

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DE CURITIBANOS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS NATURAIS E SOCIAIS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Gabrielle França Ribeiro

**Ocorrência de bactérias resistentes a antibióticos em água empregada na dessedentação
de animais em Curitiba – SC**

Curitiba

2021

Gabrielle França Ribeiro

**Ocorrência de bactérias resistentes a antibióticos em água empregada na dessedentação
de animais em Curitibanos – SC**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof.^a Sonia Purin da Cruz, *Ph.D.*

Coorientador: Prof. Álvaro Menin, Dr.

Curitibanos

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Ribeiro, Gabrielle França

Ocorrência de bactérias resistentes a antibióticos em
água empregada na dessedentação de animais em Curitibanos -
SC / Gabrielle França Ribeiro ; orientador, Sonia Purin da
Cruz, coorientador, Álvaro Menin, 2021.

49 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus
Curitibanos, Graduação em Medicina Veterinária,
Curitibanos, 2021.

Inclui referências.

1. Medicina Veterinária. 2. Água. 3. Coliformes. 4.
Antibióticos. I. Cruz, Sonia Purin da. II. Menin, Álvaro.
III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em
Medicina Veterinária. IV. Título.

Gabrielle França Ribeiro

Ocorrência de bactérias resistentes a antibióticos em água empregada na dessedentação de animais em Curitiba – SC

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Bacharel em Medicina Veterinária” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Medicina Veterinária.

Curitiba, 27 de setembro de 2021.

Prof. Malcon Andrei Martínez-Pereira, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof.^a Sonia Purin da Cruz, *Ph.D.*
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Álvaro Menin, Dr.
Avaliador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Juliana Cavalli, Dr.^a
Avaliadora
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe, por todo o seu amor incondicional, incentivo e apoio, por nunca medir esforços para me ajudar. Te admiro demais por ter sido uma guerreira a vida toda, e desejo com todo meu coração que eu consiga retribuir tudo que você fez por mim.

Agradeço ao meu pai, por sempre acreditar em mim e me incentivar, por nunca deixar que eu desistisse.

Agradeço aos meus avós Iolanda e Silvestre (*in memoriam*), por terem ajudado em minha criação, e por todo o amor e cuidado que tiveram comigo.

Agradeço aos meus irmãos, Guilherme e Isabelle, por todas as nossas vivências juntos e pelo companheirismo nos bons e maus momentos. Apesar de brigarmos às vezes, eu amo vocês.

Agradeço à minha orientadora, Prof. Sonia, pelo laço criado além da universidade, por estar sempre presente quando precisei, por todos os ensinamentos, por ter me ajudado a descobrir o amor à microbiologia. Você é uma grande inspiração em minha vida, te admiro demais e vou te levar sempre em meu coração como amiga. Obrigada por tornar tudo isso possível.

Agradeço aos meus grandes amigos de todas as horas Katriane, Sabrina, Artur e Zaions, por todas nossas risadas e choros juntos, por todo o companheirismo, todos os conselhos, momentos e experiências. Vocês são muito importantes e foram essenciais nesta caminhada, são pessoas que eu quero levar comigo pro resto da vida. Obrigada por tornarem suportáveis todas as situações ruins, e pelos momentos compartilhados comigo através dos quais eu finalmente pude descobrir como é estar genuinamente feliz.

Agradeço às minhas amigas Natalia e Júlia pela amizade, por todo apoio e companheirismo, e por toda ajuda para o desenvolvimento desse e de outros trabalhos no laboratório. Sem vocês, nada disso seria possível.

Agradeço às minhas amigas Joice, Pauline e Karol, por sempre me receberem tão bem na casa verde, e por estarem presentes em tantos momentos em minha vida.

Agradeço às minhas tias, Tereza e Sueli, aos meus primos Suellen, Robson e Tânia, por sempre se preocuparem comigo e por todo o apoio que sempre me deram. Tenho muita sorte de ter vocês como família.

Agradeço aos meus amigos de Jundiá do Sul, em especial ao Ramon, Piazinho, Matheus, Esther, Rose, Natan, Bruno, por sempre me receberem tão bem e por todos os bons momentos que compartilhamos.

Agradeço ao meu amigo Lucas, por sempre me apoiar e me dar suporte, mesmo que distante. Te admiro muito por ser tão dedicado, e por ser essa pessoa tão legal comigo.

Agradeço a toda a equipe do laboratório da UNOESC Xanxerê, em especial à Professora Lillian, à Professora Simone e ao Julcimar, pela oportunidade de ter trabalhado com vocês e por toda a paciência que tiveram comigo. Todo o conhecimento adquirido, todas as experiências que pude ter, não têm preço. Sem vocês nada disso seria possível.

Agradeço a todos os professores que contribuíram para que eu conseguisse chegar até o final de mais esta etapa, em especial o Professor Álvaro, Professora Juliana e Professora Caroline. Profissionais como vocês são um modelo no qual busco me espelhar sempre.

Agradeço a todos que não consegui citar e que cruzaram a minha vida durante esta jornada que é a graduação, que foram muitas pessoas. Cada encontro, cada desencontro, cada pequeno acontecimento sobre os quais não tive controle (todos), cada tombo e cada pequena conquista, todo esse conjunto de fatores foi responsável por me trazer exatamente aqui. Por isso, um grande e sincero obrigada a todos!

*“A ciência nos convida a acolher os fatos, mesmo quando eles não se ajustam às
nossas concepções”*

- Carl Sagan

RESUMO

A água é fundamental para qualquer atividade do setor agropecuário. Entretanto, pouca atenção é dada à qualidade da água destinada ao consumo animal. Recursos hídricos apresentando alta carga contaminante representam não somente um veículo de doenças, mas também uma fonte de microrganismos resistentes a antibióticos oriundos dos mais variados nichos. Com base nisso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica da água empregada no consumo de animais, e observar a presença de bactérias resistentes nas fontes estudadas. Foram coletadas amostras de água em julho de 2020, em 15 pontos distintos no município de Curitiba, SC. As amostras foram submetidas a testes de coliformes fecais pela técnica dos tubos múltiplos, e estes microrganismos foram quantificados através do número mais provável (NMP). Colônias de *E. coli* isoladas das amostras foram analisadas quanto ao perfil de suscetibilidade a antimicrobianos por disco-difusão, em que avaliou-se a eficácia dos antimicrobianos Ampicilina, Ampicilina + Sulbactam, Ciprofloxacina e Tetraciclina. Os resultados mostraram que 33,33% das amostras apresentaram concentração de coliformes termotolerantes ultrapassando 1.000 UFC 100 mL⁻¹, indicando desconformidade com o que é determinado pela Resolução CONAMA N° 357/2005 para águas destinadas à dessedentação de animais. Com relação ao perfil de resistência, 19,64% dos isolados demonstraram ser resistentes à Ampicilina, 17,85% à Tetraciclina, 1,78% à Ampicilina + Sulbactam, enquanto a Ciprofloxacina apresentou eficácia em 100% dos isolados. Um terço dos locais abrangidos apresentou elevados níveis de contaminação, revelando a necessidade de preservação dos recursos hídricos, o que deixa os animais vulneráveis a doenças. Além disso, a presença de bactérias resistentes na água consumida implica na interação dessas com a microbiota residente do animal, que pode acabar incorporando genes de resistência ao seu material genético. Essas bactérias são novamente inseridas no ambiente quando o animal defeca. Portanto, deve-se alertar à população sobre a importância de se avaliar a condição microbiológica da água, e realizar seu tratamento quando necessário, bem como, sobre os prejuízos que o uso indevido de antibióticos traz à saúde e ao ambiente.

Palavras-chave: Resistência. Água. Coliformes.

ABSTRACT

Water is essential for any activity in the agricultural sector. However, little attention is paid to the quality of water intended for animal consumption. Water resources with a high contaminant load represent not only a vehicle of disease, but also a source of antibiotic-resistant microorganisms from the most varied niches. Based on that, the objective of this work was to evaluate the microbiological quality of the water used in the consumption of animals, and to observe the presence of resistant bacteria in the studied sources. Water samples were collected in July 2020, at 15 different points in the city of Curitibanos, SC. The samples were submitted to fecal coliform tests using the multiple tube technique, and these microorganisms were quantified using the most probable number (MPN). *E. coli* colonies isolated from the samples were analyzed for antimicrobial susceptibility profile by disk-diffusion, in which the efficacy of the antimicrobials Ampicillin, Ampicillin + Sulbactam, Ciprofloxacin and Tetracycline was evaluated. The results showed that 33.33% of the samples showed a concentration of thermotolerant coliforms exceeding 1,000 UFC 100 mL⁻¹, indicating non-compliance with what is determined by CONAMA Resolution No. 357/2005 for water intended for animal watering. Regarding the resistance profile, 19.64% of the isolates proved to be resistant to Ampicillin, 17.85% to Tetracycline, 1.78% to Ampicillin + Sulbactam, while Ciprofloxacin was effective in 100% of the isolates. A third of the places covered had high levels of contamination, revealing the need to preserve water resources, which leaves animals vulnerable to disease. Furthermore, the presence of resistant bacteria in the water consumed implies their interaction with the animal's resident microbiota, which may end up incorporating resistance genes into its genetic material. These bacteria are re-introduced into the environment when the animal defecates. Therefore, the population should be alerted about the importance of assessing the microbiological condition of water, and treating it when necessary, as well as the damage that the inappropriate use of antibiotics brings to health and the environment.

Keywords: Resistance. Water. Coliforms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Pontos de amostragem de água em Curitiba, SC, 2020.....	24
Figura 2 – Frascos utilizados para coleta e transporte das amostras de água até o laboratório.	25
Figura 3 – Reagente tiosulfato de sódio, utilizado para preparo da solução que foi adicionada em cada frasco de coleta.....	25
Figura 4 – Meio de cultura caldo Lauril Triptose KASVI™.	26
Figura 5 – Tubos do teste presuntivo na estufa bacteriológica após inoculação das amostras.	26
Figura 6 – Tubos do teste presuntivo com resultado positivo (esquerda) e negativo (direita).	27
Figura 7 – Meio de cultura caldo EC KASVI™.	27
Figura 8 – Tubos do teste EC na estufa bacteriológica após inoculação dos tubos positivos na fase do Teste Presuntivo.	28
Figura 9 – Tubos do teste EC com resultado positivo (esquerda) e negativo (direita).....	28
Figura 10 – Meio de cultura Ágar MacConkey KASVI™.....	29
Figura 11 – Fase de estriamento de amostras positivas no teste EC para o Ágar MacConkey.	30
Figura 12 – Meio de cultura caldo Mueller Hinton KASVI™.....	31
Figura 13 – Percentual de isolados resistentes, intermediários e sensíveis para cada antibiótico testado. Dados obtidos a partir de 15 amostras coletadas em propriedades rurais, provenientes de água destinada à dessedentação animal. Curitiba, SC, 2020.....	37
Figura 14 – Percentual de isolados resistentes a 1, 2, 3 e 4 antibióticos simultaneamente. Dados obtidos a partir de 15 amostras coletadas em propriedades rurais, provenientes de água destinada à dessedentação animal. Curitiba, SC, 2020.	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados referentes aos pontos de coleta visitados. Curitiba, SC, 2020.	24
Tabela 2 – Valores de halos inibitórios esperados para <i>Enterobacteriaceae</i>	32
Tabela 3 – Resultados da análise de coliformes fecais. Dados obtidos a partir de 15 amostras coletadas em propriedades rurais, provenientes de água destinada à dessedentação animal. Curitiba, SC, 2020.	33
Tabela 4 – Resultados do teste de suscetibilidade a antimicrobianos por disco-difusão. Dados obtidos a partir de 15 amostras coletadas em propriedades rurais, provenientes de água destinada à dessedentação animal. Curitiba, SC, 2020.	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC – *American Type Culture Collection*
BOD – *Biochemical Oxygen Demand*
CDC – *Centers for Disease Control and Prevention*
CLSI – *Clinical & Laboratory Standards Institute*
CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente
DNA – *Deoxyribonucleic Acid*
EC – *Escherichia coli*
EHEC – *Enterohemorrhagic Escherichia coli*
EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EUA – Estados Unidos da América
FUNASA – Fundação Nacional de Saúde
MDRO – *Multi-drug resistant organism*
NMP – Número mais provável
RNA – *Ribonucleic Acid*
RS – Rio Grande do Sul
SC – Santa Catarina
SHU – Síndrome hemolítico-urêmica
SP – São Paulo
UFC – Unidade formadora de colônia

LISTA DE SÍMBOLOS

β – Beta

$^{\circ}\text{C}$ – Grau Celsius

$<$ – Menor que

$>$ – Maior que

μg – Micrograma

mm – Milímetro

mL – Mililitro

% – Por cento

® – *Registered mark* (marca registrada)

™ – *Trade Mark* (marca comercial)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	OBJETIVOS	16
1.1.1	Objetivo Geral.....	16
1.1.2	Objetivos Específicos	16
2	DESENVOLVIMENTO.....	17
2.1	QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA	17
2.1.1	Ocorrência de coliformes em águas para dessedentação animal	18
2.2	<i>E. coli</i> PATOGÊNICA	20
2.3	RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS	20
2.3.1	Resistência em <i>E. coli</i> em água para dessedentação animal	22
2.4	IMPLICAÇÕES DA INGESTÃO DE ÁGUA CONTAMINADA POR COLIFORMES	22
3	MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1	COLETA DE AMOSTRAS	24
3.2	AVALIAÇÃO DE COLIFORMES	26
3.2.1	Quantificação de coliformes fecais	28
3.2.2	Classificação da água.....	29
3.3	ISOLAMENTO	29
3.4	ANTIBIOGRAMA	30
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1	AVALIAÇÃO DE COLIFORMES FECAIS	33
4.2	TESTE DE SUSCETIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS	35
5	CONCLUSÃO.....	42
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42
	REFERÊNCIAS.....	44

ANEXO A – Número Mais Provável por 100 mL, para séries de 3 tubos com inóculos de 10 mL, 1,0 mL e 0,1 mL, e respectivos intervalos de confiança de 95%. 49

1 INTRODUÇÃO

No setor agropecuário, a qualidade da água ofertada está diretamente relacionada ao desempenho zootécnico dos animais. Na produção leiteira, por exemplo, fêmeas em lactação possuem maior exigência quantitativa de consumo de água em comparação a todas as outras categorias de animais produção, já que 87% do volume do leite é composto por esta molécula (EMBRAPA, 2001). Segundo Mekonnen e Hoekstra (2010), a pegada hídrica (quantidade de água consumida em determinada atividade) para produção de 1 quilograma de carne bovina é de cerca de 15 mil litros de água, considerando o que é gasto para produção de pastagens, concentrados, além da ingestão. Conforme relatado por Palhares (2013), a água pode compor até 80% do corpo dos animais, e a principal forma de obtê-la é através da dessedentação, seguida pela ingestão de alimentos e reações metabólicas. Entretanto, Van Eenige *et al.* (2013) ressaltam que, quando a água encontra-se inadequada para consumo, pode transformar-se em um veículo de diversos patógenos importantes para humanos e animais, tais como *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* EHEC, Rota vírus, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Neospora caninum*, entre outros.

Nesse sentido, Teuber (2001) cita os animais de produção como disseminadores ambientais de bactérias, que podem ser patogênicas, e faz uma associação à propagação de resistência a antimicrobianos, através da contaminação da água e do solo, como por exemplo, na utilização de fezes como fertilizantes, o que é comum em pequenas propriedades. De acordo com Chee-Sanford *et al.* (2001), águas superficiais e subterrâneas são potenciais fontes de resistência a antibióticos na cadeia alimentar.

Nesse sentido, a Organização Mundial da Saúde (2017) apontou que o crescimento da prevalência de resistência a antibióticos é um dos problemas mundiais mais graves dos últimos anos. Sabe-se que a gravidade de infecções causadas por bactérias resistentes a tais fármacos é maior em comparação àquelas causadas por bactérias suscetíveis. Além disso, o tempo de resolução da doença no caso de bactérias resistentes é muito mais longo, bem como o tempo de tratamento, este podendo até mesmo ser falho. Expectativas dessa organização, inclusive, apontam que a resistência a antimicrobianos será a principal causa de óbitos que acometerá a população global até o ano de 2050.

Nesse contexto, esforços são cada vez mais necessários para identificação de fontes potenciais de microrganismos resistentes. Meirelles-Pereira *et al.* (2002) consideram que ambientes domésticos, indústrias, hospitais e atividades veterinárias são intensamente

seletivos para microrganismos resistentes, e a liberação de seus efluentes em rios e lagoas representa um importante curso da difusão de resistência a antibióticos no meio ambiente. Tendo isso em vista, evidencia-se a importância do monitoramento da qualidade microbiológica da água destinada ao consumo animal, bem como da coleta de dados a respeito de resistência a antibióticos, de forma a instaurar medidas de prevenção a surtos de doenças de veiculação hídrica e frear o problema de disseminação ambiental de genes de resistência.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Inspeccionar a qualidade microbiológica da água utilizada para dessedentação de animais em propriedades de Curitiba – SC, através da análise de coliformes fecais.

1.1.2 Objetivos Específicos

Estimar o número de coliformes fecais das amostras e se o mesmo encontra-se dentro do limite determinado pela Resolução N° 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (2005), para águas destinadas à dessedentação animal.

Avaliar a ocorrência de resistência a antimicrobianos em isolados de coliformes fecais através do antibiograma.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA

Tradicionalmente, a maior preocupação com a qualidade da água está intimamente relacionada à transmissão de doenças infectocontagiosas. Porém, seria custoso buscar especificamente por microrganismos patogênicos nas fontes de água, pois se estiverem presentes em pequeno número, haverá menos chances de apanhá-los em pequenas amostras, existindo a possibilidade de que os testes apresentem resultados negativos. Além disso, a detecção do patógeno já não impediria o surto de uma doença, visto que sua propagação já estaria ocorrendo (TORTORA *et al.*, 2019).

À vista disso, utilizam-se como organismos indicadores aqueles que estejam efetivamente presentes em abundância no trato intestinal de humanos e animais homeotérmicos. Estes organismos, denominados coliformes, são um grupo de bactérias em formato de bacilo, gram-negativas, não formadoras de endósporos, aeróbias facultativas, que fermentam lactose com produção de gás após 48 horas, à temperatura de 35°C. Todavia, estes microrganismos não estão restritos apenas ao ambiente entérico, por isto os coliformes fecais são importantes para análise de qualidade microbiológica da água. O principal representante deste grupo é *Escherichia coli*, bactéria que tem como único habitat o trato intestinal e sobrevive fora deste sítio por tempo relativamente curto. Ou seja, sua presença em uma amostra de água indica que há contaminação por conteúdo fecal (MADIGAN *et al.*, 2019).

Coliformes termotolerantes é outra denominação utilizada para se referir ao grupo dos coliformes fecais, visto que a *E. coli* fermenta lactose e manitol a 44°C no período de 24 horas, produzindo ácido e gás. Além disso, esta bactéria é oxidase negativa, produz indol a partir do triptofano, não hidrolisa a ureia e manifesta ação das enzimas β galactosidase e β glucuronidase. É considerado o mais acurado indício de uma recente contaminação fecal e ocasionalmente presença de patógenos (FUNASA, 2013).

Atualmente no Brasil, a Resolução N° 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (2005), dispõe: “sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes [...]”. Segundo o Art. 3° desta Resolução: “As águas doces, salobras e salinas do Território Nacional são classificadas, segundo a qualidade requerida para os seus usos preponderantes”. Em conformidade com o Art. 4°, as águas doces são classificadas em:

I - classe especial: águas destinadas: a) ao abastecimento para consumo humano, com desinfecção; b) à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas; e, c) à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral.

II - classe 1: águas que podem ser destinadas: a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado; b) à proteção das comunidades aquáticas; c) à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA n° 274, de 2000; d) à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película; e e) à proteção das comunidades aquáticas em Terras Indígenas.

III - classe 2: águas que podem ser destinadas: a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional; b) à proteção das comunidades aquáticas; c) à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA n° 274, de 2000; d) à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; e e) à aquicultura e à atividade de pesca.

IV - classe 3: águas que podem ser destinadas: a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado; b) à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras; c) à pesca amadora; d) à recreação de contato secundário; e e) à dessedentação de animais.

V - classe 4: águas que podem ser destinadas: a) à navegação; e b) à harmonia paisagística.

Esta Resolução ainda determina que as águas destinadas ao consumo de animais em confinamento não deve exceder o limite de 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros.

2.1.1 Ocorrência de coliformes em águas para dessedentação animal

Conforme LeJeune *et al.* (2001), a água de dessedentação de animais de produção apresentando alta taxa de contaminação por bactérias entéricas pode representar uma fonte comum de exposição a certos patógenos. Pinto *et al.* (2010), realizaram um estudo em Jaboticabal – SP que verificou a qualidade microbiológica de águas destinadas ao consumo animal em propriedades rurais da Microbacia Hidrográfica do Córrego Rico, em dois períodos do ano, entre julho e setembro, e após, fevereiro e abril do ano subsequente. O parâmetro

utilizado neste trabalho foi a Resolução N° 396/08 do Conselho Nacional do Meio Ambiente, que dispõe sobre a classificação de águas subterrâneas, e determina um limite aceitável de até 200 UFC de *E. coli* a cada 100 mL para água destinada ao consumo animal. Foi observado que na estação de seca, os valores de *E. coli* variaram de ausente até 8.700 UFC 100 mL⁻¹, e na estação de chuvas, de ausente até 2.500 UFC 100 mL⁻¹. Do total de amostras colhidas de bebedouros, 27,7% encontravam-se fora dos padrões estabelecidos pela legislação, sendo consideradas inapropriadas para consumo animal em ambas as estações.

Um estudo realizado na Universidade Federal de Pelotas analisou 16 amostras de água destinada ao consumo animal, em 10 propriedades rurais na Região de Pelotas – RS. Os resultados revelaram que 4 amostras, oriundas de 3 propriedades diferentes, apresentaram valores de coliformes termotolerantes variando de 1.200 a 92.000 UFC 100 mL⁻¹, excedendo o limite permitido pela Resolução CONAMA N° 375/05, que é de 1.000 UFC 100 mL⁻¹ (ROSA *et al.*, 2013).

Outro estudo realizado por Bortoli *et al.* (2018) avaliou a qualidade microbiológica da água destinada à dessedentação animal em propriedades rurais produtoras de leite no Rio Grande do Sul. A área de estudo foi o Vale do Taquari, situado ao Centro-Leste do estado do Rio Grande do Sul, que atualmente é composto por 36 municípios. A quantificação de coliformes foi feita através do método de contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC). A contagem de coliformes para mostras de águas subterrâneas e superficiais foi de 3.443 UFC 100 mL⁻¹ e 1.291 UFC 100 mL⁻¹, respectivamente, estando ambas acima do previsto pela legislação.

Myers e Kane (2011) avaliaram o impacto exercido pelo pastejo de gado sobre a qualidade da água na região da Sierra Nevada, localizada no estado da Califórnia, EUA. O experimento analisou amostras de quatro pontos diferentes localizados na Stanislaus National Forest antes e depois a introdução dos animais na área estudada. Os resultados revelaram aumento significativo na concentração de *E. coli* em quase todos os locais, com exceção de um ponto, em que antes da introdução do gado, a concentração média de *E. coli* já encontrava-se elevada, mostrando a atividade pecuária como responsável pela poluição generalizada das águas superficiais estudadas.

2.2 *E. coli* PATOGÊNICA

Dentro do grupo de coliformes, existem algumas linhagens de *E. coli* que desenvolveram diferentes fatores de virulência que tornam possível sua adaptação a novos nichos e permitem que as mesmas provoquem uma variedade de doenças intestinais e extra intestinais. Na maioria das vezes, essas características são codificadas por fragmentos de material genético móvel que pode ser transmitido entre diferentes cepas, ou por genes cromossômicos, originando patótipos específicos de *E. coli*. Estes patótipos podem causar três síndromes clínicas: doença entérica, infecções do trato urinário e sepse/meningite (KAPER *et al.*, 2004).

Uma dessas linhagens é a de *E. coli* Enterohemorrágica (EHEC), que recebe essa designação pois provoca colite hemorrágica e síndrome hemolítica urêmica (SHU) em humanos, produzindo a toxina Shiga, que encontra receptores nas células epiteliais entéricas e em células renais, causando morte celular. O principal reservatório deste patógeno na natureza é o trato entérico de bovinos, e a transmissão se dá através do consumo de carnes mal processadas além de água e vegetais contaminados (MITTELSTAEDT; CARVALHO, 2006).

A *E. coli* é também o agente etiológico da colibacilose, uma causa importante de diarreia em bezerros neonatos. É o primeiro desafio imunológico que o animal enfrenta. Esta doença ocorre entre o 1º e 7º dia de vida do animal. A taxa de infecção pode alcançar 90% e, se não tratada a tempo, pode ser fatal. A multiplicação de *E. coli* na mucosa entérica resulta na alta produção de toxinas, estimulando a secreção de água e eletrólitos no lúmen intestinal. Isso acaba resultando em quadros de diarreia intensa, enterite, desidratação severa, podendo também ocorrer sepse e choque, ocasionando o óbito do animal (HOU *et al.*, 2020). Tradicionalmente, o combate a essas debilitações é feita através do uso de antibióticos, principalmente de amplo espectro.

2.3 RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS

Antibióticos são definidos como compostos químicos originados através de microrganismos ou seus análogos sintéticos, com capacidade de impedir ou reduzir o crescimento microbiano. Microrganismos produtores de antibióticos utilizam esta substância para fins de perpetuação de sua espécie e proteção, enquanto o ser humano a usa de forma terapêutica, no tratamento de doenças (SPINOSA *et al.*, 2017).

Na Medicina Veterinária os antibióticos são utilizados com variados fins. Podem ser empregados de forma terapêutica, ou seja, quando existe doença clínica e deseja-se efetuar o tratamento. Na profilaxia, são utilizados sem a presença prévia de doença, com o objetivo de conferir proteção contra possíveis infecções. Nesse mesmo sentido, há também o uso metafilático, que é realizado quando alguns animais de um rebanho apresentam determinada doença infectocontagiosa e, nesse caso, todos recebem o tratamento com a finalidade de evitar que a doença se instale em todo o lote. Além disso, também é relatado o emprego de antibióticos como aditivo em rações, em doses subterapêuticas com o único propósito de melhorar o desempenho zootécnico dos animais (SPINOSA *et al.*, 2017).

Todavia, um microrganismo pode adquirir a capacidade de suportar os efeitos de determinado fármaco antimicrobiano ao qual antes foi suscetível. Tal evento é denominado como resistência. Enquanto o antibiótico elimina micróbios suscetíveis, as bactérias que eventualmente sobrevivam normalmente manifestam alguma propriedade responsável por sua manutenção, ou seja, desenvolvem resistência (TORTORA *et al.*, 2019). No entanto, é importante ressaltar que, individualmente, nenhum antibiótico é capaz de impedir o desenvolvimento de todas as formas microbianas, e que certos tipos de resistência configuram um aspecto inerente de todos os microrganismos (MADIGAN *et al.*, 2019). Para fins epidemiológicos, o CDC (2006) descreve os organismos resistentes a múltiplas drogas (MDROs, de *multidrug resistant organisms*), como linhagens de microrganismos que já desenvolveram resistência a uma ou mais classes de antimicrobianos.

Os mecanismos que geram resistência normalmente são oriundos de mutações no DNA e são geneticamente codificados pelo cromossomo ou pelo DNA plasmidial, sendo este denominado plasmídeo R ou fator de resistência. Essas alterações no material genético podem ser horizontalmente transmitidas através de processos como a conjugação ou a transdução, para diferentes populações de bactérias. Uma vez adquiridos, tais genes são passados adiante verticalmente para a progênie (TORTORA *et al.*, 2019).

Apesar disso, estudos revelaram a ocorrência de genes bacterianos responsáveis por conferir resistência a certas classes de antibióticos em amostras provenientes de solos congelados, datados de mais de 30 mil anos atrás. Isso indica que o fenômeno de resistência bacteriana existe naturalmente no ambiente, muito antes da descoberta e uso universalizado destas drogas na Medicina Humana e Veterinária, o que apenas acelerou sua disseminação (MADIGAN *et al.*, 2019).

2.3.1 Resistência em *E. coli* em água para dessedentação animal

Sabe-se que bactérias oriundas de humanos e animais são constantemente liberadas em águas residuais no ambiente. Baquero *et al.* (2008) citam as águas residuais e os ambientes superficiais aquáticos e terrestres entre os principais reatores de resistência a antibióticos. A água compõe não somente uma rota para disseminação de organismos multirresistentes entre humanos e animais, como também é um percurso onde genes de resistência são inseridos em ecossistemas bacterianos naturais. Neste cenário, tais populações de bactérias servem como reservatório de elementos genéticos de resistência no ambiente.

Jang *et al.* (2017) relataram que *E. coli* tem sido utilizada em estudos que analisaram elementos responsáveis por resistência a antibióticos consumidos pelos seus hospedeiros, por fazer parte da microbiota intestinal de animais homeotérmicos. Um estudo realizado na África do Sul avaliou o perfil de resistência a antibióticos de *E. coli* em duas comunidades rurais, Dibate e Verdwall. Foram coletadas amostras de água oriundas de tanques de armazenamento e torneiras de poço, e destas, as que apresentaram unidades formadoras de colônia de coliformes fecais foram avaliadas com antibiograma. Dos antibióticos testados, os percentuais mais notáveis de resistência foram para vancomicina (que atingiu 56,7% nos isolados procedentes de Dibate e 57,6% nos de Verdwall) e para ampicilina, que chegou a 78,8% nos isolados oriundos de Verdwall (PHOKELA *et al.*, 2011).

2.4 IMPLICAÇÕES DA INGESTÃO DE ÁGUA CONTAMINADA POR COLIFORMES

É de fundamental importância monitorar periodicamente a água que é ofertada aos animais, pois a presença de *E. coli* em recursos hídricos indica contaminação fecal, e sua ingestão representa um grande risco de acometimento do animal por outros microrganismos potencialmente patogênicos de transmissão orofecal (MADIGAN *et al.*, 2019).

Além disso, a transferência horizontal de genes entre bactérias normais de um determinado ambiente e bactérias patogênicas é uma via importante de disseminação de resistência a fármacos antimicrobianos (TORTORA *et al.*, 2019). Quando o animal consome água contaminada por microrganismos que já manifestam resistência, estes podem transferir horizontalmente seus genes para as bactérias da microbiota do trato gastrointestinal, tornando-as reservatório para genes de resistência. Com isso, os animais ao movimentarem-se em

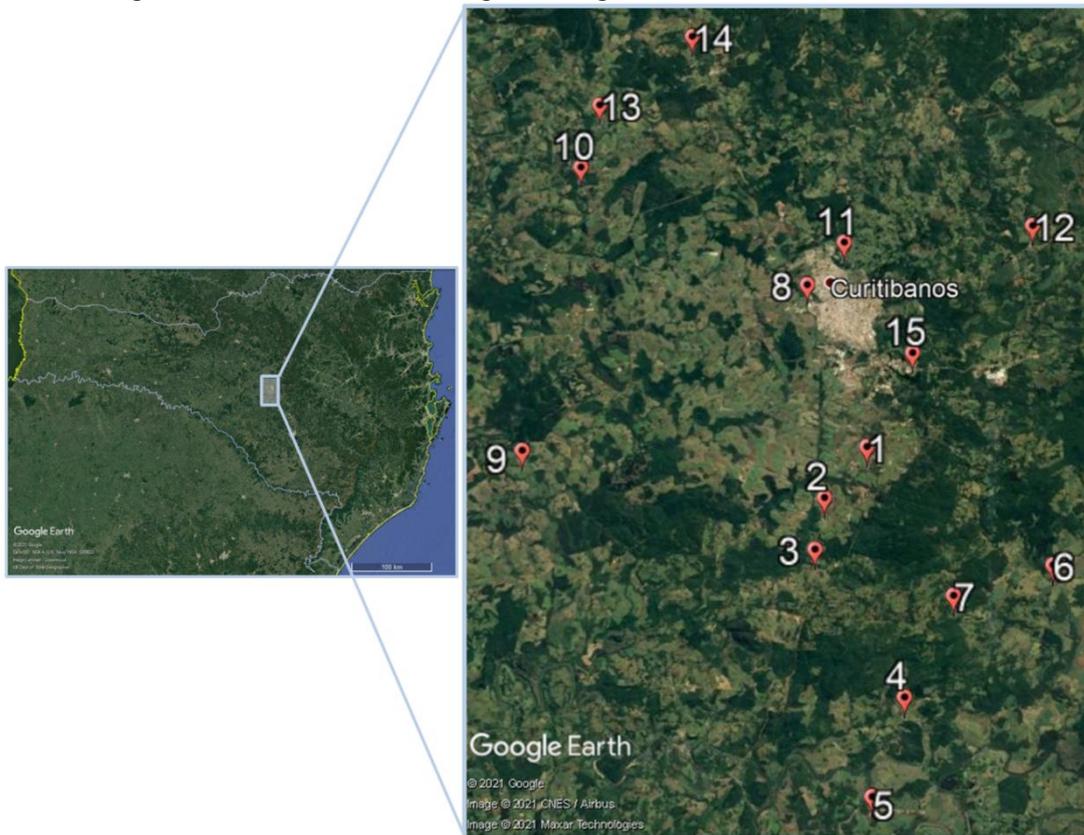
diferentes locais de uma propriedade e defecando, estão também liberando uma alta carga microbiana intestinal nesses pontos, contaminando assim solo e água (TEUBER, 2001).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETA DE AMOSTRAS

Os pontos de coleta estiveram localizados 15 em propriedades com animais de produção na microrregião de Curitibanos – SC (Figura 1 e Tabela 1), especificamente de locais onde os mesmos bebem. Todas as coletas se concentraram no dia 23 de julho de 2020. Para cada ponto, foi coletada uma amostra de 100 mL de água do local, no corpo d'água simulando a distância, a partir da margem, que os animais alcançam ao beber água.

Figura 1 – Pontos de amostragem de água em Curitibanos, SC, 2020.



Fonte: Google Earth (2021).

Tabela 1 – Dados referentes aos pontos de coleta visitados. Curitibanos, SC, 2020.

Ponto	Localidade	Tipo de fonte	Tratamento realizado	Animais na propriedade
1	SC-120	Tanque	Nenhum	20 ovinos
2	SC-120	Tanque	Nenhum	11 ovinos, 3 equinos
3	SC-120	Sanga	Nenhum	30 suínos, 10 bovinos
4	Horizolândia	Tanque	Nenhum	50 bovinos
5	Horizolândia	Tanque	Nenhum	20 suínos

6	Rio Cachorros	Rio	Nenhum	9 bovinos
7	Horizolândia	Bebedouro	Nenhum	2 bovinos
8	Bairro São Francisco	Arroio	Nenhum	2 bovinos
9	Capão da Mortandade	Poço	Nenhum	45 bovinos
10	Marombas	Poço	Nenhum	20 bovinos
11	Lagoinha	Tanque	Nenhum	20 bovinos
12	Estrada Velha	Tanque	Nenhum	6 bovinos, 3 ovinos
13	Marombas	Tanque	Nenhum	30 bovinos
14	Marombas	Tanque	Nenhum	10 bovinos
15	Bairro Universitário	Tanque	Nenhum	4 ovinos

Fonte: Elaborada pelo autor (2020).

Seguindo as recomendações da FUNASA (2013), as amostras foram armazenadas em frascos de vidro graduados com tampa (Figura 2), previamente autoclavados, com adição de duas gotas de tiosulfato de sódio (Figura 3), em concentração de 10%, e condicionadas em recipiente de isopor contendo gelo rígido até chegada das mesmas ao laboratório, onde foi realizada a inoculação no meio de cultivo.

Figura 2 – Frascos utilizados para coleta e transporte das amostras de água até o laboratório.



Fonte: Acervo pessoal.

Figura 3 – Reagente tiosulfato de sódio, utilizado para preparo da solução que foi adicionada em cada frasco de coleta.



Fonte: Acervo pessoal.

3.2 AVALIAÇÃO DE COLIFORMES

A avaliação de coliformes foi feita através da técnica de tubos múltiplos (APHA, 2012). No teste presuntivo, para cada amostra, foram utilizados: três tubos de ensaio, cada um contendo 10 mL de caldo Lauril Triptose (Figura 4) em concentração dupla; e seis tubos de ensaio, cada um contendo 10 mL de caldo Lauril Triptose em concentração simples; todos contendo um tubo de Durham em seu interior.

Figura 4 – Meio de cultura caldo Lauril Triptose KASVI™.



Fonte: Acervo pessoal.

Nos três tubos com caldo em concentração dupla, foi adicionado um volume de 10 mL de amostra de água. Em três dos tubos com caldo em concentração simples, foi adicionado um volume de 1 mL de amostra, e nos outros três, 0,1 mL de amostra (Figura 5).

Figura 5 – Tubos do teste presuntivo na estufa bacteriológica após inoculação das amostras.



Fonte: Acervo pessoal.

A incubação foi feita a 35°C, em uma estufa bacteriológica, durante 48 horas. Transcorrido este período, procedeu-se à leitura dos resultados, através da observação de crescimento bacteriano associado à presença de gás no interior do tubo de Durham, indicando resultado positivo (Figura 6). Os tubos positivos no teste presuntivo seguiram para o teste confirmativo de coliformes fecais, no qual o meio de cultura utilizado é o caldo EC (Figura 7).

Figura 6 – Tubos do teste presuntivo com resultado positivo (esquerda) e negativo (direita).



Fonte: Acervo pessoal.

Figura 7 – Meio de cultura caldo EC KASVI™.



Fonte: Acervo pessoal.

Nesta etapa, o conteúdo de cada tubo positivo para o teste presuntivo foi homogeneizado por inversão previamente à inoculação dos tubos contendo caldo EC. Com uma alça de platina previamente flambada e resfriada, uma alíquota foi transferida para um tubo com 10 mL de caldo EC e um tubo de Durham em seu interior. A incubação na estufa foi

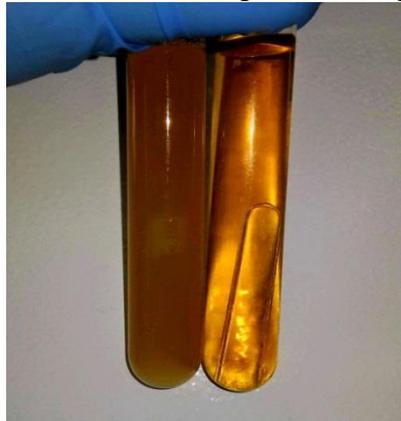
feita a 44,5°C, durante 24 horas (Figura 8). Os parâmetros utilizados para leitura do teste presuntivo foram os mesmos para o teste EC, ou seja, crescimento microbiano acompanhado da produção de gás (Figura 9).

Figura 8 – Tubos do teste EC na estufa bacteriológica após inoculação dos tubos positivos na fase do Teste Presuntivo.



Fonte: Acervo pessoal.

Figura 9 – Tubos do teste EC com resultado positivo (esquerda) e negativo (direita).



Fonte: Acervo pessoal.

3.2.1 Quantificação de coliformes fecais

O número mais provável (NMP) de coliformes fecais por 100 mL ($\text{UFC } 100 \text{ mL}^{-1}$) foi estimado com base no número de tubos positivos neste teste, para séries de 3 tubos com inóculos de 10 mL, 1 mL e 0,1 mL, e respectivos intervalos de confiança de 95% (ANEXO A) (BLODGETT, 1998).

3.2.2 Classificação da água

As amostras foram classificadas em Classes 1, 2, 3 e 4, de acordo com o que dispõe a Resolução N° 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (2005), em que: na Classe 1 admite-se quantidade de até 200 coliformes termotolerantes por 100 mililitros; na Classe 2, admite-se até 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros; na Classe 3, admite-se até 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em água empregada na dessedentação de animais em confinamento. A partir de 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros de água destinada ao consumo animal, a mesma se enquadra na Classe 4.

3.3 ISOLAMENTO

Dentre os tubos positivos para o teste de coliformes fecais, foram selecionados quatro tubos equivalentes às amostras mais diluídas no teste presuntivo, e os mesmos foram utilizados para o isolamento de colônias de *E. coli*.

O procedimento foi feito no interior de uma câmara de fluxo laminar previamente desinfetada com álcool 70%. Cada tubo teve seu conteúdo homogeneizado por inversão e, com uma alça de platina previamente flambada e resfriada, uma alíquota de cada tubo foi estriada de forma simples em uma placa de Petri contendo Ágar MacConkey (Figura 11), um meio de cultivo diferencial que permite o crescimento identificação de colônias de enterobactérias, ilustrado na Figura 10 (ANVISA, 2004).

Figura 10 – Meio de cultura Ágar MacConkey KASVI™.



Fonte: Acervo pessoal.

Figura 11 – Fase de estriamento de amostras positivas no teste EC para o Ágar MacConkey.



Fonte: Acervo pessoal.

Através do estriamento simples, foi feita a inoculação das placas. Após esta etapa, as mesmas foram incubadas na incubadora BOD a 36°C, durante 24 horas. Posteriormente, de cada placa foi selecionada uma colônia isolada com coloração rósea, para realização do teste de suscetibilidade a antimicrobianos.

Assim, de cada uma das 15 amostras a campo, 4 colônias foram selecionadas e avaliadas perante a resistência a antibióticos, conforme metodologia de Bortoloti *et al.* (2018).

3.4 ANTIBIOGRAMA

O antibiograma foi feito através do teste de disco-difusão (CLSI, 2002). Para este teste, cada uma das 4 colônias selecionadas das placas de Ágar MacConkey na etapa anterior foi transferida para um tubo de ensaio contendo 10 mL de caldo Mueller Hinton (Figura 12). Este procedimento foi realizado dentro de uma câmara de fluxo laminar previamente desinfetada com álcool 70%, para evitar a contaminação do meio de cultivo por outros microrganismos indesejados. Com a alça de platina já flambada e resfriada, tocou-se na colônia escolhida e transferiu-se o inóculo para o tubo de ensaio. Após a repicagem, os tubos foram incubados a 35°C em uma estufa incubadora BOD, durante 12 horas.

Figura 12 – Meio de cultura caldo Mueller Hinton KASVI™.



Fonte: Acervo pessoal.

Transcorrido o tempo de incubação, foi feita a semeadura da suspensão bacteriana obtida em cada tubo em placas contendo Ágar Mueller Hinton. Dentro da câmara de fluxo laminar, para cada tubo com a suspensão, realizou-se a homogeneização por inversão e, posteriormente, um suabe previamente esterilizado foi embebido na mesma, pressionando-o contra as paredes do tubo para remover o excesso do líquido. Com o suabe, a amostra foi espalhada cobrindo todo o ágar da placa.

Para cada isolado, foram testados quatro medicamentos, que abrangem três tipos de antibióticos com mecanismos de ação distintos, com base em padrões indicados pela ANVISA. Dois discos diferentes impregnados com antibiótico foram colocados em cada placa semeada, e estas foram incubadas na estufa a 35°C, por um intervalo de 16-18 horas.

As quatro drogas testadas são divididas nos grupos A, B e C, de acordo com a ordem de escolha que deve ser adotada para o tratamento de infecções causadas por enterobactérias (LABORCLIN, 2011).

Para o grupo A, o antibiótico de escolha foi a Ampicilina, uma penicilina semi-sintética, do grupo das aminopenicilinas, que age inibindo a síntese da parede celular dos microrganismos (NOVARTIS, 2015).

Além disso, foi testada a associação entre Ampicilina e Sulbactam, um fármaco inibidor irreversível de β -lactamases produzidas por bactérias resistentes à classe dos β -lactâmicos (EUROFARMA LABORATÓRIOS S.A., 2014).

Para o grupo B, a Ciprofloxacina foi testada, principal representante das Quinolonas, seu mecanismo de ação se dá através da inibição da atividade da DNA-girase ou topoisomerase II (ANVISA, 2007).

Para o grupo C, a Tetraciclina foi testada. Sua ação consiste na ligação à porção 30S do ribossomo, causando bloqueio da ligação do tRNA e, conseqüentemente, impedindo a síntese de proteínas (ANVISA, 2007).

Transcorrido o tempo de incubação, com o auxílio de uma régua, foi procedida à medição dos valores em milímetros de diâmetro dos halos de inibição produzidos pelas drogas testadas frente a cada isolado. Todos os valores foram reunidos em uma planilha e classificados em sensível (S), intermediário (I) e resistente (R), com base nos pontos de corte estabelecidos no Manual de Antibiograma Laborclin (2019), apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Valores de halos inibitórios esperados para *Enterobacteriaceae*.

Agente	Discos	Halos de inibição (mm)		
		R	I	S
Ampicilina	10 µg	≤13	14-16	≥17
Ampicilina + Sulbactam	10 µg / 10 µg	≤11	12-14	≥15
Ciprofloxacina	5 µg	≤21	22-25	≥26
Tetraciclina	30 µg	≤11	12-14	≥15

Fonte: Adaptado de Laborclin (2019).

De forma a controlar a acurácia e reprodutibilidade do teste de sensibilidade a antimicrobianos através da técnica de disco-difusão em ágar, utilizou-se uma amostra de *Escherichia coli* ATCC® 25922, uma cepa de controle de qualidade recomendada pelo CLSI, obtida da *American Type Culture Collection*. Os intervalos de valores para o diâmetro do halo inibitório esperado para a cepa em questão são: de 15 a 22 milímetros para Ampicilina 10 µg; de 19 a 24 milímetros para Ampicilina 10 µg + Sulbactam 10 µg; de 29 a 37 milímetros para Ciprofloxacina 5 µg; e entre 18 e 25 milímetros para Tetraciclina 30 µg (LABORCLIN, 2019).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 AVALIAÇÃO DE COLIFORMES FECAIS

Os resultados obtidos na análise de coliformes fecais encontram-se agrupados na Tabela 3. Nela, é possível observar que 33,33% das amostras analisadas não estão em conformidade com o que determina a Resolução N° 357 CONAMA (2005), para águas destinadas à dessedentação animal, excedendo o limite permitido de até 1.000 coliformes termotolerantes a cada 100 mL de água.

Tabela 3 – Resultados da análise de coliformes fecais. Dados obtidos a partir de 15 amostras coletadas em propriedades rurais, provenientes de água destinada à dessedentação animal. Curitiba, SC, 2020.

Amostra	NMP coliformes fecais 100 mL ⁻¹	Classe	Conformidade para dessedentação animal
1	460	2-3	Sim
2	> 1.100	4	Não
3	240	2-3	Sim
4	460	2-3	Sim
5	1.100	4	Não
6	460	2-3	Sim
7	1.100	4	Não
8	> 1.100	4	Não
9	43	1	Sim
10	Não detectados	1	Sim
11	11	1	Sim
12	1.100	4	Não
13	240	2-3	Sim
14	21	1	Sim
15	240	2-3	Sim

Fonte: Elaborada pelo autor (2020).

Em estudo realizado no Vale do Taquari, composto por 36 municípios localizados ao Centro-Leste do estado do Rio Grande do Sul, Bortoli *et al.* (2018), avaliaram a qualidade microbiológica da água destinada ao consumo humano e à dessedentação animal em propriedades rurais produtoras de leite no Rio Grande do Sul. Foi observado que 77,9% das propriedades incluídas no estudo não realizavam qualquer tipo de tratamento na água que era ofertada aos animais, enquanto no presente trabalho, este percentual correspondeu a 100%. Além disso, os resultados obtidos revelaram que a média de coliformes termotolerantes nas

amostras de água de consumo animal foi de 1.798 UFC 100 mL⁻¹, com desvio padrão igual a 6,0.

Altos níveis de coliformes também foram observados em amostras de água provenientes de lagos dentro do Zoológico da Universidade Federal do Mato Grosso. As coletas foram realizadas em 7 pontos, e todas as amostras apresentaram número de coliformes termotolerantes superior ao previsto pela Resolução CONAMA N°357/05, variando entre $5,5 \times 10^3$ e $3,6 \times 10^6$ coliformes por 100 mL (FARIA *et al.*, 2016).

Similarmente, Rosa *et al.* (2013), avaliaram a qualidade da água de consumo animal em propriedades rurais da Região de Pelotas, município localizado na região do estado do Rio Grande do Sul. Neste trabalho conduzido na Universidade Federal de Pelotas, foi coletado um total de 16 amostras de água destinada à dessedentação animal, oriundas de 10 propriedades rurais. Foi constatado que 4 amostras, procedentes de 3 propriedades diferentes, demonstraram uma variação na contagem de coliformes termotolerantes, entre 1.200 a 92.000 UFC 100 mL⁻¹, excedendo o limite permitido pela legislação.

Outro trabalho, conduzido no município de Jaboticabal, situado na Região Metropolitana de Ribeirão Preto – SP, em dois intervalos de tempo situados entre julho e setembro do ano de 2008, e entre fevereiro e abril de 2009, Pinto *et al.* (2010), analisaram característica da água de consumo animal na área rural da Microbacia Hidrográfica do Córrego Rico. Os autores constataram que na estação seca (entre julho e setembro), os níveis de *E. coli* variaram de ausente até 8.700 UFC 100 mL⁻¹ e, na estação chuvosa (entre fevereiro e abril), estes valores variaram entre ausente até 2.500 UFC 100 mL⁻¹. Um percentual de 27,7% do total de amostras procedentes de bebedouros encontravam-se em desconformidade com os padrões determinados pela legislação – que neste estudo, utilizou-se como parâmetro a Resolução N° 396/08 do Conselho Nacional do Meio Ambiente, que dispõe sobre a classificação de águas subterrâneas, e estabelece limite tolerável de até 200 UFC de *E. coli* a cada 100 mL nas águas destinadas à dessedentação animal –, portanto sendo classificadas como impróprias para este uso em ambas as estações.

Em estudo realizado por Souza *et al.* (1992), no qual se verificou a qualidade microbiológica da água empregada na dessedentação de animais de diferentes espécies, foram analisadas amostras de água procedentes de 113 bebedouros, localizados em 60 propriedades no município de Botucatu, localizado no estado de São Paulo. Os resultados obtidos demonstraram que, em 14 amostras, o NMP foi superior a 4.000 coliformes fecais por 100 mL, representando 12,4% do total.

Todavia, devido à escassez de estudos que abordem, especificamente, a contagem de coliformes termotolerantes presentes em água destinada ao consumo animal, os resultados de outros trabalhos de natureza semelhante serão discutidos adiante.

Em trabalho realizado por Vadde *et al.* (2018), foram avaliadas 25 amostras de água procedentes de diferentes pontos ao longo do Rio Tiaoxi, localizado na China. O rio em questão abastece o setor industrial e agrícola, além de ser fonte de água potável para várias cidades ao norte da Província de Zhejiang. A zona de estudo inclui áreas domésticas, industriais e agrícolas, no outono de 2014, verão e inverno de 2015 e, em contrapartida ao observado no presente trabalho, a maior contagem de coliformes fecais obtida atingiu apenas 3,62 UFC por 100 mL de água.

Outro estudo, conduzido por Buzanello *et al.* (2008), verificou a quantidade de coliformes fecais em amostras de água oriundas de 4 pontos do Lago Municipal de Cascavel (PR), em 4 meses subsequentes, com o objetivo de determinar a potabilidade para humanos. Foi observado que, 31,25% das amostras analisadas encontravam-se inadequadas para consumo humano, conforme Resolução N° 357 CONAMA (2005). Além disso, os resultados obtidos demonstraram que, no primeiro mês de estudo, 50% das amostras apresentaram NMP superior a 1.000 coliformes fecais por 100 mL, e nos 3 meses seguintes, 25% das amostras ultrapassaram este limite, portanto, sendo consideradas inadequadas para consumo animal.

4.2 TESTE DE SUSCETIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS

Encontram-se agrupados na Tabela 4 os valores em milímetros de diâmetro dos halos de inibição produzidos pelos antibióticos testados diante de cada isolado, no teste de suscetibilidade a antimicrobianos por disco-difusão, bem como suas respectivas classificações em sensível (S), intermediário (I) e resistente (R), com base em valores de referência esperados para *Enterobacteriaceae*, estabelecidos no Manual de Antibiograma Laborclin (2019).

Tabela 4 – Resultados do teste de suscetibilidade a antimicrobianos por disco-difusão. Dados obtidos a partir de 15 amostras coletadas em propriedades rurais, provenientes de água destinada à dessedentação animal. Curitiba, SC, 2020.

Código do isolado (amostra/tubo)	Diâmetro do halo obtido (mm) / Classificação							
	Ampicilina 10 µg		Ampicilina + Sulbactam 10 / 10 µg		Ciprofloxacina 5 µg		Tetraciclina 30 µg	
A1T4	23	S	23	S	42	S	30	S

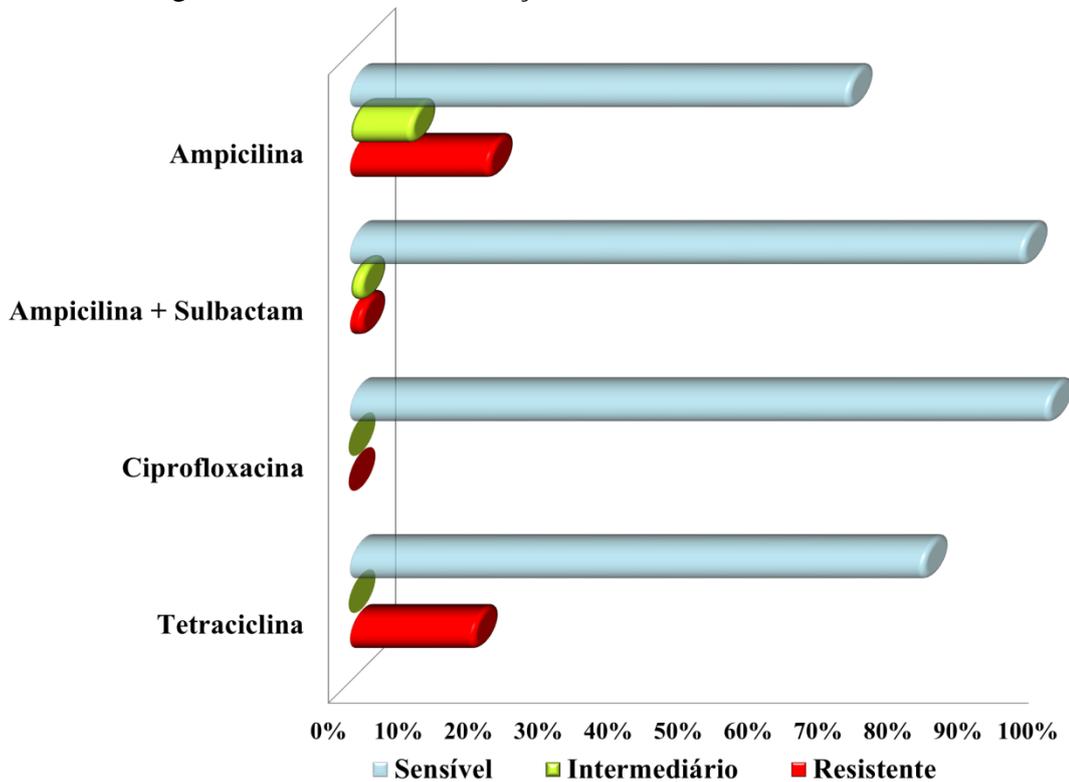
A1T5	23	S	23	S	40	S	30	S
A1T6	17	S	20	S	37	S	28	S
A1T8	19	S	19	S	40	S	28	S
A2T6	12	R	20	S	36	S	0	R
A2T7	11	R	20	S	36	S	0	R
A2T8	13	R	22	S	35	S	0	R
A2T9	11	R	20	S	34	S	0	R
A3T3	18	S	19	S	33	S	25	S
A3T4	18	S	19	S	36	S	26	S
A3T5	21	S	22	S	38	S	27	S
A3T6	19	S	20	S	36	S	26	S
A4T4	17	S	19	S	35	S	23	S
A4T5	21	S	23	S	43	S	25	S
A4T6	16	I	18	S	35	S	23	S
A4T8	18	S	20	S	38	S	25	S
A5T5	0	R	18	S	35	S	0	R
A5T6	20	S	21	S	33	S	27	S
A5T7	24	S	24	S	41	S	29	S
A5T8	21	S	22	S	41	S	24	S
A6T4	14	I	21	S	35	S	0	R
A6T5	19	S	22	S	39	S	28	S
A6T6	17	S	22	S	41	S	21	S
A6T9	19	S	19	S	39	S	9	R
A7T5	17	S	21	S	35	S	24	S
A7T6	18	S	22	S	35	S	25	S
A7T7	20	S	10	R	39	S	27	S
A7T8	18	S	21	S	35	S	26	S
A8T6	18	S	22	S	43	S	27	S
A8T7	8	R	21	S	37	S	8	R
A8T8	19	S	22	S	40	S	9	R
A8T9	0	R	14	I	45	S	25	S
A9T1	19	S	20	S	45	S	25	S
A9T2	17	S	18	S	42	S	27	S
A9T3	25	S	28	S	52	S	35	S
A9T4	11	R	21	S	38	S	25	S
A11T3	15	I	20	S	40	S	27	S
A11T4	19	S	19	S	39	S	26	S
A11T6	19	S	20	S	37	S	25	S
A11T6	26	S	21	S	39	S	28	S
A12T5	15	I	22	S	31	S	9	R
A12T6	21	S	22	S	37	S	29	S
A12T7	19	S	21	S	33	S	27	S
A12T8	20	S	20	S	35	S	25	S
A13T3	8	R	19	S	31	S	28	S
A13T4	19	S	20	S	35	S	25	S

A13T5	21	S	15	S	36	S	27	S
A13T6	17	S	18	S	42	S	28	S
A14T1	17	S	20	S	33	S	25	S
A14T3	22	S	22	S	37	S	26	S
A14T5	20	S	22	S	38	S	28	S
A14T6	19	S	19	S	36	S	25	S
A15T3	0	R	15	S	40	S	25	S
A15T4	16	I	21	S	37	S	27	S
A15T5	22	S	21	S	35	S	23	S
A15T6	0	R	17	S	35	S	26	S

Fonte: Elaborada pelo autor (2020).

O percentual de isolados classificados em resistentes e intermediários frente à associação entre Ampicilina e Sulbactam foi igual a 1,78% e 1,71%, respectivamente. 17,85% dos isolados manifestaram resistência à Tetraciclina, enquanto 100% dos isolados foram sensíveis à Ciprofloxacina (Figura 13). Para a Ampicilina, 8,92% de isolados apresentaram sensibilidade intermediária, ao passo que 19,64% expressaram resistência, sendo este o fármaco testado com o maior percentual de isolados resistentes.

Figura 13 – Percentual de isolados resistentes, intermediários e sensíveis para cada antibiótico testado. Dados obtidos a partir de 15 amostras coletadas em propriedades rurais, provenientes de água destinada à dessedentação animal. Curitiba, SC, 2020.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2020.

Os dados do presente estudo são semelhantes ao que foi observado por Phokela *et al.* (2011). Ao avaliarem o perfil de resistência a antibióticos em *E. coli* isolada de amostras de água de tanques de armazenamento e torneiras de poço, em duas comunidades rurais na África do Sul, constataram que, dos antibióticos utilizados nos ensaios, o maior percentual de resistência observado também se deu frente à Ampicilina. Altos níveis de resistência à ampicilina e à tetraciclina também foram verificados por Olowe *et al.* (2008) em um estudo sobre o padrão de resistência a antimicrobianos em *E. coli* isolada de amostras humanas em Osogbo, localizada no sudoeste da Nigéria, sendo iguais a 91,6% e 86,7%, respectivamente.

Uma alta prevalência de genes de resistência a β -lactâmicos também foi previamente observada por Faria *et al.* (2016) que, analisaram amostras de água oriundas de lagos no Zoológico da Universidade Federal do Mato Grosso, localizado na cidade de Cuiabá, MT, próximo a bairros residenciais. O percentual de amostras em que verificou-se a presença destes genes correspondeu a 88,88%.

Okai *et al.* (2019) em seu estudo, avaliaram o perfil de resistência a antibióticos em coliformes fecais isolados de 5 amostras de água provenientes do fundo do Rio Tama, localizado em Tóquio. Foi observado que a prevalência de resistência à Ampicilina Tetraciclina em *E. coli* correspondeu a 14,8%, dos isolados, ao mesmo tempo que, para Ciprofloxacina, a prevalência foi de 0%. Similarmente, Carnelli *et al.* (2017), também verificaram níveis altas taxas de resistência à Ampicilina (68%) e à Tetraciclina (42%), em amostras de água coletadas em diferentes ambientes aquáticos, em Cantão do Ticino, situado ao Sul da Suíça.

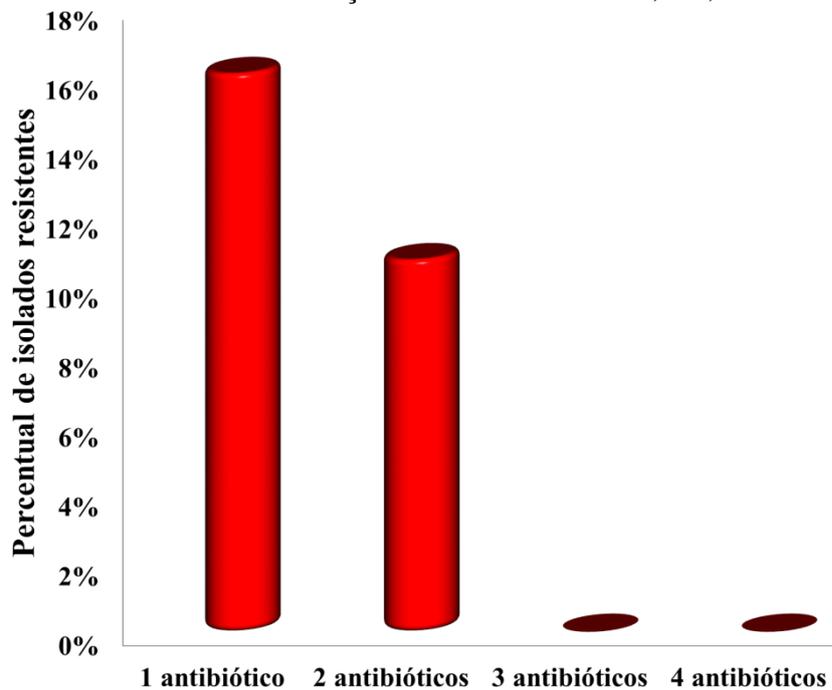
Em adição, Bortoloti *et al.* (2018), analisando amostras de água oriundas de 11 fontes potenciais de captação para consumo, no município de Itajubá, situado no estado de Minas Gerais, avaliaram o perfil de resistência de bactérias heterotróficas a antibióticos na estação chuvosa e seca. Os autores constataram que, semelhante aos dados obtidos no presente estudo, o antibiótico com menor percentual de resistência foi a Ciprofloxacina na estação chuvosa e seca, representando 1 e 8% do total de isolados resistentes, respectivamente.

Anteriormente, resultados semelhantes foram obtidos por Schneider *et al.* (2009), em estudo que avaliou o perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *E. coli* obtidos de águas superficiais e subterrâneas, em área de produção de suínos. Considerando amostras de água superficial, o percentual de resistência perante o uso de Ampicilina, Tetraciclina e Ciprofloxacina, foi observado em 36,5%, 28,8% e 1,92% das cepas isoladas, respectivamente.

Similarmente, das drogas testadas pelos autores, a Ampicilina e a Tetraciclina estão entre as três com maior índice de isolados resistentes, enquanto a Ciprofloxacina aparece entre os percentuais com menos resistência.

No presente estudo, o percentual de isolados resistentes a apenas um fármaco, dos 4 testados, foi de 16,07%, enquanto o percentual de resistentes a duas drogas simultaneamente foi de 10,71%. Não houve isolados resistentes a três ou mais antibióticos simultaneamente (Figura 14).

Figura 14 – Percentual de isolados resistentes a 1, 2, 3 e 4 antibióticos simultaneamente. Dados obtidos a partir de 15 amostras coletadas em propriedades rurais, provenientes de água destinada à dessedentação animal. Curitiba, SC, 2020.



Fonte: Elaborada pelo autor (2020).

Estes resultados assemelham-se aos do trabalho supracitado, conduzido por Schneider *et al.* (2009), em que foi demonstrado que a maior parte dos isolados procedentes de água de origem superficial manifestou resistência a um antibiótico, representando 28,85% do total, enquanto 12,5% foram resistentes a dois antibióticos, simultaneamente.

Vasconcelos *et al.* (2010) analisaram o perfil de resistência antimicrobiana em *E. coli* isoladas do Açude Santo Anastácio, localizado na cidade de Fortaleza, CE, e os resultados obtidos revelaram que 21% dos isolados apresentaram um índice MAR (*Multiple Antibiotic Resistance*) maior ou igual a 25%, ou seja, resistência a pelo menos dois antibióticos

simultaneamente. Krumperman (1983) define arbitrariamente um índice MAR de 0,2 para *E. coli*, com o objetivo de distinguir uma contaminação de baixo e alto risco em que, quanto maior o MAR, maior o risco.

Adzitey *et al.* (2015) analisaram o perfil de 56 isolados de *E. coli* provenientes de diferentes fontes de água destinada ao consumo de humanos e animais, no Distrito Metropolitano de Tamale, localizado na Gana. Foram testados nove antimicrobianos no total, e foi observado um índice MAR variando entre 0,11 e 0,56, em que 37,5% dos isolados apresentaram índice MAR igual a 0,44, ou seja, resistência contra quatro antibióticos simultaneamente. 30,35% dos isolados manifestaram resistência a três antibióticos (índice MAR 0,33), 16% foram resistentes a dois antibióticos (índice MAR 0,22), e 14,3% a cinco antibióticos (índice MAR 0,56).

Em estudo previamente conduzido por Titilawo *et al.* (2015), analisou-se o índice MAR de *E. coli* para identificar fontes de água com alto risco de contaminação fecal. Os pontos de coleta contemplaram fontes utilizadas para variadas atividades, como produção animal, pesca, uso recreativo, doméstico, irrigação, entre outros. De um total de 300 isolados de *E. coli*, foi constatado que 15% destes demonstraram resistência três ou mais agentes antimicrobianos. A prevalência de resistência contra nove, sete, oito, três, quatro, seis e cinco antibióticos simultaneamente, correspondeu a 4%, 5%, 10%, 16%, 20%, 20% e 25%, respectivamente.

Em outro estudo, realizado por Olowe *et al.* (2018), avaliou-se o padrão de resistência a antibióticos em isolados de *E. coli* oriundos de amostras clínicas humanas que compreenderam urina, fezes, feridas, sangue, esfregaços vaginais e auriculares, coletadas do *Ladoke Akintola University of Technology Teaching Hospital*, localizado ao sul da Nigéria. Foi observado que 65,2% dos isolados eram resistentes a 4 ou mais antimicrobianos, 53,3% eram resistentes a 3 ou mais antibióticos. Todos os isolados demonstraram resistência contra pelo menos um antibiótico.

Com base nos dados obtidos no presente trabalho, ressalta-se que a presença de bactérias resistentes na água destinada à dessedentação de animais é um problema grave. Além de representar um risco à saúde devido à maior dificuldade no tratamento de infecções desta etiologia, estes microrganismos podem realizar a transferência horizontal de seus genes de resistência para diferentes populações de bactérias. Isso resulta na aquisição desses genes por bactérias naturais da microbiota do trato gastrointestinal dos animais, que se multiplicam, criando uma nova população de micróbios resistentes, transformando o animal em um

reservatório. Os animais, ao se deslocarem, eliminam suas fezes, contaminando o solo e a água, o que é ainda mais acentuado em períodos chuvosos, em que a matéria fecal é empurrada para dentro dos corpos d'água. De fato, o relevo acidentado é um fator agravante na região de Curitiba, e estudos prévios já demonstraram que o relevo é um fator fortemente associado a ocorrência de coliformes fecais em água de poços (HELENA *et al.*, 2019).

Diante do exposto, evidencia-se a importância de realizar a análise da condição microbiológica da água, para determinar sua qualidade e indicar o tratamento mais adequado para que a mesma esteja adequada para os animais consumirem. Além disso, a questão de resistência a antibióticos deve ser abordada com seriedade, reiterando o uso consciente dos mesmos, evitando assim, o agravamento deste problema.

5 CONCLUSÃO

Apesar de ser um recurso amplamente consumido pela produção animal, a água não recebe a devida atenção no que diz respeito às suas condições sanitárias. Na microrregião de Curitiba, SC, as comunidades situadas no meio rural muitas vezes não são abastecidas pelas redes de fornecimento de água e, é com certa frequência que é observada a captação deste recurso ocorrendo através de poços, e rios. Em locais com produção animal, a água ofertada aos animais, na maioria das vezes, é proveniente de lagos ou córregos, em que não existe nenhum tipo de tratamento sanitário, onde observou-se que água da maioria dos locais incluídos neste estudo encontravam-se em condições impróprias para esta finalidade. Isto resulta na exposição destes animais a uma grande carga microbiana, em que podem estar incluídos microrganismos patogênicos e manifestando resistência a antibióticos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nessa seção, são listadas todas as publicações feitas a partir dos dados desta monografia, bem como premiações.

1. Título: QUALIDADE DA ÁGUA E OCORRÊNCIA DE COLIFORMES FECAIS EM RECURSOS HÍDRICOS DESTINADOS PARA CONSUMO ANIMAL

Autores: Gabrielle França Ribeiro, Júlia Elizabeth Proença, Natalia Maria Martinazzo Angelo e Sonia Purin da Cruz

Evento: VII Simpósio de Microbiologia da UFMG – Conecta SIM

2. Título: OCORRÊNCIA DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS EM COLIFORMES FECAIS ISOLADOS DE ÁGUA DESTINADA PARA CONSUMO ANIMAL

Autores: Gabrielle França Ribeiro, Júlia Elizabeth Proença, Natalia Maria Martinazzo Angelo, Álvaro Menin, Juliana Cavalli, Heloísa Maria de Oliveira e Sonia Purin da Cruz

Evento: I Simpósio de Zoonoses Aplicado à Saúde Única

Trabalho premiado em 2º lugar da categoria de melhores trabalhos científicos do evento.



3. Título: Occurrence of fecal coliforms and antibiotic resistance in water used for animal drinking in Curitiba – SC

Autores: Gabrielle França Ribeiro, Júlia Elizabeth Proença, Natalia Maria Martinazzo Angelo e Sonia Purin da Cruz

Trabalho submetido à Revista Acta Ambiental Catarinense (Qualis B1), e atualmente encontra-se no processo de revisão.

REFERÊNCIAS

ADZITEY, F.; NAFISAH, S.; HARUNA, A. Antibiotic Susceptibility of *Escherichia coli* Isolated from some Drinking Water Sources in Tamale Metropolis of Ghana. **Current Research In Bacteriology**, [s.l.], v. 8, n. 2, p. 34-40, 15 mar. 2015. Disponível em: <https://scialert.net/abstract/?doi=crb.2015.34.40>. Acesso em: 6 maio 2021.

ANVISA. **Antimicrobianos - Bases Teóricas e Uso Clínico**. 2007. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/rm_controlere/opas_web/modulo1/conceitos.htm. Acesso em: 8 mar. 2020.

ANVISA. **Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos: Módulo IV**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004. 64 p. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/microbiologia/mod_4_2004.pdf. Acesso em: 8 mar. 2020.

APHA, 2012. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 22nd edition. Washington: American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Environment Federation (WEF), 2012.

BAQUERO, F.; MARTÍNEZ, J. L.; CANTÓN, R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. **Current Opinion in Biotechnology**, [s.l.], v. 19, n. 3, p. 260-265, jun. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958166908000591?via%3Dihub>. Acesso em: 26 jun. 2020.

BLODGETT, R. BAM Appendix 2: Most Probable Number From Serial Dilutions. *In*: U. S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological Analytical Manual (BAM)**. 8. ed. [s.l.]: FDA, 1998. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-appendix-2-most-probable-number-serial-dilutions#tables>. Acesso em: 24 fev. 2021.

BORTOLI, J. *et al.* Avaliação microbiológica da água em propriedades rurais produtoras de leite localizadas no Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, [s.l.], v. 12, n. 1, p. 39-53, 2018. Disponível em: <http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/426>. Acesso em: 6 jul. 2020.

BORTOLOTTI, K. C. S. *et al.* Qualidade microbiológica de águas naturais quanto ao perfil de resistência de bactérias heterotróficas a antimicrobianos. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, [s.l.], v. 23, n. 4, p. 717-725, 28 jun. 2018. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-41522018000400717. Acesso em: 1 mar. 2021.

BUZANELLO, E. B. *et al.* Determinação de Coliformes Totais e Termotolerantes na Água do Lago Municipal de Cascavel, Paraná. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 6, n. 1, p. 59-60, set. 2008. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1087>. Acesso em: 2 mar. 2021.

CARNELLI, A.; MAURI, F.; DEMARTA, A. Characterization of genetic determinants involved in antibiotic resistance in *Aeromonas* spp. and fecal coliforms isolated from different aquatic environments. **Research In Microbiology**, [s.l.], v. 168, n. 5, p. 461-471, jun. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/journal/research-in-microbiology/vol/168/issue/5>. Acesso em: 6 mar. 2021.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Management of Multidrug-Resistant Organisms In Healthcare Settings**. [s.l.], 2006. 74 p. Disponível em: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/mdro/>. Acesso em: 12 jun. 2020.

CHEE-SANFORD, J. C. *et al.* Occurrence and Diversity of Tetracycline Resistance Genes in Lagoons and Groundwater Underlying Two Swine Production Facilities. **Applied And Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 67, n. 4, p. 1494-1502, abr. 2001. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/AEM.67.4.1494-1502.2001>. Acesso em: 3 mar. 2020.

CLSI. **M2-A8**: Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão. 8 ed. Wayne, PA, USA: Anvisa, 2002. v. 23. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi_OPASM2-A8.pdf. Acesso em: 3 mar. 2020.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução CONAMA N° 357, de 17 de março de 2005**. Disponível em: <http://www.mpf.mp.br/atuacao-tematica/ccr4/dados-da-atuacao/projetos/qualidade-da-agua/legislacao/resolucoes/resolucao-conama-no-357-de-17-de-marco-de-2005/view>. Acesso em: 3 mar. 2020.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução CONAMA N° 396, de 3 de abril de 2008**. Disponível em: <http://www.mpf.mp.br/atuacao-tematica/ccr4/dados-da-atuacao/projetos/qualidade-da-agua/legislacao/resolucoes/resolucao-conama-no-396-de-3-de-abril-de-2008/view>. Acesso em: 7 jul. 2020.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **INSTRUÇÃO TÉCNICA PARA O PRODUTOR DE LEITE, 31**: Importância da água para bovinos de leite. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. 2 p. Disponível em: <https://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/zootecnia/IZABELLEA.M.DEA.TEIXEIRA/agua.pdf>. Acesso em: 30 maio 2020.

EUROFARMA LABORATÓRIOS S.A. **Sulbactam sódico + ampicilina sódica**. São Paulo: Eurofarma, 2014. Disponível em: <https://www.eurofarma.com.br/wp-content/uploads/2017/05/SulbactamAmpicilina.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2020.

FARIA, A. C. S. *et al.* Detection of resistance genes and evaluation of water quality at zoo lakes in Brazil. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 46, n. 5, p. 860-866, maio 2016. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782016000500860&lng=en&tlng=en. Acesso em: 25 mar. 2021.

FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE. **Manual Prático de Análise de Água**. 4. ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2013. 150 p. Disponível em:

http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/manual_pratico_de_analise_de_agua_2.pdf. Acesso em: 30 maio 2020.

GOOGLE. Digital Globe; CNES. **Google Hearth**, 2021.

HELENA, A. S. *et al.* ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA EM CURITIBANOS - SC E SUA LIGAÇÃO COM FATORES SÓCIO-AMBIENTAIS. **Revista Interdisciplinar de Estudos em Saúde da UNIARP**, Caçador, v. 9, n. 2, p. 15-20, 2019. Disponível em: <https://periodicos.uniarp.edu.br/index.php/ries/article/view/2131>. Acesso em: 03 set. 2021.

HOU, Y.; SUN, J.; ZHANG, F. Study on Clinical Prevention and Treatment of Colibacillosis in Calf. **Asian Case Reports In Veterinary Medicine**, Beijing, v. 09, n. 01, p. 1-9, jan. 2020. Disponível em: <https://m.hanspub.org/journal/paper/34049>. Acesso em: 24 jun. 2020.

JANG, J. *et al.* Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications - a review. **Journal Of Applied Microbiology**, [s.l.], v. 123, n. 3, p. 570-581, 3 jul. 2017. Disponível em: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jam.13468>. Acesso em: 14 jun. 2020.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 2, n. 2, p. 123-140, fev. 2004. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro818>. Acesso em: 26 jun. 2020.

KRUMPERMAN, P. H. Multiple Antibiotic Resistance Indexing of *Escherichia coli* to Identify High-Risk Sources of Fecal Contamination of Foods. **Applied And Environmental Microbiology**, Corvallis, v. 46, n. 1, p. 165-170, jul. 1983. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC239283/>. Acesso em: 25 mar. 2021.

LABORCLIN. **Manual de Antibiograma**. Pinhais: Laborclin Produtos Para Laboratórios Ltda., 2019. 54 p. Disponível em: https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/05/Manual_antibiograma_2019.pdf. Acesso em: 8 mar. 2020.

LEJEUNE, J. T. *et al.* Livestock Drinking Water Microbiology and the Factors Influencing the Quality of Drinking Water Offered to Cattle. **Journal Of Dairy Science**, [s.l.], v. 84, n. 8, p. 1856-1862, ago. 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11518311/>. Acesso em: 24 jun. 2020.

MADIGAN, M. T. *et al.* **Brock Biology of Microorganisms**. 15. ed. Harlow: Pearson, 2019.

MEKONNEN, M. M.; HOEKSTRA, A. Y. **The green, blue and grey water footprint of farm animals and animal products**. Value of Water Research Report Series No. 48. Vol 1. Delft, The Netherlands: UNESCO-IHE Institute For Water Education, 2010. Disponível em: https://waterfootprint.org/media/downloads/Report-48-WaterFootprint-AnimalProducts-Vol1_1.pdf. Acesso em: 10 mar. 2020.

MEIRELLES-PEREIRA, F. *et al.* Ecological aspects of the antimicrobial resistance in bacteria of importance to human infections. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 287-293, dez. 2002. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822002000400002&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 24 jun. 2020.

MITTELSTAEDT, S.; CARVALHO, V. M. *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) O157:H7 - revisão*. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**, [s.l.], v. 24, n. 3, p. 175-182, jul./ago. 2006. Disponível em: https://www.unip.br/presencial/comunicacao/publicacoes/ics/edicoes/2006/03_jul_set/V24_N3_2006_p175-182.pdf. Acesso em: 30 maio 2020.

MYERS, L.; KANE, J. The Impact of Summer Cattle Grazing on Surface Water Quality in High Elevation Mountain Meadows. **Water Quality, Exposure And Health**, [s.l.], v. 3, n. 1, p. 51-62, jun. 2011. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12403-011-0043-x>. Acesso em: 25 jun. 2020.

NOVARTIS. **Ampicilina**. Taboão da Serra: Novartis Biociências, 2015. Disponível em: <https://www.bulas.med.br/p/bulas-de-medicamentos/bula/7546/ampicilina.htm>. Acesso em: 8 mar. 2020.

OKAI, M. *et al.* Antibiotic-resistance of Fecal Coliforms at the Bottom of the Tama River, Tokyo. **Biocontrol Science**, [s.l.], v. 24, n. 3, p. 173-178, 2019. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/bio/24/3/24_173/_article. Acesso em: 6 mar. 2021.

LOWE, O. A. *et al.* Antimicrobial resistant pattern of *Escherichia coli* from human clinical samples in Osogbo, south western Nigeria. **African Journal Of Microbiology Research**, [s.l.], v. 2, p. 8-11, jan. 2008. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/253518963_Antimicrobial_resistant_pattern_of_Escherichia_coli_from_human_clinical_samples_in_Osogbo_south_western_Nigeria. Acesso em: 28 fev. 2021.

PALHARES, J. C. P. **Consumo de água na produção animal**. Comunicado Técnico 102. Comunicado Técnico 102. São Carlos: Embrapa, 2013. 6 p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/92401/1/PROCIJCPP2013.00165.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2020.

PHOKELA, P. T.; ATEBA, C. N.; KAWADZA, D. T. Assessing antibiotic resistance profiles in *Escherichia coli* and *Salmonella* species from groundwater in the Mafikeng area, South Africa. **African Journal of Microbiology Research**, [s.l.], v. 5, n. 32, p. 5902-5909, 30 dez. 2011. Disponível em: <https://academicjournals.org/journal/AJMR/article-abstract/03B8D1829049>. Acesso em: 1. jul. 2020.

PINTO, F. R. *et al.* Características da água de consumo animal na área rural da Microbacia do Córrego Rico, Jaboticabal, SP. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 153-159, 2010. Disponível em: <http://www.arsveterinaria.org.br/index.php/ars/article/view/330>. Acesso em: 24 jun. 2020.

ROSA, D. S. *et al.* Qualidade da água de consumo animal em propriedades rurais da região de Pelotas - RS. XXII CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS, 2013. In: **Anais 2013**. Pelotas: 2013, RS. 4 p. Disponível em: https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2013/CA_00683.pdf. Acesso em: 7 jul. 2020.

SCHNEIDER, R. N.; NADVORNY, A.; SCHMIDT, V. Perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* obtidos de águas superficiais e subterrâneas, em área de produção de suínos. **Biotemas**, [s.l.], v. 22, n. 3, p. 11-17, 20 jun. 2011. Disponível em: <https://periodicos.ufsc.br/index.php/biotemas/article/view/2175-7925.2009v22n3p11>. Acesso em: 25 mar. 2021.

SOUZA, L. C.; LARIA, S. T.; PAIM, G. V. Salmonelas e coliformes fecais em águas de bebida para animais. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 321-327, 1992. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89101992000500004&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 14 mar. 2021.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 742 f.

TITILAWO, Y. *et al.* Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of faecal contamination of water. **Environmental Science And Pollution Research**, [s.l.], v. 22, n. 14, p. 10969-10980, 18 mar. 2015. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11356-014-3887-3>. Acesso em: 6 maio 2021.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiology: an introduction**. 13. ed. Boston: Pearson, 2019.

VADDE, K. *et al.* Assessment of Water Quality and Identification of Pollution Risk Locations in Tiaoxi River (Taihu Watershed), China. **Water**, [s.l.], v. 10, n. 2, p. 183-200, 10 fev. 2018. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4441/10/2/183>. Acesso em: 6 mar. 2021.

VAN EENIGE, M. J. E. M.; COUNOTTE, G. H. M.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M. Drinking Water for Dairy Cattle: always a benefit or a microbiological risk? **Tijdschrift Voor Diergeneeskunde**, [s.l.], v. 2, n. 138, p. 86-99, fev. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23457917/>. Acesso em: 11 jun. 2020.

VASCONCELOS, F. R. *et al.* PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE ESCHERICHIA COLI ISOLADAS DO AÇUDE SANTO ANASTÁCIO, CEARÁ, BRASIL. **Arquivos do Instituto Biológico**, [s.l.], v. 77, n. 3, p. 405-410, set. 2010. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1808-16572010000300405&script=sci_arttext. Acesso em: 25 mar. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals**. Geneva: World Health Organization, 2017. 68 p. Disponível em: https://www.who.int/foodsafety/publications/cia_guidelines/en/. Acesso em: 11 jun. 2020.

ANEXO A – Número Mais Provável por 100 mL, para séries de 3 tubos com inóculos de 10 mL, 1,0 mL e 0,1 mL, e respectivos intervalos de confiança de 95%.

Pos. Tubes			MPN/g	Conf. lim.		Pos. tubes			MPN/g	Conf. lim.	
0.10	0.01	0.001		Low	High	0.10	0.01	0.001		Low	High
0	0	0	<>	-	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	-

Fonte: Blodgett (1998).