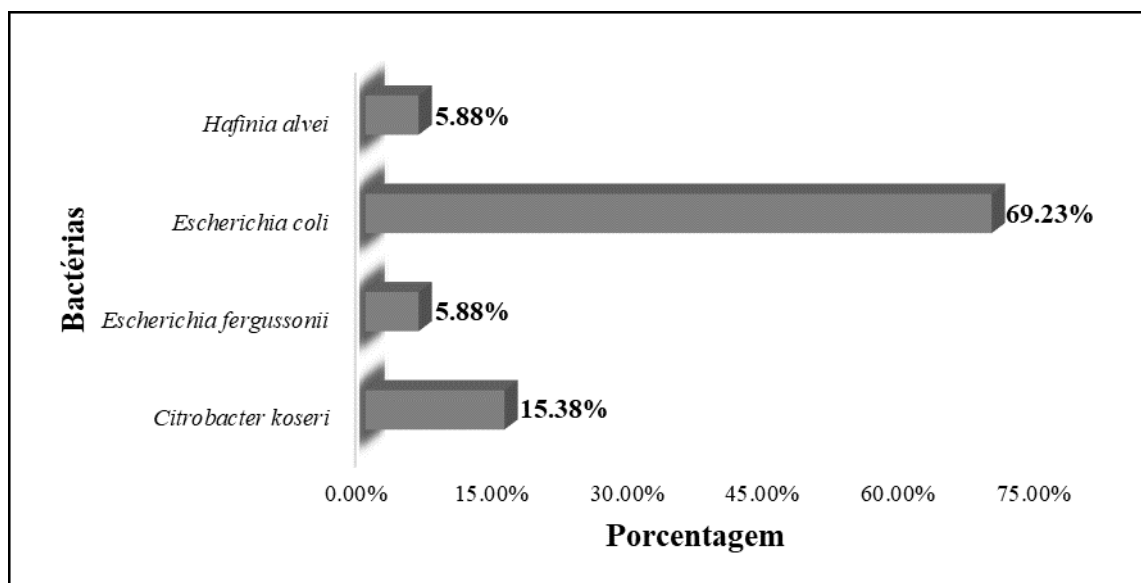


Fonte: Autores (2020).

A predominância de *E. coli* (33,33%) entre as enterobactérias isoladas reflete as condições sanitárias inadequadas destes ambientes e comprova o risco à saúde pública. A praia é um tipo de ecossistema marinho que, dependendo da hidrodinâmica local, pode abrigar uma elevada concentração de biomassa com presença de inúmeros organismos bivalves, crustáceos e outros invertebrados, além de peixes e até mesmo aves migratórias, compondo dessa forma a cadeia trófica marinha, de modo que essa contaminação pode refletir nos animais de ambientes marinhos, conforme já destacado.

No que diz respeito ao ponto 2 de amostragem, foi verificado um padrão semelhante às coletas realizadas no período seco, preservando o mesmo percentual para as quatro espécies isoladas, conforme dados apresentados no gráfico da Figura 5.

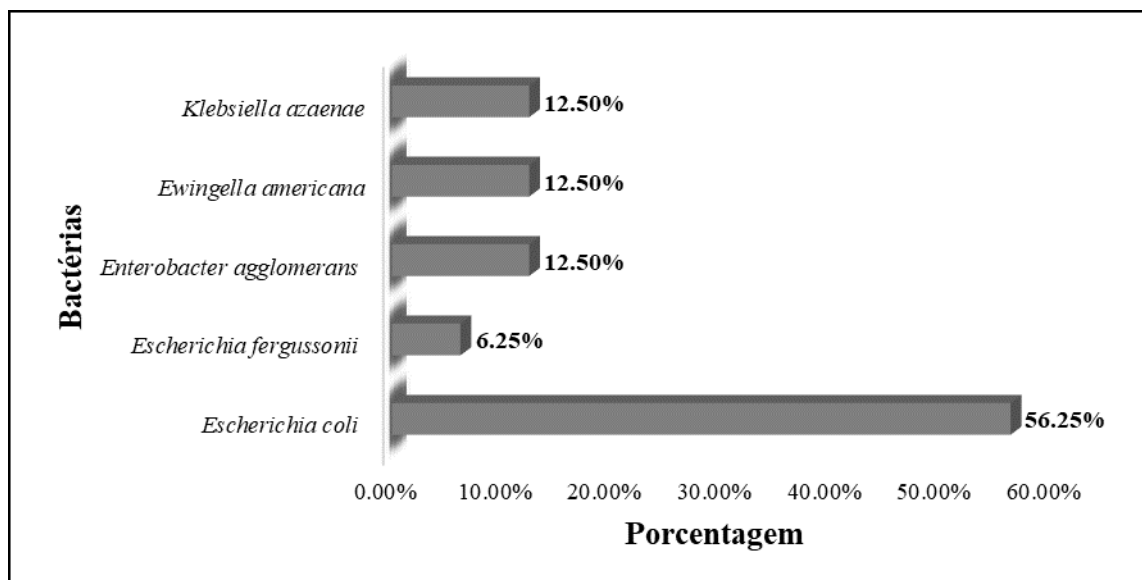
Figura 5. Enterobactérias isoladas e identificadas a partir da água da praia de banho de São José de Ribamar - MA (Ponto 2 – Período chuvoso).



Fonte: Autores (2020).

Por fim, foi possível isolar e identificar dezesseis cepas de enterobactérias a partir das amostras de água marinha coletadas no ponto 3, entretanto, no período chuvoso, conforme pode ser observado no gráfico da Figura 6.

Figura 6. Enterobactérias isoladas e identificadas a partir da água da praia de banho de São José de Ribamar - MA (Ponto 3 – Período chuvoso).



Fonte: Autores (2020).

Diversas pesquisas apontam que, entre os fatores diretamente correlacionados com as condições higiênicas sanitárias das praias, a ocorrência de chuvas é uma das principais causas de interferência na qualidade da água.

As águas de ambiente marinho são de fácil contaminação por patógenos, seja por meio de fontes difusas (como chuvas) ou pontuais (como córregos de esgoto e de drenagem pluvial). As águas superficiais geradas por fortes chuvas levam

consigo tanto efluentes líquidos quanto sólidos com grande potencial para contaminação do ambiente litorâneo. Este fator pode ter influenciado na maior contaminação das marinhas no período chuvoso para todos os pontos de amostragem avaliados.

As águas de ambiente marinho são amplamente exploradas para atividades recreativas, alavancando o turismo, o que representa a principal fonte de renda de boa parte dos municípios litorâneos, tornando evidente a necessidade da manutenção da qualidade das águas marinhas. No entanto, na maioria das vezes, o crescimento da população ocorre sem investimento adequado na infraestrutura de saneamento, de modo que os efluentes são liberados diretamente no mar, resultando na sua contaminação e consequente um aumento na incidência de doenças de veiculação hídrica.

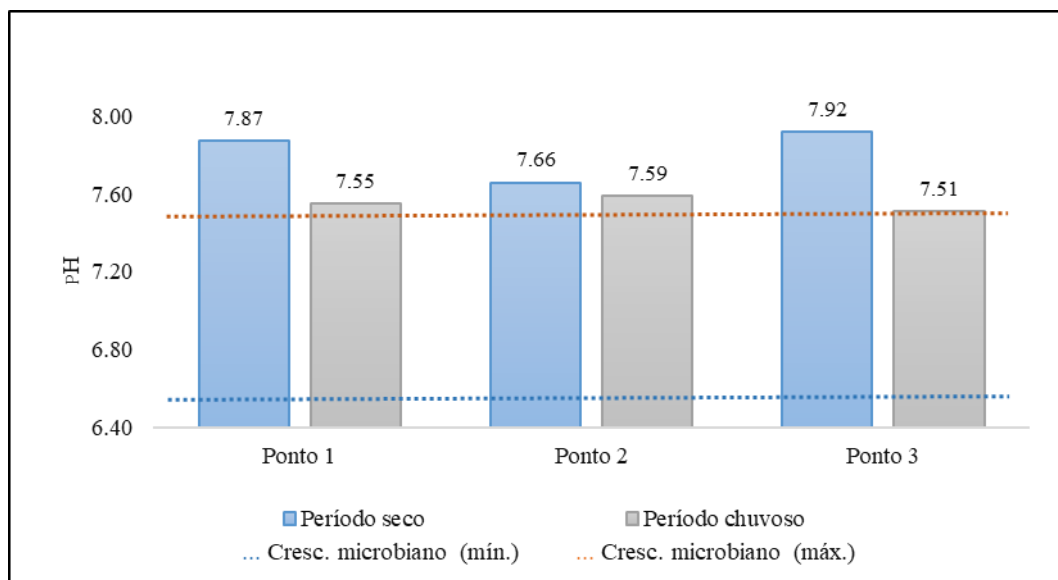
Apesar da alta salinidade atuar como um fator limitante para desenvolvimento de enterobactérias como a *E. coli*, este microorganismo foi verificado com maior frequência na água marinha avaliada. Cabe ressaltar que o desenvolvimento deste microorganismo também está intimamente ligado a outros fatores como temperatura, radiação solar e competição com outros micro-organismos, que, adequadamente combinados, podem subsidiar condições favoráveis à sua sobrevivência.

Os dados obtidos nos permitem afirmar que o período chuvoso foi o que mais favoreceu o crescimento de membros da família *Enterobacteriaceae*, tendo em vista o maior número de cepas isoladas e identificadas em relação ao período seco.

3.2 Valores de pH e salinidade

Os dados obtidos para os parâmetros ambientais (pH e salinidade) são de extrema importância para a compreensão do perfil de contaminação microbiológica de água ambientais. O gráfico da Figura 7 apresenta uma comparação entre os valores de pH das amostras de água nos períodos secos e chuvoso.

Figura 7. Comparativo das determinações de pH nos períodos seco e chuvoso.



Fonte: Autores (2020).

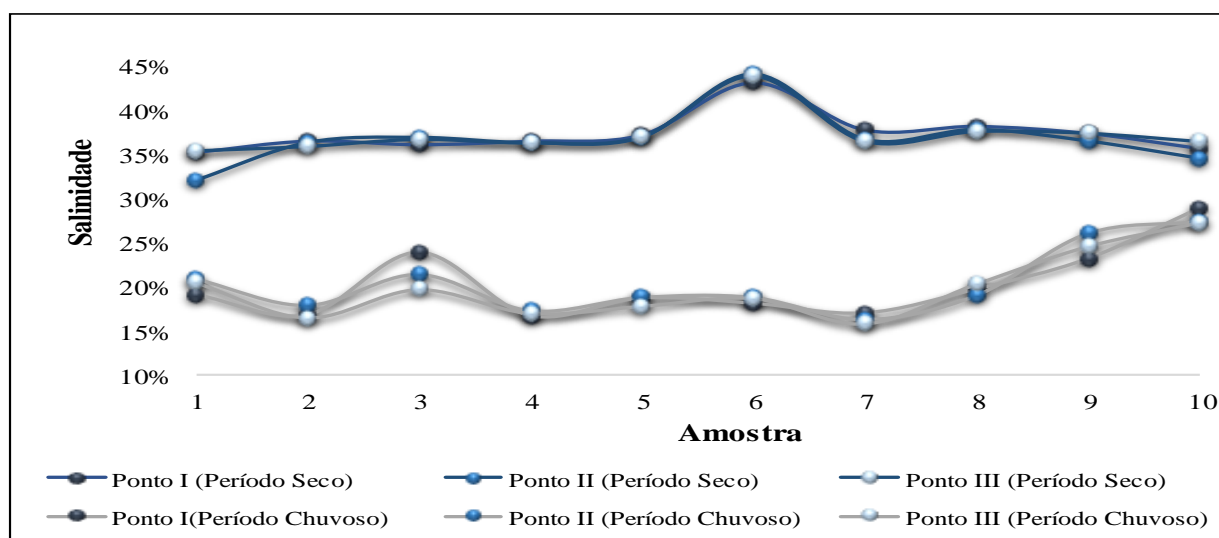
Verifica-se que o pH das águas marinhas é diretamente influenciado pelo regime pluviométrico, sendo possível constatar uma diminuição no valor médio deste parâmetro ao comparar os valores de pH obtidos para amostras coletadas em período chuvoso àqueles referentes às amostras coletadas no período seco.

O gráfico apresenta ainda os limites ideais mínimo (6,5) e máximo (7,5) para o crescimento de microrganismos. Apesar dos valores médios de pH observados superiores ao limite máximo, foi possível constatar que o crescimento microbiano foi mais acentuado no período chuvoso, favorecido, possivelmente, pelos valores de pH mais próximos à faixa

ideal de desenvolvimento. Segundo Ramos et al. (2017) o pH da água do mar situa-se normalmente entre 7,5 e 8,5, isso acontece devido a temperatura, pressão, atividades fotossintéticas e respiratórias dos micro-organismos. Conforme os autores, um pH ácido, na faixa de 5,0 favorece a sobrevivência de *E. coli*, enquanto valores em torno de 8,0 exercem um efeito deletério na sobrevivência da bactéria, justificando a maior incidência deste microrganismo no período chuvoso.

Também foram realizadas análises para determinação dos teores de salinidade das amostras de água em ambos os períodos do ano, conforme dados apresentados no gráfico da Figura 8.

Figura 8. Comparativo das determinações de Salinidade, nos períodos seco e chuvoso.



Fonte: Autores (2020).

Com base nas informações do gráfico, é possível verificar que não houve diferença expressiva nos valores de salinidade entre os três pontos avaliados, para amostras coletadas em um mesmo dia.

Notou-se, ainda, um padrão de salinidade durante o período seco para a água da praia analisada, cujo teor salino manteve-se por volta de 35% em nove das dez análises realizadas. A ausência de chuva nesta estação é um dos fatores que contribuem para a estabilidade dos valores de salinidade.

Assim como nas análises realizadas no período seco, não foram verificadas variações significativas nos valores de salinidade entre os três pontos avaliados durante o período chuvoso, para amostras coletadas em um mesmo dia.

Entretanto, estes valores não se mantiveram estáveis ao longo do período sazonal em questão, variando entre 16 e 29% de salinidade. De uma maneira geral, os índices pluviométricos influenciam diretamente na concentração de sais na água marinha e, conseqüentemente, no crescimento e manutenção dos microrganismos avaliados nesta pesquisa. O grupo dos coliformes é o mais utilizado nessas pesquisas, uma vez que, por serem mais resistentes ao ambiente marinho, tornam-se mais adequadas para o monitoramento da qualidade deste tipo de água.

Desta maneira, esperava-se a presença de baixos índices de enterobactérias no ambiente avaliado, o que não ocorreu devido ao constante despejo de efluentes sem o devido tratamento nas águas da praia de São José de Ribamar. A contaminação por material fecal torna-se mais tona-se mais expressiva no período chuvoso, no qual ocorre um aumento do volume de resíduos urbanos carregados pelas águas pluviais.

Embora as condições ambientais de alta salinidade limitem a atividade de determinados microrganismos (Monteiro et al., 2015), o comportamento de espécies da família *Enterobacteriaceae*, especialmente a *E. coli*, ante as condições impostas

pelos ecossistemas marinhos (pH e salinidade) nos permite concluir que estas cepas são pouco influenciadas pela salinidade, predominando tanto no período seco quanto no chuvoso.

Cabe ressaltar que a água marinha contaminada por enterobactérias não representa risco apenas aos banhistas, mas aos frequentadores da praia como um todo, uma vez que esta contaminação pode se estender às areias, conforme tem sido reportado por vários estudos que destacam a presença de *E. coli* nas faixas de areia seca e molhada (Monteiro et al., 2015; Souza & Silva, 2015; França, Casagrande & Fortuna, 2018).

3.3 Avaliação do perfil antimicrobiano

O perfil antimicrobiano das bactérias da família *Enterobacteriaceae* foi avaliado por meio do MDD, utilizando como base os halos de inibição obtidos nos ensaios de susceptibilidade, assim como a classificação estabelecida pela Anvisa (2005), mostrada na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação de bactérias conforme o diâmetro do halo de inibição.

| Agente | Código | Halo de inibição (mm) | | |
|------------------------|--------|-----------------------|-------------------|--------------|
| | | Resistente (R) | Intermediária (I) | Sensível (S) |
| Ampicilina (10 µg) | AMP | ≤13 | 14-16 | ≥17 |
| Gentamicina (10 µg) | GEN | ≤12 | 13-14 | ≥15 |
| Cloranfenicol (10 µg) | CLO | ≤12 | 13-17 | ≥18 |
| Ác. Pipemídico (10 µg) | PIP | ≤13 | 14-18 | ≥16 |

Fonte: Anvisa (2005).

Os padrões de halos de inibição fornecidos pela Anvisa (2005) nos permitem classificar as cepas avaliadas como resistentes ou sensíveis à cada um dos antibióticos avaliados. Os diâmetros dos halos de inibição das bactérias frente aos antibióticos obtidos no MDD estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Diâmetro dos halos de inibição e classificação das bactérias frente aos antibióticos.

| Espécie | Halos de inibição (mm) | | | |
|---------------------------------|------------------------|--------|--------|--------|
| | AMP | PIP | CLO | GEN |
| <i>Escherichia coli</i> | 0 (R) | 0 (R) | 30 (S) | 0 (S) |
| <i>Escherichia fergusonii</i> | 8 (R) | 24 (S) | 32 (S) | 15 (S) |
| <i>Escherichia hermanii</i> | 0 (R) | 8 (R) | 34 (S) | 12 (S) |
| <i>Enterobacter agglomerans</i> | 8 (R) | 20 (S) | 27 (S) | 17 (S) |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | 9 (R) | 10 (R) | 28 (S) | 18 (S) |
| <i>Ewingella americana</i> | 12 (R) | 16(I) | 30 (S) | 20 (S) |
| <i>Salmonella enterides</i> | 16 (S) | 14(I) | 33 (S) | 19 (S) |
| <i>Citrobacter koseri</i> | 15 (S) | 20 (S) | 30 (S) | 16 (S) |
| <i>Hafnia alvei</i> | 13 (R) | 26 (S) | 29 (S) | 19 (S) |
| <i>Enterobacter Sakazakii</i> | 10 (R) | 10 (R) | 28 (S) | 21 (S) |
| <i>Klebsiella ozaenae</i> | 9 (R) | 18 (I) | 25 (S) | 15 (S) |

Fonte: Autores (2020).

Através da tabela acima, afirma-se que todas as cepas apresentaram susceptibilidade a pelo menos um antibiótico. Observou-se que o antibiótico Cloranfenicol mostrou-se eficiente no combate antibactericida frente a todas as cepas testadas, podendo ser apontado como aliado no tratamento dessas bactérias como agente antimicrobiano. A cepa 8 revelou-se sensível a todos os antibióticos testados.

A cepa 1 (*Escherichia coli*), observada em quantificações majoritárias nos ensaios bioquímicos revelou-se resistente a 3/4 dos antibióticos testados. Bail et al., (2006) ao avaliarem o percentual de susceptibilidade de diferentes microrganismos isolados de infecções urinárias comunitárias frente a Ampicilina (AMP), Cefalotina (CEF), Sulfazotrim (SUT), Nitrofurantóina (NIT), Norfloxacin (NOR) e Gentamicina (GEN), testaram 43 cepas de *Escherichia coli* e apenas 23 (48,8%) foram sensíveis ao Ampicilina e 38 ao Gentamicina (88,4%).

Muitos trabalhos evidenciam que as enterobactérias são as principais causadoras de Infecções do Trato Urinário, com predomínio de *Escherichia coli* (>85% ITU comunitárias e 50% ITU hospitalares), seguida por *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Serratia sp.*, *Enterobacter sp.* e *Enterococos* (Martino, 2002; Moura & Fernandes, 2010; Filho et al., 2010). Dessa forma, os resultados mostram-se bastante preocupantes em relação aos dados de identificação bioquímicos previamente discutidos.

O que podemos observar na tabela 4 é que todas as bactérias testadas demonstraram perfil antimicrobiano sensível ao Cloranfenicol. Portanto, pôde-se observar contaminação da praia de São José de Ribamar por apresentar presença do grupo coliforme, com ênfase na presença significativa de *Escherichia coli*, utilizado como parâmetro de condições higiênicas-sanitárias adequadas, aponta-se o Cloranfenicol como forte aliado no tratamento dessas bactérias.

4. Conclusão

Identificou-se através de testes bioquímicos as espécies da família *Enterobacteriaceae* na água da praia de São José de Ribamar. Foi verificado que a *Escherichia coli* esteve em maior percentual nas identificações bioquímicas, com quantificações superiores durante o período chuvoso, em todos os pontos de coleta e em ambos os períodos. Seu índice mais elevado foi no ponto 3, período chuvoso, onde ela esteve presente em 76,7% que reflete as condições sanitárias inadequadas destes ambientes

e comprova o risco à saúde pública. Dessa forma, justifica-se uma piora na classificação da balneabilidade destes pontos, seja pelo critério estabelecido pelo CONAMA nº 274 ou pela OMS.

Verificou-se a resistência das espécies da família *Enterobacteriaceae* com antibióticos comerciais. Notou-se que o antibiótico Cloranfenicol mostrou-se eficiente no combate antibactericida frente a todas as cepas testadas, podendo ser apontado como aliado no tratamento dessas bactérias como agente antimicrobiano. A cepa 8 revelou-se sensível a todos os antibióticos testados. A cepa 1 (*Escherichia coli*), observada em quantificações majoritárias nos ensaios bioquímicos revelou-se resistente a 3/4 dos antibióticos testados.

Para trabalhos futuros seria importante, além das análises já apresentadas no presente estudo, verificar a resistências dessas mesmas cepas isoladas frente a extratos vegetais (pela técnica de maceração com solvente), visto que seriam dados relevantes a serem apresentados à comunidade científica.

Referências

- American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, & Water Environment Federation. (1915). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (Vol. 2). American Public Health Association.
- Asai, Y., Kaneko, M., Ohtsuka, K., Morita, Y., Kaneko, S., Noda, H.; Hara-Kudo, Y. (2008). Salmonella prevalence in seafood imported into Japan. *Journal of food protection*, 71(7), 1460-1464.
- Bail, L., Ito, C. A. S., & Esmerino, L. A. (2006). Infecção do trato urinário: comparação entre o perfil de susceptibilidade e a terapia empírica com antimicrobianos. *Rba C*, 38(1), 51-56.
- Brasil (2001). Resolução CONAMA. Resolução nº 274, de 29 de novembro de 2000. Seção 1, páginas 70 – 71. Define critérios de balneabilidade das águas brasileiras. *Publicada no Diário Oficial da União*, nº 18 de 25 de janeiro de 2001.
- Carvalho, F. C. T., Barreto, N. S. E., dos Reis, C. M. F., Hofer, E., & dos Fernandes Vieira, R. H. S. (2009). Susceptibilidade antimicrobiana de *Salmonella* spp. isoladas de fazendas de carciniculturas no Estado do Ceará. *Revista Ciência Agronômica*, 40(4), 549-556.
- Cheng, C. M., Lin, W., Van, K. T., Phan, L., Tran, N. N., & Farmer, D. (2008). Rapid detection of *Salmonella* in foods using real-time PCR. *Journal of food protection*, 71(12), 2436-2441.
- Espósito, S. et al. (2019). What is the role of *Ewingella americana* in humans? A case report in a healthy 4-year-old girl. *BMC infectious diseases*, 20(1), 1-5.
- Filho, J. S. R., Vilar, F. C., Mota, L.M., Leal, L.M. & Pisi, P.C.B. (2010). Infecção do Trato Urinário. Simpósio: Condutas em enfermaria de clínica médica de hospital de média complexidade. Ribeirão Preto, Brasil.
- França, L. F., Casagrande, J. A., & Fortuna, J. L. (2018). Avaliação microbiológica das areias e da água das praias dos municípios litorâneos que formam a costa das baleias. *Revista de Estudos Ambientais*, 20(1), 44-57.
- Freitas, J., França, C. L., Fernandes, J. F. F., Furtado, J. A., da Costa Soares, S. H., & de Jesus, W. B. (2020). Percepção ambiental dos usuários em duas praias do Nordeste do Brasil: a problemática da poluição. *Brazilian Journal of Development*, 6(6), 33984-34001.
- Hassan, Syed et al. (2012) *Ewingella americana*: an emerging true pathogen. Case reports in infectious diseases, v. 2012.
- Huss, H. H. (1997). *Garantia da qualidade dos produtos da pesca*. Food & Agriculture Org.
- Martino, M. D., Toporovski, J., & Mimica, I. M. (2002). Métodos bacteriológicos de triagem em infecções do trato urinário na infância e adolescência. *J Bras Nefrol*, 24(2), 71-80.
- Meisler, Sarah et al. (2020). First Case of *Ewingella americana* Meningitis in a Term Newborn: A Rare but Real Pathogen. *Frontiers in Pediatrics*, 8, 308.
- Monteiro, D. T. L.; Catter, K. M.; Rocha, R. D. S.; Fonteles Filho, A. A.; Vieira, R. H. S. D. F. (2015). Qualidade bacteriológica da areia e água de duas praias do litoral cearense. *Arq. Ciên. Mar*, 48(2), 41 – 48
- Moura, L. B., & Fernandes, M. (2010). A incidência de infecções urinárias causadas por *E. coli*. *Revista Olhar Científico-Faculdades Associadas de Ariquemes*, 1(2).
- Ramos, C. A., Senez, T. M., da Fonseca, E. M., Ribeiro, H. M., Neto, J. A. B., & Damasceno, R. (2017). acidificação dos oceanos em um sopro: prática educacional para construção de conhecimento das mudanças globais. *Experiências em Ensino de Ciências*, 12(8), 49-65.
- Souza, J. L., & Silva, I. R. (2015). Avaliação da qualidade ambiental das praias da ilha de Itaparica, Baía de Todos os Santos, Bahia. *Sociedade & Natureza*, 27(3), 469-483.
- Paula, L. R., Limeira Filho, D., Siqueira, F. F. F. S., da Silva, L., da Conceição, C. B., Costa, S. L. O., da Silva, F. L. (2022). Avaliação da qualidade microbiológica da água do médio curso do rio Itapecuru, estado do Maranhão, Brasil. *Research, Society and Development*, 11(6), e34411628824-e34411628824.