



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**

**COLIMETRIA DAS ÁGUAS DO AÇUDE SANTO ANASTÁCIO
(FORTALEZA-CEARÁ) E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE
BACTERIOCINOGÊNICA DE CEPAS ISOLADAS DE *Escherichia coli***

Fábio Roger Vasconcelos

Trabalho Supervisionado (Monografia) apresentado ao Departamento de Engenharia de Pesca do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como parte das exigências para a obtenção do título de engenheiro de pesca.

**FORTALEZA - CEARÁ - BRASIL
Julho/2007**

COMISSÃO EXAMINADORA:

**Prof^a. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira, D.Sc.
Orientador/Presidente**

**Norma Suely Evangelista Barreto, D.Sc.
Membro**

**Oscarina Viana de Souza, D.Sc
Membro**

VISTO:

**Prof. Moisés Almeida de Oliveira, D.Sc
Chefe do Departamento de Engenharia de Pesca**

**Prof. Raimundo Nonato de Lima Conceição, D.Sc
Coordenador do Curso de Engenharia de Pesca**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

V45c Vasconcelos, Fábio Roger.

Colimetria das águas do açude Santo Anastácio (Fortaleza-Ceará) e avaliação in vitro da atividade bacteriocinogênica de cepas isoladas de Escherichia coli / Fábio Roger Vasconcelos. – 2007.

67 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2007.

Orientação: Profa. Dra. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira.

1. Água - Nordeste, Brasil. 2. Água - Qualidade. 3. Água - Colimetria. 4. Engenharia de Pesca. I. Título.

CDD 639.2

Aos meus pais e minha
namorada que sempre me
apoiaram e incentivaram durante
todos esses anos.
Dedico esse trabalho

QUESTIONAMENTOS

Olhar a paisagem
e desviar os olhos.
Cheirar o ar
e senti-lo fétido.
Buscar os peixes
e constatá-los mortos.
Pensar que o homem
é responsável por todo
o desastre.
Saber que o homem
é o culpado de toda
a tragédia.

Quem poderá recuperar
a cor daquelas águas?
Quem poderá ressuscitar
os peixes que flutuam mortos?
Quem poderá trazer de volta
o cheiro da natureza?
Quem?

Regine Limaverde

AGRADECIMENTOS

Primeiramente aos meus pais, que com grande esforço me ajudaram a me manter firme durante todo o curso, que me deram forças para seguir sempre o meu caminho, me dando sempre incentivo, confiança e atenção.

À minha namorada que me deu atenção e compreensão, carinho e paciência em todos os momentos, durante toda a trajetória deste curso.

À minha orientadora, Prof^ª. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira, pela oportunidade, orientação, paciência e tempo dedicados a mim.

À Prof^ª. Silvana Saker, pela disponibilidade, paciência e ajuda com minhas dúvidas.

Aos Professores Marcelo Carmo e Marcelo Augusto pela ajuda prestada durante as fases iniciais do meu projeto de pesquisa.

Às minhas amigas "reginetes", Rosa, Dannielle, Cláudia, Anahy, Gleire, Norma, Oscarina, Darliane, Edirsana, Cristiane, Camila, Rakel, Francileide e Janisi; os meninos, Giuseppe, Carlos e Ricardo; ao agregado Buda, por terem me acompanhado e ter feito desse tempo de laboratório um tempo inesquecível, que sempre estiveram comigo e estarão sempre em meu coração, pois se tornaram amigos incomparáveis.

A todos os professores que fizeram parte de minha vida acadêmica, em especial a professor Raimundo Nonato e Caliúpe Freitas que sempre estiveram dispostos a me ajudar desde o início de minha graduação, em diversos assuntos.

A todos os meus amigos e colegas de graduação que certamente contribuíram de alguma forma para minha vida pessoal e formação profissional.

AO LABOMAR por me disponibilizar o espaço e todo o material necessário para elaboração do seguinte trabalho, e pelo conhecimento adquirido no decorrer da minha experiência de laboratório.

A todos aqueles que, apesar de não citados, colaboraram direta ou indiretamente, para a realização de mais uma importante etapa em minha vida, meus agradecimentos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	08
LISTA DE QUADROS	10
LISTA DE TABELAS	11
RESUMO	12
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1. BALNEABILIDADE	16
2.1.1. Qualidade da Água	17
2.1.2. Saneamento Básico	21
2.2. GRUPO COLIFORMES	27
2.3. TAXONOMIA E CARACTERÍSTICAS DE <i>Escherichia coli</i>	28
2.3.1. <i>Escherichia coli</i> Enteropatogênica (EPEC)	29
2.3.2. <i>Escherichia coli</i> Enterotoxigênica (ETEC)	31
2.3.3. <i>Escherichia coli</i> Enteroinvasiva (EIEC)	32
2.3.4. <i>Escherichia coli</i> Enterohemorrágica (EHEC)	32
2.3.5. <i>Escherichia coli</i> Produtora de Shiga Toxina (STEC) ou Verotoxigênica (VTEC)	33
2.3.6. <i>Escherichia coli</i> Enteroagregativa (EAggEC)	33
2.3.7. <i>Escherichia coli</i> Difusamente Aderente (DAEC)	34
2.3.8. <i>Escherichia coli</i> Facultativamente Enteropatogênica (FEEC)	34
2.3.9. <i>Escherichia coli</i> Uropatogênica (UPEC)	35
2.3.10. <i>Escherichia coli</i> Neo Natal Meningite (NMEC)	35
2.4. BACTERIOCINAS	36
3. MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1. COLETA DAS AMOSTRAS	38
3.2. DILUIÇÕES	40
3.3. NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP) DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES (CT)	40
3.3.1. Prova Presuntiva	40

3.3.2. Prova Confirmatória	40
3.3.3. Prova Completa	41
3.4. NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP) DE <i>Escherichia coli</i>	41
3.5. Provas Bioquímicas	41
3.5.1. Prova de Produção de Indol	42
3.5.2. Prova de Utilização do Citrato de Simmons	42
3.5.3. Prova do Vermelho de Metila (VM)	42
3.5.4. Prova do Voges-Proskauer (VP)	43
3.6. PRODUÇÃO DE BACTERIOCINA	45
3.6.1. Cultivos dos Microrganismos Indicadores	45
3.6.2. Semeadura dos Microrganismos Indicadores	45
3.6.3. Produção de Bacteriocina	46
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5. CONCLUSÕES	62
6. BIBLIOGRAFIA	63

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 01 - Ponto 1 de coleta, nas proximidades do canal de abastecimento do Açude Santo Anastácio, Fortaleza - Ceará. 39
- FIGURA 02 - Ponto 2 de coleta, nas proximidades do sangradouro do Açude Santo Anastácio, Fortaleza - Ceará. 39
- FIGURA 03 - Esquema para quantificação de coliformes termotolerantes e identificação de cepas de *Escherichia coli* isoladas na água do Açude Santo Anastácio, Fortaleza, Ceará. 44
- FIGURA 04 - Esquema para investigação da produção de bacteriocinas sintetizadas por cepas de *Escherichia coli* isoladas da água do Açude Santo Anastácio, Fortaleza, Ceará, frente à *Vibrio cholerae* ATCC 569B e *Salmonella* Anatum IOC 4279-99 47
- FIGURA 05 - Variação do NMP de coliformes termotolerantes entre os pontos de coleta do Açude Santo Anastácio, Fortaleza, Ceará. 52
- FIGURA 06 - Pescador fazendo o lançamento da arte de pesca às margens do Açude Santo Anastácio, Fortaleza, Ceará. 53
- FIGURA 07 - A presença de um "sofá" boiando as margens do Açude Santo Anastácio, Fortaleza, Ceará. 53
- FIGURA 08 - Canal de Abastecimento Açude Santo Anastácio, Fortaleza – Ceará, com água proveniente da Lagoa de Parangaba, Fortaleza, Ceará. 54
- FIGURA 09 - Lixo residencial nas margens do Açude Santo Anastácio, Fortaleza, Ceará. 54
- FIGURA 10 - Variação do NMP de *Escherichia coli* entre os pontos de coleta do Açude Santo Anastácio, Fortaleza, Ceará. 58

FIGURA 11 - Quantificação de coliformes termotolerantes e de *Escherichia coli* nas amostras do ponto 1 no Açude Santo Anastácio, Fortaleza – Ceará, ao longo do estudo. 59

FIGURA 12 - Quantificação de coliformes termotolerantes e de *Escherichia coli* nas amostras do ponto 2 no Açude Santo Anastácio, Fortaleza – Ceará, ao longo do estudo. 59

LISTA DE QUADROS

QUADRO 01 - Descrição das Classificações <i>Própria</i> e <i>Imprópria</i> para água doce, Resolução CONAMA nº. 274, de 29/11/2000	26
QUADRO 02 - Categorias da Classificação <i>Própria</i> , Resolução CONAMA nº. 274, de 29/11/2000	26
QUADRO 03 - Diferenciação bioquímica de algumas bactérias da família <i>Enterobacteriaceae</i> .	43

LISTA DE TABELAS

- TABELA 01 - Percentual de domicílios dotados de esgotamento sanitário adequado (rede coletora ou fossa séptica), no total de domicílios particulares permanentes, por Grandes Regiões – Brasil – 1992/2002 (IBGE, 2003). 22
- TABELA 02 - Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Termotolerantes da água no Ponto 1, do Açude Santo Anastácio, Fortaleza - Ceará, classificados segundo critérios de balneabilidade da Resolução nº. 274 e 357 do CONAMA (2000; 2005). 50
- TABELA 03 - Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Termotolerantes da água no Ponto 2, do Açude Santo Anastácio, Fortaleza - Ceará, classificado segundo critérios de balneabilidade da Resolução nº. 274 e 357 do CONAMA (2000; 2005). 51
- TABELA 04 - Número Mais Provável (NMP) de *Escherichia coli* da água do Ponto 1, no Açude Santo Anastácio, Fortaleza - Ceará, classificado segundo critérios de balneabilidade da Resolução nº. 274 e 357 do CONAMA (2000; 2005). 56
- TABELA 05 - Número Mais Provável (NMP) de *Escherichia coli* da água do Ponto 2, no Açude Santo Anastácio, Fortaleza - Ceará, classificado segundo critérios de balneabilidade da Resolução nº. 274 e 357 do CONAMA (2000; 2005). 57
- TABELA 06 - Variáveis ambientais (temperatura, pH e salinidade) nas coletas de amostras da água no Açude Santo Anastácio, Fortaleza – Ceará. 61

RESUMO

O crescente processo de urbanização das cidades brasileiras e a complexidade de seus problemas apontam um desafio para o desenvolvimento sustentável. O presente trabalho teve como objetivo monitorar a qualidade microbiológica da água do Açude Santo Anastácio, Fortaleza – CE, no período de janeiro a abril de 2007, através da estimativa do Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes (CT) e *Escherichia coli* em 15 amostras de água, coletadas semanalmente, em dois pontos de coleta. Foi investigada também a capacidade bacteriocinogênica de 30 cepas de *Escherichia coli*, isoladas das amostras, contra *Vibrio cholerae* ATCC 569B e *Salmonella anatum* IOC 4279-99. Além disso, foram medidos nas 15 amostras de água os seguintes parâmetros físico-químicos: temperatura, salinidade e pH. Em todas as semanas da pesquisa a água foi considerada *Imprópria* para balneabilidade, segundo as contagens para coliformes termotolerantes (CT), seguindo os critérios da Resolução n.º 274/2000 do CONAMA. O NMP de CT do ponto 1 variou entre $1,1 \times 10^3$ e $1,1 \times 10^4/100\text{mL}$, e do ponto 2 entre $7,8 \times 10^2$ e $2,3 \times 10^4/100\text{mL}$. Em relação ao NMP de *E. coli* no ponto 1 variou de $< 1,8$ e $1,1 \times 10^4/100\text{mL}$, e no ponto 2 entre 180 a $2,3 \times 10^4/100\text{mL}$. Foram identificadas *E. coli* em 65% das 392 cepas isoladas nos dois pontos de coleta. Frente ao *Vibrio cholerae* e a *Salmonella anatum*, nenhuma das cepas testadas mostrou capacidade de produzir substâncias inibidoras (bacteriocinas) de crescimento. Durante a pesquisa, houve pequena variação nos parâmetros de temperatura e pH. A salinidade foi sempre zero.

COLIMETRIA DAS ÁGUAS DO AÇUDE SANTO ANASTÁCIO (FORTALEZA-CEARÀ) E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE BACTERIOCINOGENICA DE CEPAS ISOLADAS DE *Escherichia coli*

Fábio Roger Vasconcelos

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, e num futuro bem próximo, o maior problema a ser enfrentado pela humanidade será a falta de água potável. Este recurso praticamente está se esgotando, tendo em vista a forma inadequada de sua utilização. A escassez de água pode comprometer o desenvolvimento de países, e até mesmo gerar conflitos, considerando que a distribuição mundial de água doce não é homogênea. Grecco (1998) cita que de toda a água existente em nosso planeta, cerca de 97% está contida nos oceanos e a sua utilização torna-se praticamente imprópria, tendo em vista que é caro e trabalhoso a sua dessalinização. Os 3% restantes estão divididos em: 2% nas calotas polares e 1% está acessível para a utilização direta e mesmo assim, um bom percentual desta está presente em áreas subterrâneas.

Nas últimas décadas, o Brasil tem experimentado um processo de urbanização desenfreado, bem como uma concentração da população e das atividades econômicas sobre o mesmo espaço, o que tem causado pressões sobre meio ambiente e a conseqüente alteração da qualidade ambiental dos municípios brasileiros, em virtude do modelo de desenvolvimento adotado.

Nessa situação, a questão ambiental tornou-se uma das maiores preocupações da humanidade na entrada do terceiro milênio. A interferência drástica do homem no meio ambiente tem provocado de maneira acelerada o desequilíbrio, a redução e o desaparecimento de determinados ecossistemas frágeis, tais como alguns mananciais.

A nossa sociedade ainda está estruturada sob um modelo que se baseia, na destruição do meio ambiente e no consumo predatório de recursos naturais, sem ter em vista o futuro. A degradação ambiental tem sido de tal ordem que vem comprometendo a possibilidade das futuras gerações virem a usufruir desses recursos, e ameaçando o presente ao provocar desastres ecológicos, contribuindo para o agravamento das condições sociais e levando mesmo a possibilidade de escassez de algumas matérias primas (MÉRICO, 1997).

O estado do Ceará encontra-se, na sua totalidade, inserido no denominado Polígono das Secas, o qual apresenta um regime pluviométrico marcado por extrema irregularidade de chuvas no tempo e no espaço. Nesse cenário, a água constitui um bem natural de elevada limitação ao desenvolvimento socioeconômico dessa região e, até mesmo, na subsistência da população. A ocorrência cíclica de secas e seus efeitos catastróficos no âmbito regional são por demais conhecidos e remontam aos primórdios da história do Brasil (NOGUEIRA, 1999).

A cidade de Fortaleza apresenta características biogeográficas especiais, onde o contato entre terra e mar proporciona a formação de ambientes ricos e variados, sendo valorizada ainda mais pela sua posição geográfica, com temperatura mínima 21,6°C, e máxima de 34°C. A taxa de crescimento anual de população da cidade é da ordem de 4,1%, segundo o IBGE (2003), resultando em um processo desordenado de urbanização e conseqüentemente uma destruição do ambiente natural (FILHO et al., 2002).

Uma das características peculiares das lagoas e dos Açudes é a sua utilização como fonte de recreação pela comunidade, além de seu uso para a obtenção de alimento e a captação de água para saciar e cozinhar (GRECCO, 1998).

De acordo com Borges (1978) o Açude Santo Anastácio é alimentado pela lagoa de Parangaba, que por sua vez recebe dejetos de indústrias, efluentes domésticos das populações ribeirinhas, resíduos agrícolas e do solo, provenientes de áreas cultivadas em suas proximidades e que chegam ao mesmo através das chuvas e ventos, bem

como do lançamento direto de lixo em suas margens. O mesmo autor cita que a maior parte da bacia hidráulica do Açude fica localizada no Campus da Universidade Federal do Ceará (UFC). Apresenta-se geograficamente situado a 3°04'30" S e 38°35'00" W. Sua capacidade original de armazenamento d'água era de 500.000 m³ mas em face ao intenso assoreamento resultante da mistura de sedimentos e resíduos sólidos, bem como o grande depósito de matéria orgânica originada da grande quantidade de macrófitas, o volume encontra-se bastante reduzido, encontrando-se em torno de 192.000 m³ na cota de sangria do Açude. Sua barragem possui 182 metros de comprimento, abrange uma área total de 12,8 ha e bacia hidrográfica de 1,34 km². Profundidade máxima de 3,5 metros, tendo uma média de 1,4 metros.

Neste Açude inúmeros pescadores utilizam diversas artes de pesca para a pescaria de peixes como: tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, traira, *Hoplias malabaricus*, muçum, *Synbranchus marmoratus* e outras espécies menos conhecidas. Parte desse peixe capturado é destinado ao consumo local, outra parte é destinado a venda de subsistência. Além disso, a água é captada pela população ribeirinha para o consumo diário.

O presente estudo tem uma estreita relação com os problemas de saúde pública, uma vez que muitas doenças são transmitidas através das águas. Os principais objetivos dessa pesquisa foram quantificar através do Número Mais Provável (NMP) coliformes fecais (ou termotolerantes) e *E. coli* de amostras da água do Açude Santo Anastácio (Fortaleza – Ce); isolar cepas de *E. coli* e testar sua atividade bacteriocinogênica frente a outras bactérias comuns no ambiente.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. BALNEABILIDADE

Balneabilidade é definida pelo CONAMA, na Resolução nº. 274/2000 e 357/2005 com parâmetros que definem as condições sanitárias das águas destinadas à recreação de contato primário.

Aguiar e Scharf (2003), por sua vez, conceituam balneabilidade como a “qualidade das águas doces ou salgadas destinadas à recreação, ou seja, ao banho ou a outras práticas esportivas”. Deste modo, balneabilidade consiste, num termo utilizado para definir a qualidade das águas destinadas à recreação de contato primário.

Von Sperling (2003) destaca que a recreação é um dos usos mais nobres do ambiente aquático, juntamente com a harmonia paisagística. Por contato primário entende-se o contato direto e prolongado com a água, seja pelo banho, natação, mergulho, esqui aquático, surfe, etc., em que a possibilidade de ingerir quantidades apreciáveis de água é elevada. Segundo o mesmo autor, no contato secundário não há o contato direto com o meio líquido, como por exemplo, na navegação de lazer, pesca ou lazer contemplativo.

De uma forma geral, a qualidade das águas vem sendo estudada desde a década de 70, ou seja, há pouco mais de três décadas.

Na Europa, ainda na década de 70, o Conselho da União Européia definiu diretrizes para o intercâmbio de informações relativas à qualidade das águas continentais superficiais destinadas ao banho, visando à cooperação internacional. A partir dessas diretrizes, alguns países da comunidade estabeleceram normas de qualidade das águas buscando a vigilância das águas balneares. Foi o caso do Reino Unido, da Espanha e de Portugal, que iniciaram o monitoramento de suas águas costeiras nas décadas de 70, 80 e 90, respectivamente (NEMETZ, 2004).

No Brasil, estados como o Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Ceará, encontram-se entre os pioneiros no monitoramento que

avaliam a qualidade da água nos balneários. Esses estudos foram iniciados na década de 70, através dos programas de monitoramento da balneabilidade geridos pelos respectivos órgãos ambientais estaduais, conforme NEMETZ op cit.

Convenções, conferências, fóruns e simpósios, internacionais e multidisciplinares, começaram então a ser promovidos, visando apresentar e discutir o tema da qualidade da água de uma forma geral.

2.1.1. Qualidade de Água

Ao se falar em balneabilidade, vem à tona a questão da qualidade da água e, conseqüentemente, os problemas que podem nela influir, sendo a poluição um desses problemas.

Poluição é entendida pela Lei Federal nº. 6.938, de 31 de agosto de 1981 (BRASIL, 2000), no seu artigo 3º inciso III, que dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, como a degradação da qualidade ambiental – esta última sendo a alteração adversa das características do meio ambiente – resultante de atividades que, direta ou indiretamente: prejudiquem a saúde, a segurança e o bem-estar da população; criem condições adversas às atividades sociais e econômicas; afetem desfavoravelmente a biota; afetem as condições estéticas ou sanitárias do meio ambiente; ou lancem matérias ou energia em desacordo com os padrões ambientais estabelecidos.

Em se tratando de balneabilidade, torna-se necessário conceituar a poluição da água. Segundo Aguiar e Scharf (2003), poluição da água é definida como:

“a contaminação da água com substâncias que interferem na saúde de pessoas e animais, na qualidade de vida e no funcionamento dos ecossistemas”.

De acordo com Von Sperling (1996), entende-se por poluição das águas a adição de substâncias ou de formas de energia que, direta ou indiretamente, alterem a natureza do corpo d'água de uma maneira tal que prejudique o objetivo de seu uso.

As principais fontes de poluição das águas podem ser de origem natural ou decorrente da atividade humana. Quando a fonte da poluição é de origem natural geralmente decorre, segundo Varela (1987), da erosão, desagregação de rochas, gases dissolvidos, gases solúveis, material orgânico em vários estágios de biodegradação, microrganismos e partículas minerais. Assim, entre essas fontes encontram-se a decomposição de vegetais e animais mortos e a erosão das margens, as quais, em condições normais, são geralmente absorvidas pelos processos naturais de equilíbrio da natureza.

As enchentes, que ocorrem em virtude das precipitações intensas, podem, por outro lado, conduzir ou facilitar o deslocamento de matérias orgânicas e inorgânicas, carregando impurezas para as águas superficiais.

Problemas sérios de alteração do meio podem acontecer pela ação do homem, como o represamento de águas em áreas que tenham vegetação abundante. Isso pode resultar numa intensa decomposição dos vegetais e na produção de alto teor de matéria orgânica, além do desmatamento das margens, o que causa maior erosão do solo, e, conseqüentemente, aumento do material carregado para as águas, provocando elevação da turbidez, assoreamento e outras conseqüências.

As fontes de poluição provenientes da atividade do homem compreendem os esgotos domésticos, despejos industriais e agropastoris e resíduos sólidos (MOTA, 1988).

Na poluição doméstica, os esgotos sanitários, originários das habitações, são provenientes de instalações sanitárias, lavagem de utensílios domésticos, pias, banheiros, lavagem de roupas, entre outros, e são os responsáveis pelo material orgânico decomposto, material orgânico parcialmente degradado, microrganismos, detergentes, etc., encontrados nos corpos d'água. Os esgotos domésticos têm composição mais ou menos definida, segundo Mota op cit.;

“... variando em função da sua concentração (que depende do consumo de água), dos hábitos da população, do tipo do sistema de

esgotamento e da natureza de outras contribuições, além das domiciliares.”

Mota op cit., ainda, fala que, a poluição industrial é decorrente dos despejos industriais, ou seja, da emissão de resíduos líquidos provenientes de processos industriais. O autor cita que essa poluição possui efeitos semelhantes aos dos esgotos domésticos, principalmente no que diz respeito ao aumento da concentração de materiais dissolvidos e em suspensão. No entanto, o que se deve considerar no caso da poluição industrial é a grande variedade dos resíduos líquidos, que diferem em função do tipo de processo utilizado. Esses resíduos caracterizam-se por: Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), elevada em muitas indústrias; presença de compostos químicos tóxicos; temperatura elevada, presente em águas de resfriamento; cor, turbidez e odor; nutrientes; sólidos dissolvidos; ácidos e álcalis; óleos, graxas e similares e microrganismos patogênicos. Em muitas situações, esses resíduos são lançados contendo compostos químicos não existentes na hidrosfera e até mesmo na biosfera, a exemplo dos compostos inorgânicos sintéticos, íons metálicos tóxicos e materiais refratários a qualquer processo de degradação natural. As fábricas de papel e celulose, indústria química, açúcar e álcool, aços e metais, têxtil, alimentícias (bebidas e laticínios), curtumes, matadouros e as petroquímicas entram na lista das indústrias mais poluidoras dos recursos hídricos, no Brasil, o que é confirmado por Aguiar e Scharf (2003).

A poluição de origem agropastoril é caracterizada pelas atividades decorrentes da agricultura, pecuária e pastagens, onde ocorre a utilização de fertilizantes e agrotóxicos, além dos dejetos de animais. A aplicação de fertilizantes no solo, apesar de ter como objetivo a melhoria da produtividade agrícola, resulta no carreamento de nutrientes (nitrogênio, fósforo e potássio) para os mananciais, através do escoamento superficial ou da infiltração da água, elementos estes que, quando em teores elevados, podem provocar sérios problemas na água, como ressalta Mota (1988). Os agrotóxicos utilizados no combate às

pragas podem conter diferentes composições, sendo alguns deles bastante tóxicos (AGUIAR; SCHARF, 2003).

Os inseticidas, por exemplo, podem permanecer no solo durante vários anos, em se tratando de inseticidas clorados orgânicos e, na melhor das hipóteses, durante semanas ou meses, no caso dos fosforados orgânicos (MOTA, 1988). Com relação à criação de animais, esta possui como principais resíduos os dejetos, altamente ricos em nitratos. Esses dejetos podem conter microrganismos patogênicos e contribuir para a elevação da DBO da água.

A deposição de resíduos sólidos no solo, às margens dos cursos d'água ou diretamente nos mananciais, pode causar, segundo Mota (1988), alterações físicas, químicas e biológicas na água. Os resíduos sólidos decompõem-se produzindo "chorume", o qual pode alcançar os lençóis freáticos e os mananciais superficiais de água, comprometendo sua qualidade. Nessa categoria entram também os resíduos sólidos industriais, que podem resultar na produção de líquidos com altos teores de compostos químicos, e resíduos sólidos produzidos em estabelecimentos prestadores de serviços de saúde.

2.1.2. Saneamento Básico

Considerando um aumento na concentração demográfica nos grandes centros urbanos, principalmente próximos de zonas lacustres e costeiras, a incidência de doenças de veiculação hídrica tende a aumentar, tornando inevitável que haja no Brasil uma pesada poluição orgânica nestas zonas.

A situação sanitária no Brasil apresenta um quadro bastante crítico. Medeiros (1998) ressalta que, em 1992, quase metade da população brasileira não contava com uma solução adequada para a disposição de seus esgotos sanitários, sendo insignificante a parcela de esgotos coletados que recebiam algum tratamento. Em 2003 (Tabela 1), o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), através da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD), constatou o aumento de 12% do percentual de domicílios dotados de esgotamento sanitário adequado, comparado ao ano de 1992 (IBGE, 2003). Entretanto, este se manteve como o serviço que apresentava a menor cobertura entre os pesquisados, como o abastecimento de água, lixo coletado, iluminação elétrica e telefone. Nessa Tabela observa-se que a proporção de domicílios dotados de esgotamento sanitário adequado da Região Centro-Oeste foi um pouco maior do que a referente à Região Nordeste, sendo que ambas apresentaram desvantagem considerável em relação às Regiões Sul e Sudeste. O IBGE esclarece que na comparação não foram considerados os resultados da Região Norte, por não retratarem a situação do seu total urbano e rural (NEMETZ, 2004).

TABELA 1 – Percentual de domicílios dotados de esgotamento sanitário adequado (rede coletora ou fossa séptica), no total de domicílios particulares permanentes, por Grandes Regiões – Brasil – 1992/2002 (IBGE, 2003).

Ano	Percentual de domicílios dotados de esgotamento sanitário adequado (rede coletora ou fossa séptica), no total de domicílios particulares permanentes (%)					
	Brasil	Grandes Regiões*				
		Norte (Urbana)	Nordeste	Sudeste	Sul	Centro-Oeste
1992	56,7	40,8	29,8	76,6	58,5	33,6
1997	62,5	50,5	34,7	82,3	64,8	40,9
2002	68,1	57,8	42,8	85,6	72,9	45,0

* Excluindo-se os domicílios da área rural de Rondônia, Acre, Amazonas, Roraima, Pará e Amapá.

Infelizmente o lançamento de resíduos provenientes de esgotos sanitários em corpos d'água ainda é um problema encontrado em nosso município que contribui, e muito, para a diminuição das condições ótimas para balneabilidade e, por conseguinte, da qualidade de vida da população ribeirinha, transformando-os em locais de risco ambiental, sanitário e social. Corpos d'água contaminados por esgoto doméstico, seguindo seu curso normal, ao atingirem as águas das praias, podem expor os banhistas a bactérias, vírus e protozoários. Crianças, idosos, bem como pessoas com baixa imunidade, podem vir a desenvolver doenças ou infecções após terem se banhado em águas contaminadas. Deste modo, podemos relacionar a má qualidade microbiológica dessas águas recreacionais com problemas de saúde pública. Para a avaliação da balneabilidade, ou seja, da qualidade das águas destinadas à recreação, é necessário o estabelecimento de critérios objetivos que devem estar baseados em indicadores a serem monitorados. Seus valores devem ser confrontados com padrões pré-estabelecidos. Estes

padrões expressam os requisitos de qualidade da água. Assim, pode-se identificar se as condições de balneabilidade em um determinado local são favoráveis ou não. As pesquisas de balneabilidade vão ao encontro desse objetivo, consistindo, basicamente, na avaliação da qualidade das águas destinadas a qualquer tipo de recreação, através de análises que mostra os indicadores ambientais (NEMETZ, 2004).

Machado (1997), em seu trabalho intitulado *Qualidade ambiental: indicadores quantitativos e perceptivos*, faz menção a dois grandes grupos de indicadores ambientais, ambos relacionados à qualidade ambiental de uma forma geral, mas que variam em função do seu controle e da sua percepção. Quando se trata de controle da qualidade ambiental, este autor trata-os como indicadores quantitativos (aqueles que podem ser mensurados como parâmetros físicos, químicos e biológicos); e quando o assunto é percepção da qualidade ambiental, trata-os como indicadores qualitativos.

Os indicadores ambientais, quantitativos e qualitativos, estão baseados no seu grau de mensurabilidade. Bollmann e Samways (2003) explicam que:

“a comensurabilidade é um atributo de grandeza ou variável em relação à possibilidade de sua medição ou determinação por comparação a um padrão. Uma grandeza ou variável é incomensurável na medida em que ela não pode ser medida propriamente em razão da complexidade do que se quer medir ou porque não apresenta uma métrica comum com outra grandeza.”

Segundo Machado (1997), os estudos ambientais têm demonstrado que as condições para os diversos ecossistemas, tanto o terrestre, o aquático, o animal, o vegetal, como o humano, variam segundo as qualidades biológicas, físicas e químicas. Essas qualidades podem ser quantificadas, tratando-se de indicadores ambientais quantitativos, os quais são constituídos de parâmetros, medidas ou valores derivados de parâmetros, índices físicos, químicos e biológicos, que descrevem, retratam ou controlam as condições do meio ambiente.

O autor ainda cita que a classificação dos parâmetros físicos são analisados cor, turbidez, sabor, odor e temperatura e estão relacionados, principalmente, com o aspecto estético da água. Os parâmetros químicos incluem pH, alcalinidade, acidez, dureza, ferro e manganês, cloretos, nitrogênio, fósforo, oxigênio dissolvido, matéria orgânica e micropoluentes orgânicos e inorgânicos. Os parâmetros biológicos analisam os microrganismos indicadores de contaminação fecal, algas e bactérias.

As resoluções do CONAMA nº. 357 de 17 de março de 2005 e nº. 274, de 29 de novembro de 2000, definem as normas a serem seguidas para os programas de monitoramento da balneabilidade.

A Resolução CONAMA nº. 274, de 29/11/2000, que define critérios para a classificação de águas destinadas à recreação de contato primário, especifica que as pesquisas de balneabilidade têm por objetivo analisar as águas de cada balneário, determinando se estas se encontram próprias ou impróprias para o banho.

Dentro da classificação *Própria*, a água pode ser enquadrada nas categorias *Excelente*, *Muito Boa* e *Satisfatória*, quando em 80% ou mais de um conjunto de amostras coletadas nas últimas cinco semanas, no mesmo local, houver, no máximo, 200, 400 e 800 *Escherichia coli* por 100 mililitros de água, respectivamente.

Será, por outro lado, considerada *Imprópria*, nas seguintes condições:

- a) Quando, na última coleta, o resultado for superior a 2500 coliformes fecais ou 2000 *Escherichia coli* por 100 mililitros de água.
- b) A presença de resíduos ou despejos, sólidos ou líquidos, inclusive esgotos sanitários, óleos, graxas e outras substâncias, capazes de oferecer riscos a saúde ou tornar desagradável a recreação.

A Resolução nº. 274/2000 trouxe modificações referentes aos indicadores, em relação à Resolução nº. 20/1986. Na resolução antiga, fala-se em coliformes totais e coliformes fecais. Na resolução recente,

fala-se em coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e enterococos. Este último é aplicado somente às águas marinhas.

A resolução 357/2005 trouxe, com relação a resolução 274/2000 pequenas modificações: a quantidade de amostras mudou de 5 amostras para 6 amostras, e o limite de CT acima de 2500 para 4000 CT por 100 mililitros em 80% das amostras coletadas em pelo menos seis amostras.

Os Quadros 1 e 2 resumem esses valores.

Classificações <i>Própria</i> e <i>Imprópria</i>						
	Resolução n.º 274/2000			Resolução n.º 357/2005		
Classificação	Número de Amostras	Limites <i>E. coli</i> (NMP/100mL)	Limites Coliformes Termotolerantes (NMP/100mL)	Número de Amostras	Limites <i>E. coli</i> (NMP/100mL)	Limites Coliformes Termotolerantes (NMP/100mL)
PRÓPRIA	5*	800	1000	6*	800	1000
IMPRÓPRIA	Última de 5	> 2000	>2500	Última de 6	>2000	>4000

* Valor do NMP não pode ultrapassar em 80% das amostras

QUADRO 01 – Descrição das Classificações *Própria* e *Imprópria* para água doce, Resolução CONAMA n.º. 274, de 29/11/2000.

Limites por 100 mL (por categoria)			
Categoria	Percentagem das amostras realizadas	Limites Coliformes Fecais (NMP/100mL)	Limites <i>E. coli</i> (NMP/100mL)
Excelente	Valor máximo em 80% das últimas cinco amostras	250	200
Muito Boa		500	400
Satisfatória		1.000	800

QUADRO 02 – Categorias da Classificação *Própria*, Resolução CONAMA n.º. 274, de 29/11/2000.

2.2. GRUPO COLIFORMES

O termo coliforme foi sugerido por Breed e Norton em 1937 para descrever as bactérias fermentadoras de lactose, gram-negativas, utilizadas para detectar a poluição de águas. Mais tarde foi acrescentado do termo termotolerantes, substituindo coliforme fecal. *Escherichia coli* foi então diferenciada dos coliformes totais como indicador mais específico de poluição fecal. O grupo é constituído de muitas espécies de enterobactérias incluídas nos gêneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter* e *Enterobacter* (LECLERC et al., 2001).

Os termos “coliforme total” ou “termo-resistente” não têm nenhuma justificativa taxonômica e segundo Torres (2004), têm significado apenas na prática laboratorial, conceituando-se coliformes totais como bactérias em forma de bacilos, gram-negativas, não-esporuladas, aeróbias ou anaeróbias facultativas, oxidase negativas, que fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído dentro de 24-48 horas a 35-37°C; enquanto os fecais ou termotolerantes são caracterizados por produzirem ácidos e gás em caldo EC em temperaturas compreendidas entre 44°C e 46°C.

Leitão (1988) e outros autores afirmam que fazem parte do grupo dos coliformes, microrganismos típicos da microbiota fecal, podendo a maioria deles ser encontradas em outros locais, mas a espécie *Escherichia coli* é considerada como sendo de origem unicamente fecal.

Segundo Borges e Bertolin (2002) a observação de coliformes, considerados como bons indicadores biológicos em qualquer água, é indício do risco da existência de patógenos da família Enterobacteriaceae, fato aceito pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e por Órgãos Nacionais do Meio Ambiente e Vigilância Sanitária.

De acordo com Castro et al. (2002) a importância da detecção de coliformes fecais na água é que nos conduz a presença de outros patógenos, tais como vírus e bactérias e sua presença indica uma contaminação por fezes.

2.3. TAXONOMIA E CARACTERÍSTICAS DE *Escherichia coli*

No gênero *Escherichia* são classificadas cinco espécies: *E. coli*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* e *E. vulneris*, porém a espécie *E. coli* é considerada a espécie de importância do gênero (CAMPOS; TRABULSI, 1999).

A espécie bacteriana denominada *Escherichia coli*, descrita pela primeira vez por Dr. Theodor Escherich em 1885 ao tentar isolar o agente etiológico da cólera (ADAM; MOSS, 1997), é um bastonete Gram negativo, não esporulado, oxidase negativa, móvel por flagelos peritríquios ou não móvel, anaeróbia facultativa, capaz de fermentar a glicose e a lactose com produção de ácidos e gases, pertencente à família Enterobacteriaceae. Fontes de carbono como acetato e glicose são usados para crescimento, porém o citrato não é utilizado por esse microrganismo. A glicose é fermentada a ácidos: lático, acético e fórmico, sendo o ácido fórmico hidrolisado a hidrogênio e dióxido de carbono.

Escherichia coli produz β -galactosidase e indol, mas não forma sulfeto de hidrogênio ou hidrolisa a uréia (MICHAEL et al., 2002). Lautrop et al. (1971) relatam à ocorrência de cepas de *E. coli* produtoras de gás H₂S, cujo comportamento fenotípico é mediado por plasmídeo.

A utilização das provas bioquímicas denominadas IMViC (Indol, Vermelho de Metila, Voges Proskauer e Citrato) são capazes de indicar a presença de *Escherichia coli* através das reações; mostrando os seguintes perfis: (+, +, -, -) para o tipo I e (-, +, -, -) para o tipo II (TORRES, 2004). Entretanto, este perfil pode ser encontrado em outras cepas do gênero. Além disso, nem todas as cepas enteropatogênicas (EPEC) e as cepas enterohemorrágicas (EHEC) de *Escherichia coli* crescem à 44,5°C na formulação convencional do meio EC, porém crescem quando a percentagem de sais biliares do meio se reduz de 0,15% a 0,112% (BOURGEOIS et al., 1994).

Escherichia coli é a espécie comensal predominante na microbiota anaeróbica facultativa do trato intestinal dos humanos e dos animais de sangue quente (TORRES, 2004). A habilidade de distinguir cepas de *E.*

coli sorologicamente é importante para esclarecer as pesquisas, mostrando que certos tipos de *E. coli* causam diarreias de verão ou diarreia infantil. A sorologia é feita se baseando em diferentes antígenos encontrados em estrutura da superfície bacteriana. Segundo Torres (2004) são três antígenos fundamentais: O, K, H. Os antígenos somáticos "O" termoestáveis, relacionados com polissacarídeos da membrana externa; antígenos flagelares "H" termolábeis, relacionados com proteínas dos flagelos, e antígenos capsulares "K" termoestáveis, relacionados com polissacarídeos capsulares. Foram descritos, até o momento, 173 diferentes antígenos O, 56 H e 100 K.

Boop et al. (1999) afirmam que *E. coli* faz parte da microbiota comum de indivíduos saudáveis, entretanto certas cepas podem causar infecções intestinais e extra-intestinais em indivíduos saudáveis e imunocomprometidos.

As cepas de *Escherichia coli* que produzem gastroenterites e outras doenças em humanos são denominadas enteropatogênicas, incluídas nas seguintes categorias: enteropatogênica clássica (EPEC), enterotoxigênica (ETEC), enteroinvasiva (EIEC), enterohemorrágica (EHEC), produtora de Shiga Toxina (STEC) (BLANCO et al, 2004) ou Verotoxigênica (VTEC) (TONI et al., 2004; SANDRINI et al., 2007), enteroagregativa (EAggEC), difusivamente aderente (DAEC) (LAUTROP et. al., 1971; LEVINE, 1987; NOGUEIRA, 1999; TORRES, 2004;), facultativamente enteropatogênica (FEEC) (FRANCO; LANDGRAF (1996); uropatogênica (UPEC), neo natal meningite (NMEC) (ADAM ; MOSS, 1997; HAUSSEN et al., 2005), variando conforme características baseada nos fatores de virulência, manifestações clínicas e epidemiológica.

2.3.1. *Escherichia coli* Enteropatogênica (EPEC)

Bern et al. (1992) ressaltaram a diarreia como uma importante doença infantil, sendo responsável por mais de 20% da mortalidade infantil em muitas áreas da América Latina.

De acordo com Dias da Silva e Silva (2006), a bactéria foi caracterizada como causa dos surtos de diarreia infantil, na década de 1940. Foram realizados estudos de *Escherichia coli* enteropatogênica a partir de isolamentos feitos de fezes de crianças.

Segundo o mesmo autor, EPEC é importante causa de diarreia infantil nos países em desenvolvimento e mesmo nos países desenvolvidos continua a ser um problema de saúde pública. Diarreias causadas por EPEC em geral são mais severas do que as causadas por outros patógenos, com prevalência de óbitos superiores a 30%, estando associadas a deficiências nutricionais. Estima-se que no Brasil, as diarreias sejam a causa de mais de 200.000 óbitos anuais em crianças, nos quais EPEC se encontra entre os principais agentes. Os principais sintomas clínicos da doença causada por EPEC são: diarreia aquosa acompanhada de febre, mal estar e vômitos.

Diversos estudos, realizados em centros urbanos de países em desenvolvimento, têm mostrado que os sorogrupos de EPEC são os principais agentes enteropatogênicos em crianças menores de dois anos de idade pertencentes às classes socioeconômicas menos favorecidas, acometidas de formas graves de diarreia aguda. No Brasil, e principalmente em São Paulo, EPEC tem sido apontada como o agente mais frequentemente isolado em crianças hospitalizadas, no primeiro ano de vida e, principalmente, nos primeiros seis meses de idade (OLIVA et al., 1997).

Segundo Dias da Silva e Silva (2006), dados epidemiológicos indicam que, nas áreas endêmicas, a diarreia causada por EPEC é mais comum e mais grave na infância, progressivamente menos frequente e mais branda na medida em que a criança cresce, e rara em adultos. Já o aparecimento de anticorpos circulantes no ambiente sangüíneo segue curso inverso: não são detectáveis na infância, aumentando com a idade e atingindo níveis mais elevados nos adultos. Admite-se, portanto, que a exposição à EPEC, durante a infância, produz imunidade contra este patógeno. Esses dados sugerem que o desenvolvimento de vacinas contra EPEC seria de utilidade em países como o Brasil, onde, as

diarréias estão associadas a fatores como subnutrição, condições precárias de habitação e falta de água potável e de rede de esgotos.

A maioria das cepas atípicas de EPEC já foi isolada de diferentes espécies de animais, ao contrário das cepas típicas que, segundo os dados até agora disponíveis, têm apenas os seres humanos como reservatório (ROTTNER et al., 2005).

2.3.2. *Escherichia coli* Enterotoxigênica (ETEC)

As cepas de *E. coli* Enterotoxigênica (ETEC) são produtoras de enterotoxinas termolábeis (LT) e termoestáveis (ST) ou ambas, associadas como grande causa de diarréias em países em desenvolvimento, particularmente em crianças jovens e, em adultos, causando a conhecida “diarréia dos viajantes”. A síndrome se caracteriza por diarréia aquosa, acompanhada de febre baixa, dores abdominais e náuseas. A forma mais severa assemelha-se a cólera, devido a fezes semelhantes à água de arroz, que levam a desidratação. O período de incubação varia de 8 a 44 horas (média de 26 horas), com alta dose de infecção (10^6 a 10^8 células) (FDA, 1992; FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Segundo os mesmos autores, as enterotoxinas termolábeis (LT) são inativadas a 60°C durante trinta minutos e as enterotoxinas termoestáveis (ST) são inativadas no mesmo tempo, mas a 100°C.

ETEC tem sido responsável pelo aumento de doenças epidêmicas que ocorreram nos EUA e Japão, nos últimos anos. Nove surtos foram relatados ao Centro de Controle e Prevenção de doenças (CDC), em Atlanta-USA, entre os anos de 1992 e 1997, enquanto apenas quatro surtos foram relatados nos 10 anos anteriores (BOOP et al., 1999).

2.3.3. *Escherichia coli* Enteroinvasiva (EIEC)

Segundo Mahon e Manuselis Jr. (1995), essas cepas são muito diferentes das cepas de EPEC e ETEC por que produzem diarreia, com penetração direta, invasão e destruição da mucosa intestinal, inflamando a região afetada, sendo a diarreia muito parecida com a produzida por *Shigella*. A infecção clínica é caracterizada por febre, dores abdominais agudas, indisposição, diarreia aquosa inicial, seguida em alguns casos, de diarreia com sangue e muco; quadro conhecido como disenteria bacilar (CÂMARA, 2002).

Os bovinos são os principais reservatórios de EIEC. O microrganismo pode se difundir através da água, alimentos e pelo contato (FRANCO; CHAVES, 1997).

2.3.4. *Escherichia coli* Enterohemorrágica (EHEC)

As EHEC são assim classificadas por causa das toxinas que produzem. Essas bactérias são capazes de causar colites hemorrágicas e a Síndrome Urêmica Hemolítica (SUH) (AMMON, 1997).

No grupo das EHEC, *E. coli* sorotipo O:157:H7 e O157 são os sorotipos mais estudados por causar um quadro agudo de colite hemorrágica. Os sintomas são cólicas abdominais intensas e diarreia, inicialmente líquida, mas que se torna hemorrágica na maioria dos pacientes. Ocasionalmente, ocorrem vômitos e febre baixa. A doença é autolimitante com duração de 5 a 10 dias. Em crianças menores de 5 anos e idosos, podem surgir complicações como a Síndrome Hemolítico-Urêmica (SHU), com insuficiência renal, deterioração neurológica e a Púrpura Trombocitopênica Trombótica (PTT). Outros sintomas são: pressão alta, crise convulsiva, cegueira, paralisia, e os efeitos decorrentes da remoção de parte do intestino do paciente, intussuscepção e morte. A PTT em idosos pode ter uma taxa de mortalidade superior a 50%. A transmissão ocorre através de alimentos

de origem bovina ou outros alimentos, bem como água contaminada (FRANCO; CHAVES, 1997).

Os sorotipos O157:H7 e O157 não são móveis, produzem uma ou mais toxinas Shiga, também chamadas de Verocitoxinas, e são em sua maioria, comumente identificadas como *E. coli* diarreias gênicas isoladas na América do Norte e Europa. A cepa O157 é suspeita de causar pelo menos 80% dos casos de SHU e, na América do Norte é reconhecida como uma causa comum de diarreia sanguinolenta, em países desenvolvidos (BOOP et al., 1999)

2.3.5. *Escherichia coli* produtora de Shiga Toxina (STEC) ou Verotoxigênica (VTEC)

O grupo de VTEC é constituído por cepas que produzem verotoxinas, que são proteínas codificadas em fagos temperados e assim denominadas porque produzem um efeito citotóxico em células Vero. As VTECs podem produzir dois tipos de verotoxinas (VT1 e VT2), que são também conhecidas como "Shiga-like toxins" (STx1 e STx2) por serem relacionadas biológica e estruturalmente com a toxina Shiga, sintetizada por *Shigella dysenteriae* tipo 1 (SANDRINI et al., 2007).

Atualmente, as cepas de *E. coli* produtoras de toxina Shiga são classificadas em um novo grupo: *Escherichia coli* Verotoxigênica.

Esse grupo é bioquimicamente e sorologicamente heterogêneo, do qual o sorotipo O157:H7 é o mais conhecido, embora existam mais de 100 sorogrupos diferentes associados a doença. O quadro clínico de um portador pode variar desde uma diarreia e colite hemorrágica até a SHU e a PTT (TONI et al., 2004).

2.3.6. *Escherichia coli* Enteroagregativa (EAggEC)

As cepas de EAggEC causam diarreia, pela aderência à superfície da mucosa do intestino. Estes organismos produzem sintomas tais como

diarréia aquosa, vômitos, desidratação e ocasionalmente dores abdominais, conforme Mahon e Manuselis Jr. (1995).

Segundo Villaseca et al. (2005), as cepas de AEggEC provocam diarréia persistente, com “brote de diarréia” em comunidades pobres em diferentes parte do mundo, incluindo países industrializados. Essas cepas são reconhecidas pelo padrão agregativo que apresentam sobre células epiteliais em cultivo laboratorial. No entanto, sua patogenicidade ainda é desconhecida. As alterações celulares nas mucosas intestinais, analisadas em ensaios *in vitro*, mostram que a aderência é mediada por adesinas e produção de toxinas. Por outro lado, observações mostram que durante o processo infeccioso por AEggEC são liberadas substâncias mediadoras de inflamação que podem contribuir para obstrução do tecido e, conseqüentemente, à enfermidade intestinal.

Yatsuyanagi et al. (2002), utilizando métodos moleculares (PCR), detectou a presença de plasmídio cromossomial semelhante aquele das cepas do grupo EPEC. Isto sugeriu a transferência de genes entre os diferentes sorogrupos.

2.3.7. *Escherichia coli* Difusamente Aderente (DAEC)

Segundo Harrigan (1998), as cepas de *Escherichia coli* difusivamente aderente (DAEC) não estão caracterizadas e Meng et al. (2001) associam cepas com diarréia infantil, sendo que os dados disponíveis à sua patogenicidade são raros e nenhum surto associado a alimento ou água foi noticiado.

2.3.8. *Escherichia coli* Facultativamente Enteropatogênica (FEEC)

A cepa denominada *Escherichia coli* facultativamente enteropatogênica (FEEC), é aparentemente associada a surtos esporádicos de diarréia (FRANCO; LANDGRAF, 1996)

2.3.9. *Escherichia coli* Uropatogênica (UPEC)

O grupo das *E. coli* uropatogênicas (UPEC) está associado a doenças no trato urinário tanto em humanos como em animais. As adesinas mais importantes nas infecções urinárias são os pili. As fímbrias S (sfa) estimulam a produção de Interleucina-6 pelas células do epitélio renal na presença de ITU (infecção do trato urinário). As fímbrias tipo 1 participam na colonização da bexiga e trato urinário inferior. A adesina das estirpes que infecta os rins é a fímbria P, que está associada às pielonefrites agudas (inflamação renal provocada por infecção bacteriana) (SYDOW et al., 2006). As principais características da pielonefrite são: infecção supurativa, dor na micção, febre, suor, mal-estar.

2.3.10. *Escherichia coli* Neo Natal Meningite (NMEC)

A primeira descrição de meningite no período neonatal foi feita por Sherer em 1895, quando este autor relatou três casos fatais de meningite por *Bacillus coli* em recém-nascidos. (JUNIOR; LEITE, 2006).

Haussen et al. (2005) define que a meningite neonatal se caracteriza pela ocorrência de processo infeccioso nas meninges, ocorrendo entre o nascimento e o 28º dia de vida. Os agentes infecciosos chegam ao sistema nervoso central (SNC) mais comumente por via hematogênica, razão pela qual a meningite está associada à sepse neonatal em aproximadamente 75% dos casos. A NMEC é uma das responsáveis pela meningite, sendo 80% das vezes, provocada pelo antígeno K1.

As formas de contaminação da NMEC podem ser de origem materna ou ambiental. No entanto, de acordo com os Centers for Disease Control and Prevention (CDC), a sepse no período neonatal acompanhada ou não de meningite, é sempre considerada uma infecção hospitalar (JUNIOR; LEITE, 2006).

2.4. BACTERIOCINAS

As bacteriocinas são toxinas protéicas que tem ação inibitória (efeito bacteriostático) ou letal (efeito bactericida) sobre outras espécies de bactérias sensíveis (BRITO et al., 2003). As células bacterianas que produzem bacteriocinas são imunes a sua ação antagônica e propiciam à bactéria produtora uma vantagem competitiva sobre outras bactérias no mesmo ambiente ecológico. A secreção desses compostos é amplamente encontrada no reino Monera (nas *Eubacteria*) e é bastante heterogêneo quanto às suas propriedades físico-químicas (TORO, 2005), sendo secretadas por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, patogênicas e não patogênicas. A produção de bacteriocinas é fortemente dependente do pH, fonte de nutrientes e temperatura de incubação (TODOROV; DICKS, 2005).

Para o homem, a maior utilização das bacteriocinas é constatada quando presentes em alimentos, como por exemplo, dos lactobacilos no iogurte, os quais se encarregam de produzir bacteriocinas, restringindo assim o número de contaminantes. Toro (2005) e Nielsen et al. (1990) citam que a ação tóxica das bacteriocinas depende da concentração das mesmas no ambiente e do número de microrganismos alvos, presente.

Conforme Jack et al. (1995), no final do Século XIX, Pasteur e Joubert relataram a ocorrência de interações antagonísticas entre bactérias, ao observar que um isolamento bacteriano era capaz de interferir com o crescimento de *Bacillus anthrax*. Da mesma forma, Babes, citado pelos mesmos autores observou, em 1885, a inibição de *Corynebacterium diphtheriae* por um isolamento de *Staphylococcus* spp., isolamento esse que passou a ser utilizado no tratamento de difteria na época, sob forma de nebulizadores para aplicação nasal. Contudo, o trabalho pioneiro de Gratia (1925) foi o primeiro claramente esclarecedor sobre bacteriocinas, ao encontrar que um isolamento de *E. coli* produzia, em meio líquido de cultura, uma substância termoestável e dializável, capaz de inibir, em baixas concentrações, o crescimento de outro isolado

da mesma espécie. É possível que esse tenha sido o passo inicial para o estudo das bacteriocinas (JACK et al., 1995).

As bacteriocinas produzidas pela *E. coli* são denominadas de colicinas e as principais são: A, B, E1, D, Ic, Ib, K, N, V. A colicina V inibe o crescimento bacteriano. Os plasmídios Col V, os quais codificam a produção de colicina V, são plasmídios que geralmente apresentam alto peso molecular e podem carrear outros fatores de virulência (BRITO et al., 2001).

De acordo com Tagg et al. (1976), os critérios para considerar um composto antimicrobiano são:

- Possuir em sua estrutura um componente ativo biologicamente;
- Apresentar um reduzido espectro de inibição, geralmente sobre microrganismos relacionados taxonomicamente, e;
- Ter capacidade bactericida frente a cepas sensíveis.

As células sensíveis as bacteriocinas possuem em sua superfície sítios receptores que vão ser bioquimicamente reconhecidos pela substância, num processo de complementaridade molecular. A partir desses processos de reconhecimento, a bacteriocina ganha o interior da célula via processos ainda não bem esclarecidos. Jack et al. (1995) mencionam que a morte das células sensíveis pode dar-se por alterações na permeabilidade do sistema de membranas, inibição de síntese e, ou, degradação de ácidos nucléicos, interferência com a síntese de proteínas, bloqueio da síntese de peptídeoglicano, interferência com a geração de energia, comprometimento do fenômeno de transdução e outros.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. COLETA DAS AMOSTRAS

No período de janeiro a abril de 2007, foram coletadas 15 amostras semanais de água (800 mL) do Açude Santo Anastácio, em vidros de cor âmbar, esterilizados. Os locais de obtenção das amostras eram: próximo ao canal de abastecimento – Ponto 1 (Figura 1) e ao sangradouro – Ponto 2 (Figura 2). As coletas sempre aconteceram no período da manhã e nos locais de coleta eram identificadas as respectivas garrafas e aferidas as temperaturas, utilizando-se um termômetro com coluna de mercúrio, da marca ICOTERM, com variação de -10°C até 110°C. Em seguida as amostras eram acondicionadas em recipiente com gelo, por um período máximo de 2 horas, até chegarem ao laboratório de microbiologia ambiental e do pescado no Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará, onde eram feitas as medições do pH e salinidade. Em seguida, era realizado o processamento da amostra para contagem de coliformes termotolerantes e da bactéria *E. coli*, através da técnica dos tubos múltiplos e posteriormente o isolamento e identificação de cepas de *E. coli*, segundo o Bacteriological Analytical Manual – BAM (FDA, 2002).



FIGURA 1 – Ponto 1 de coleta, nas proximidades do canal de abastecimento do Açude Santo Anastácio, Fortaleza - Ceará.



FIGURA 2 – Ponto 2 de coleta, nas proximidades do sangradouro do Açude Santo Anastácio, Fortaleza - Ceará.

3.2. DILUIÇÕES

As garrafas ao chegarem ao laboratório, eram agitadas para homogeneizar o material contido na água e se processar as diluições das amostras em tubos. Era retirado 1mL da amostra e colocado em 9 mL de salina a 0,85%. Essa correspondia à diluição inicial 10^{-1} . Dessa seriam feitas às demais. Todas as diluições (10^{-2} a 10^{-5}) foram feitas em salina a 0,85%.

3.3. NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP) DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES (CT)

O NMP para CT e da bactéria *E. coli* foi determinado conforme a técnica de fermentação em tubos múltiplos, segundo Feng et al. (2002). O exame foi processado em três etapas distintas: prova presuntiva, confirmatória e completa ou bioquímica (Figura 3).

3.3.1. Prova Presuntiva

Para a prova presuntiva, foi utilizado caldo Lauril Tryptose (Difco), reidratado e distribuído em tubos (10 mL) contendo tubos de Durhan invertidos, numa seqüência de 5 diluições (10^{-1} a 10^{-5}), com 5 tubos cada diluição.

Todos os tubos inoculados foram incubados a 35°C por 48 horas. Após este período, os tubos que apresentaram reação positiva (meio turvo e produção de gás com formação de bolha dentro do tudo de Durhan) foram submetidos aos demais testes.

3.3.2. Prova Confirmatória

Dos tubos positivos da prova presuntiva foram retirados inóculos que foram adicionados a novos tubos contendo caldo EC (Difco),

esterilizados, contendo tubos de Durham invertidos, os quais foram incubados em banho-maria a 45°C por 48 horas.

A positividade era apresentada pela turvação do meio e produção de gás dentro do tubo de Durham. Os resultados positivos de cada série eram anotados para posterior consulta à tabela de NMP (GARTHRIGHT, 2001).

3.3.3. Prova Completa

De cada tubo contendo caldo EC, com resultado positivo (turvação do meio e gás no tubo de Durham), foi retirada uma alçada e transferida para placas do meio Ágar Eosina de Metileno (EMB) (Difco), através de um estriamento sobre a superfície, sendo então incubados em estufa a 35°C por 24 horas. Após esse tempo de incubação, foram isoladas em Ágar Triptose Soja (TSA) – Difco inclinado, duas colônias de cada placa, que apresentassem coloração verde-brilhante, as quais foram crescidas, por 24 horas, em estufa a 35°C. A cultura crescida em TSA foi usada para identificação, por meio de provas bioquímicas.

3.4. NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP) PARA *Escherichia coli*

Para o NMP de *E. coli* as cepas foram isoladas de cada tubo positivo para CT, em caldo EC. Aquelas que apresentaram, nas provas bioquímicas Indol, Vermelho de Metila, Voges Proskauer e Citrato, características como + + - - ou - + - - foram classificadas como *E. coli* (Quadro 3). Voltava-se então, ao tudo do qual ela havia sido isolada e assim tínhamos o número dos tubos que apresentavam a bactéria. Novamente se consultava a tabela de Garthright (2001).

3.5. PROVAS BIOQUÍMICAS

Foi realizada a prova do IMViC, consistindo nos testes do Indol, Vermelho de Metila, Voges-Proskauer e Citrato.

3.5.1. Prova de Produção de Indol

A partir do crescimento das cepas no meio TSA, foi retirado uma alíquota do cultivo, com a utilização de uma agulha previamente flambada e esfriada e então, foi perfurado o meio Ágar SIM (Difco), o qual foi incubado em estufa por 24 horas a 35°C. Uma turvação uniforme a partir dessa picada no meio SIM, indicava motilidade da bactéria.

A verificação de presença de bactéria *E. coli* no meio é feita pela adição de 0,2 mL do reativo p-dimetilaminobenzaldeído (KOVACS). Nessa prova a *E. coli* utiliza o triptofano para a produção de indol e este, ao reagir com o reativo de KOVACS forma um anel vermelho, indicando prova positiva (FENG et al., 2002).

3.5.2. Prova de Utilização do Citrato de Simmons

Da cepa crescida em TSA, foi retirada uma alíquota com uma alça de níquel cromo, previamente flambada e esfriada, e estriada sobre o meio inclinado de Ágar Citrato de Simmons (Difco). O crescimento é indicado pela mudança na coloração do meio, principalmente no ápice, que se torna azul intenso (FENG et al., 2002). Essa mudança na coloração ocorre pelo aumento do pH, devido à metabolização do íon citrato. A *E. coli* é negativa para esta prova.

3.5.3. Prova de Vermelho de Metila (VM)

Para a realização desta prova, foi retirada uma alíquota da cepa crescida em TSA com uma alça de níquel cromo que foi então adicionada ao caldo VM-VP (Difco), incubada por 96 horas a 35°C.

Após o período de incubação, eram adicionadas 5 gotas do reagente Vermelho de Metila que indica o resultado dessa prova. A viragem de cor vermelha indica a positividade da prova. Esta prova testa a habilidade de certas bactérias produzirem e manterem estáveis,

produtos ácidos finais da fermentação da glicose (FENG et al., 2002). A *E. coli* é positiva para esta prova.

3.5.4. Prova de Voges-Proskauer (VP)

Da cepa obtida no TSA, foi retirada uma alíquota com a alça de níquel cromo e adicionada ao caldo VM-VP (Difco) e em seguida, incubado por 48 horas a 35°C. Após o período de incubação, foi adicionado para cada 1 mL do meio, 0,6 mL do reagente Barrit I (α -naftol) e 0,2 mL do reagente Barrit II (KOH). O desenvolvimento de uma coloração rósea a vermelho rubro, indica a positividade desta prova (FENG et al., 2002). A *E. coli* é negativa para esta prova.

Reações				Motilidade	Gênero ou espécie
I	VM	VP	C		
+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i> I
-	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i> II
-	-	+	+	d	<i>Enterobacter- Klebsiella</i>
-	-	+	+	+	<i>Enterobacter</i> sp
-	+	-	+	+	<i>Citrobacter</i> sp

QUADRO 3 – Diferenciação bioquímica de algumas bactérias da família *Enterobacteriaceae*.

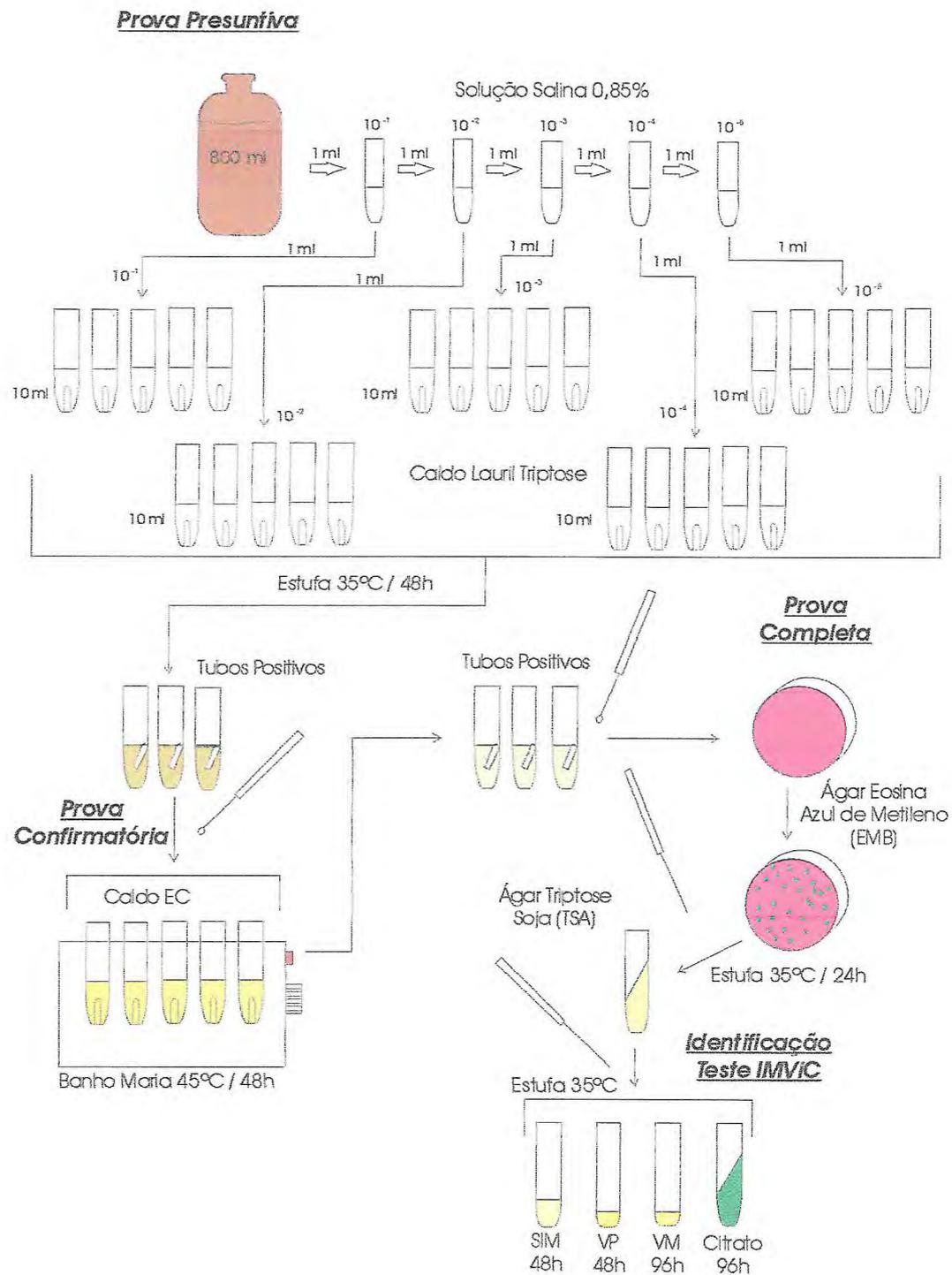


FIGURA 3 – Esquema para quantificação de coliformes termotolerantes e identificação de cepas de *Escherichia coli* isoladas na água do Açude Santo Anastácio, Fortaleza, Ceará.

3.6. PRODUÇÃO DE BACTERIOCINA

Verificada a confirmação nas provas bioquímicas da *E. coli* (Figura 4), eram então isoladas duas cepas de cada ponto de coleta, totalizando assim 30 cepas para o teste de produção de bacteriocina.

As cepas foram inoculadas em caldo Infusão de Coração-Cérebro (BHI) que foi incubado a 35°C por 24 horas. Posteriormente, uma alíquota de 5µL da cultura foi adicionada, em duplicata, (em forma de dois pontos equidistantes) em placas de Petri contendo Ágar Nutriente. Após a completa secagem, as placas foram incubadas a 35°C por 24 horas.

3.6.1. Cultivo dos Microrganismos Indicadores

Os microrganismos indicadores foram semeados em tubos contendo Ágar TSA inclinado, sendo em seguida incubados a 35°C por 24 horas. Posteriormente, por meio de uma alça de níquel cromo, alíquotas foram transferidas para um tubo contendo salina esterilizada a 0,85% até que se alcançasse uma turvação comparável ao tubo 0,5 da escala de McFarland. Esta turvação representa uma concentração bacteriana de 5×10^5 Unidades Formadoras de Colônias por mL (UFC/mL) (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

3.6.2. Semeadura dos Microrganismos Indicadores

Constatado o crescimento das cepas de *E. coli* no Ágar Nutriente, adicionou-se 1 mL de clorofórmio na tampa da placa, invertendo-a, e deixando-a fechada, em repouso, durante 5 minutos. Passado esse tempo, deixou-se a tampa entreaberta para que volatilizassem os vapores residuais do clorofórmio. Desse modo, tínhamos as bactérias de *E. coli* mortas e poderíamos então passar para a semeadura dos microrganismos indicadores.

Inoculou-se 1 mL da salina contendo o microrganismo indicador (*Vibrio cholerae* ATCC 569B e *Salmonella anatum* IOC 4279-99) em 10

mL de Ágar Nutriente semi-sólido sobre a primeira camada. Esperou-se que o meio solidificasse para depois invertê-la e incubá-la por 24 horas a 35°C.

3.6.3. Produção de Bacteriocina

Um resultado positivo pode ser visualizado pela formação de uma zona clara, sem crescimento de bactérias, na segunda camada do ágar.

Essa técnica baseia-se no fato de que as bacteriocinas produzidas podem se difundir em meio de cultura sólido ou semi-sólido, sendo possível à visualização através de um halo. A inibição no crescimento se dá através do uso de uma cepa indicadora (MORELLI, 2003).

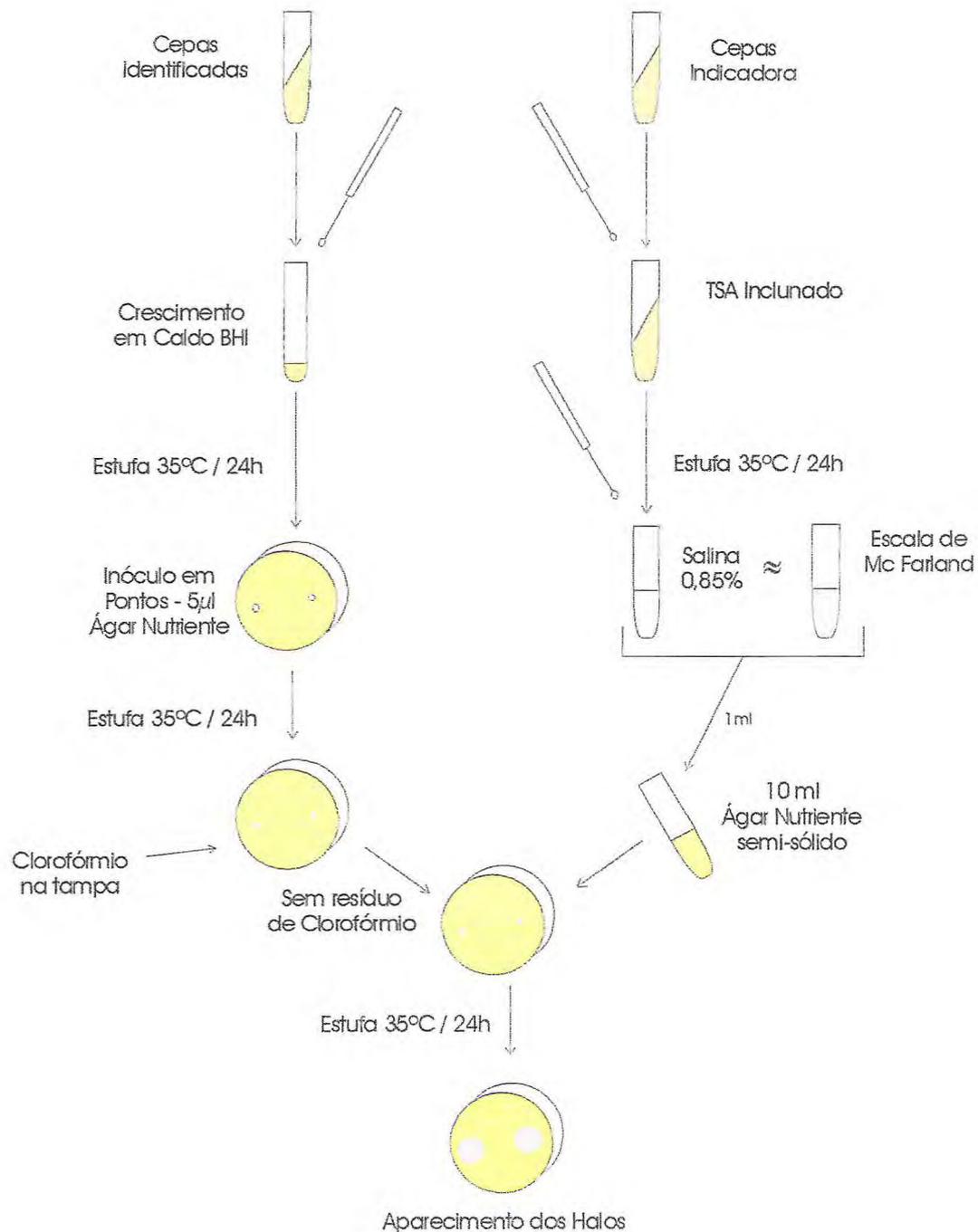


FIGURA 4 – Esquema para investigação da produção de bacteriocinas sintetizadas por cepas de *Escherichia coli* isoladas da água do Açude Santo Anastácio, Fortaleza, Ceará, frente à *Vibrio cholerae* ATCC 569B e *Salmonella* Anatum IOC 4279-99.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores obtidos para o Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes (CT) por 100 mL, dos pontos 1 e 2, observados nas amostras de água estão dispostos nas Tabelas 2 e 3. O ponto que registrou valores mais elevados para o NMP de CT foi o ponto 2 com $2,3 \times 10^4$ por 100 mL e um mínimo de $7,8 \times 10^2$ por 100 mL. No ponto 1 obtivemos um máximo de $1,1 \times 10^4$ e um mínimo de $1,1 \times 10^3$ CT por 100 mL da amostra (Figura 5). Esses resultados encontrados nem sempre atenderam aos critérios estabelecidos para as águas destinadas a balneabilidade, conforme a Resolução nº. 274 do CONAMA (2000), sendo assim, as amostras foram consideradas impróprias (Tabelas 2 e 3) nas semanas onde os critérios estabelecidos pela legislação vigente não foram atendidos. Estes critérios de impropriedade à balneabilidade do Açude podem estar relacionados à quantidade de residências que lançam dejetos no canal de abastecimento, além do despejo de lixo na periferia do Açude. De acordo com a Resolução 357 (CONAMA, 2005) as águas doces que apresentarem CT menor que 4000/100mL em 80% de seis amostras coletadas durante um ano, seriam enquadradas na Classe 3 (Águas Doces). Essas águas seriam destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado; à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras; à pesca amadora (Figura 6); à recreação de contato secundário e para a dessedentação de animais.

No decorrer das coletas no Açude Santo Anastácio foi possível se ter uma visão crítica da atual situação. Primeiro a constatação da riqueza do local, tanto no aspecto de beleza cênica quanto de diversidade ambiental, devido, principalmente a grande área verde ao redor, em áreas pertencentes à Universidade Federal do Ceará (UFC). Em segundo, a identificação dos impactos ambientais que este Açude sofreu ao longo dos anos de construído.

Percebe-se que a região é fortemente impactada pelas ações geradas pelo crescimento populacional, adicionado à especulação

imobiliária, a qual produz grandes expansões urbanas, e como consequência, aparecem os grandes problemas de degradação e poluição dessas áreas.

A maioria dessas residências faz o lançamento do lixo e do esgoto diretamente no canal de abastecimento ou, diretamente nas águas do Açude (Figuras 7, 8 e 9).

TABELA 2 – Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Termotolerantes da água no Ponto 1, do Açude Santo Anastácio, Fortaleza - Ceará, classificados segundo critérios de balneabilidade da Resolução nº. 274 e 357 do CONAMA (2000; 2005).

Amostras (Semana)	CT/100 mL	Classificação	Amostras (Semana)	CT/100 mL	Classificação
1ª - 5ª	7.000	I	7ª - 11ª	1.700	I
	11.000			1.700	
	4.900			3.300	
	1.100			1.700	
	1.700			2.700	
2ª - 6ª	11.000	I	8ª - 12ª	1.700	I
	4.900			3.300	
	1.100			1.700	
	1.700			2.700	
	2.100			7.900	
3ª - 7ª	4.900	I	9ª - 13ª	3.300	I
	1.100			1.700	
	1.700			2.700	
	2.100			7.900	
	1.700			2.100	
4ª - 8ª	1.100	I	10ª - 14ª	1.700	I
	1.700			2.700	
	2.100			7.900	
	1.700			2.100	
	1.700			1.700	
5ª - 9ª	1.700	I	11ª - 15ª	2.700	I
	2.100			7.900	
	1.700			2.100	
	1.700			1.700	
	3.300			7.900	
6ª - 10ª	2.100	I			
	1.700				
	1.700				
	3.300				
	1.700				

P - Própria I - Imprópria

TABELA 3 – Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Termotolerantes da água no Ponto 2, do Açude Santo Anastácio, Fortaleza - Ceará, classificado segundo critérios de balneabilidade da Resolução nº. 274 e 357 do CONAMA (2000; 2005).

Amostras (Semana)	CF/100 mL	Classificação	Amostras (Semana)	CF/100 mL	Classificação
1ª - 5ª	7.000	I	7ª - 11ª	2.200	I
	23.000			780	
	4.900			1.100	
	3.300			1.700	
	3.300			2.600	
2ª - 6ª	23.000	I	8ª - 12ª	780	I
	4.900			1.100	
	3.300			1.700	
	3.300			2.600	
	1.700			7.900	
3ª - 7ª	4.900	I	9ª - 13ª	1.100	I
	3.300			1.700	
	3.300			2.600	
	1.700			7.900	
	2.200			1.200	
4ª - 8ª	3.300	I	10ª - 14ª	1.700	I
	3.300			2.600	
	1.700			7.900	
	2.200			1.200	
	780			1.700	
5ª - 9ª	3.300	I	11ª - 15ª	2.600	I
	1.700			7.900	
	2.200			1.200	
	780			1.700	
	1.100			4.900	
6ª - 10ª	1.700	I			
	2.200				
	780				
	1.100				
	1.700				

P - Própria I - Imprópria

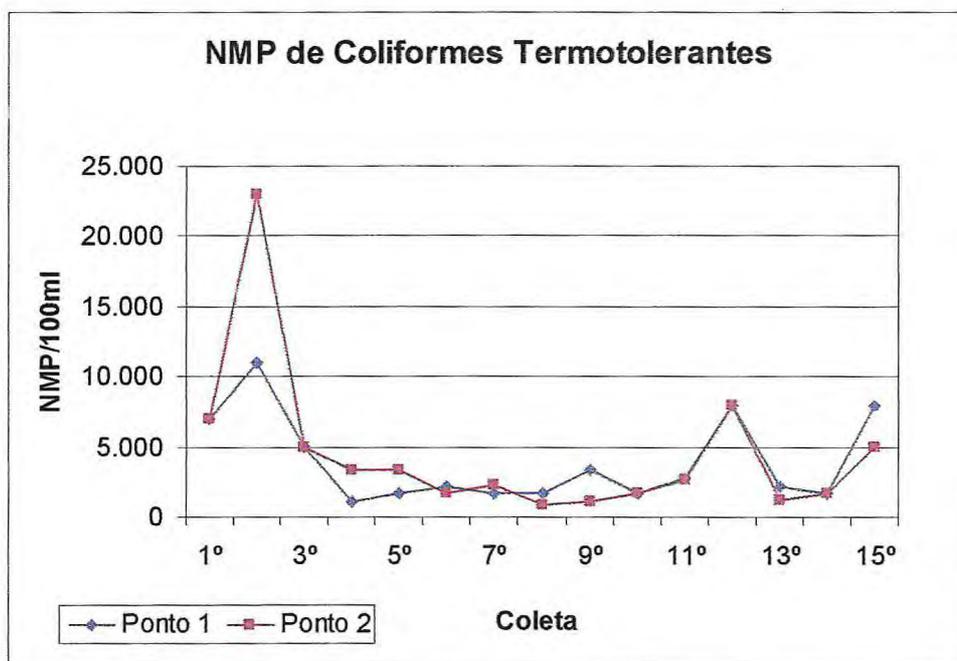


FIGURA 5 – Variação do NMP de coliformes termotolerantes entre os pontos de coleta do Açude Santo Anastácio, Fortaleza – Ceará.



FIGURA 6 – Pescador fazendo o lançamento da arte de pesca às margens do Açude Santo Anastácio, Fortaleza – Ceará.



FIGURA 7 – A presença de um “sofá” boiando as margens do Açude Santo Anastácio, Fortaleza – Ceará.



FIGURA 8 – Canal de Abastecimento Açude Santo Anastácio, Fortaleza – Ceará, com água proveniente da Lagoa de Parangaba, Fortaleza – Ceará.



FIGURA 9 – Lixo residencial nas margens do Açude Santo Anastácio, Fortaleza – Ceará.

Segundo Guedes Jr. (1999), uma pessoa elimina, através das próprias ações fisiológicas, 5,0 kg de nitratos anualmente, acarretando um grande risco ambiental, se este material for descartado em algum efluente sem uma correta disposição do esgoto doméstico.

Oliveira (1999), estudando o grau de contaminação fecal da água da Lagoa de Parangaba, em Fortaleza, encontrou resultados menores dos encontrados nesta pesquisa, variando entre $4,3 \times 10^3$ e $2,4 \times 10^2$ para coliformes termotolerantes por 100 mL de água.

Os valores relativos para o NMP de *E. coli* nos dois pontos de coleta, estão dispostos nas Tabelas 4 e 5. Os valores para o NMP de *E. coli*, variaram entre $1,1 \times 10^4$ e $<1,8$ bactérias/100mL nas amostras no ponto 1, e de $2,3 \times 10^4$ a $1,8 \times 10^2/100\text{mL}$ nas amostra no ponto 2 (Figura 10). Nas figuras 11 e 12 encontram-se dados relativos à quantificação dos CT e *E. coli* nos dois pontos de coleta na água do Açude. Observou-se que no ponto 1 houve uma maior concentração de CT do que de *E. coli*, diferentemente do ocorrido no ponto 2. Esse fato pode estar associado à quantidade de casas que lançam suas águas servidas nas circunvizinhanças e das águas que vem do canal de abastecimento. Com estes resultados, os pontos 1 e 2, em relação à contagem de CT, situaram-se Impróprios para balneabilidade nas 15 semanas analisadas. Em relação ao NMP de *E. coli* na avaliação para balneabilidade, os portos 1 e 2, no conjunto das cinco semanas, durante toda a pesquisa, estiveram em 64% e 55% das vezes, classificados como Impróprios.

TABELA 4 – Número Mais Provável (NMP) de *Escherichia coli* na água do Ponto 1, no Açude Santo Anastácio, Fortaleza - Ceará, classificado segundo critérios de balneabilidade da Resolução nº. 274 e 357 do CONAMA (2000; 2005).

Amostras (Semana)	EC/100mL	Classificação	Amostras (Semana)	EC/100mL	Classificação
1 ^a - 5 ^a	1.700	I	7 ^a - 11 ^a	680	I
	11.000			400	
	4.900			1.200	
	450			200	
	1.100			2.200	
2 ^a - 6 ^a	11.000	I	8 ^a - 12 ^a	400	I
	4.900			1.200	
	450			200	
	1.100			2.200	
	<1,8			450	
3 ^a - 7 ^a	4.900	I	9 ^a - 13 ^a	1.200	I
	450			200	
	1.100			2.200	
	<1,8			450	
	680			450	
4 ^a - 8 ^a	450	P	10 ^a - 14 ^a	200	P
	1.100			2.200	
	<1,8			450	
	680			450	
	400			200	
5 ^a - 9 ^a	1.100	I	11 ^a - 15 ^a	2.200	P
	<1,8			450	
	680			450	
	400			200	
	1.200			680	
6 ^a - 10 ^a	<1,8	P			
	680				
	400				
	1.200				
	200				

P - Própria I - Imprópria

TABELA 5 – Número Mais Provável (NMP) de *Escherichia coli* na água do Ponto 2, no Açude Santo Anastácio, Fortaleza - Ceará, classificado segundo critérios de balneabilidade da Resolução nº. 274 e 357 do CONAMA (2000; 2005).

Amostras (Semana)	EC/100mL	Classificação	Amostras (Semana)	EC/100mL	Classificação
1ª - 5ª	2.600	I	7ª - 11ª	1.400	I
	23.000			450	
	4.900			930	
	180			680	
	610			610	
2ª - 6ª	23.000	I	8ª - 12ª	450	P
	4.900			930	
	180			680	
	610			610	
	610			180	
3ª - 7ª	4.900	I	9ª - 13ª	930	P
	180			680	
	610			610	
	610			180	
	1.400			610	
4ª - 8ª	180	P	10ª - 14ª	680	P
	610			610	
	610			180	
	1.400			610	
	450			450	
5ª - 9ª	610	I	11ª - 15ª	610	P
	610			180	
	1.400			610	
	450			450	
	930			400	
6ª - 10ª	610	I			
	1.400				
	450				
	930				
	680				

P – Própria I - Imprópria

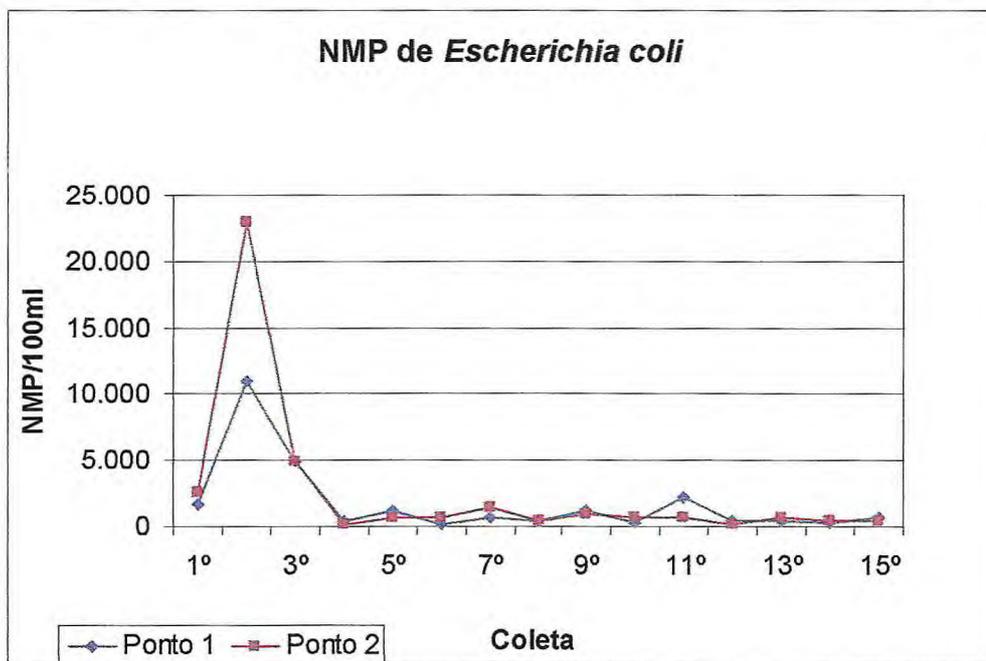


FIGURA 10 – Variação do NMP de *Escherichia coli* entre os pontos de coleta do Açude Santo Anastácio, Fortaleza – Ceará.

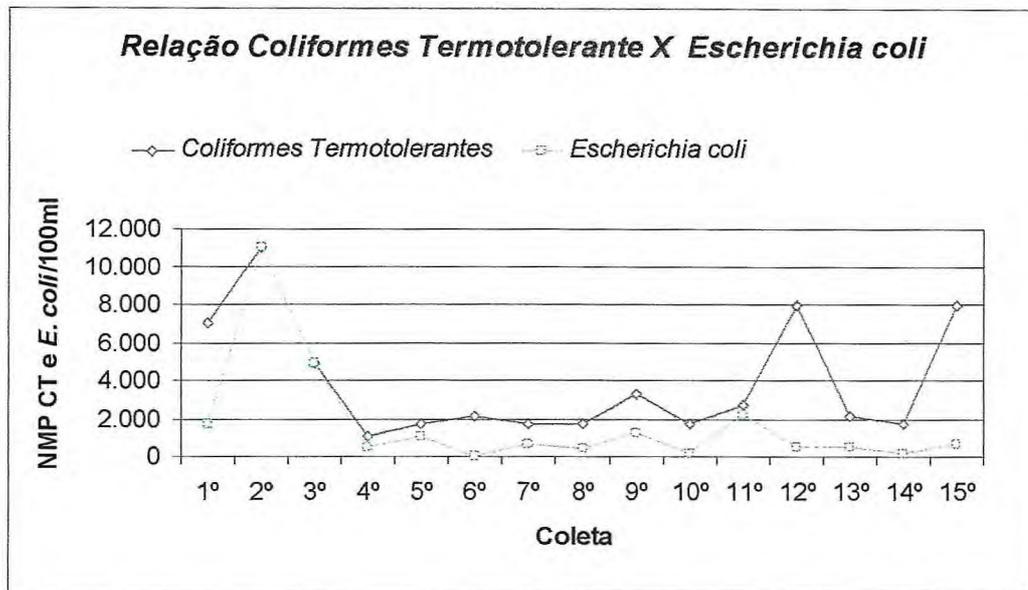


FIGURA 11 – Quantificação de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* nas amostras do ponto 1 no Açude Santo Anastácio, Fortaleza – Ceará, ao longo do estudo.

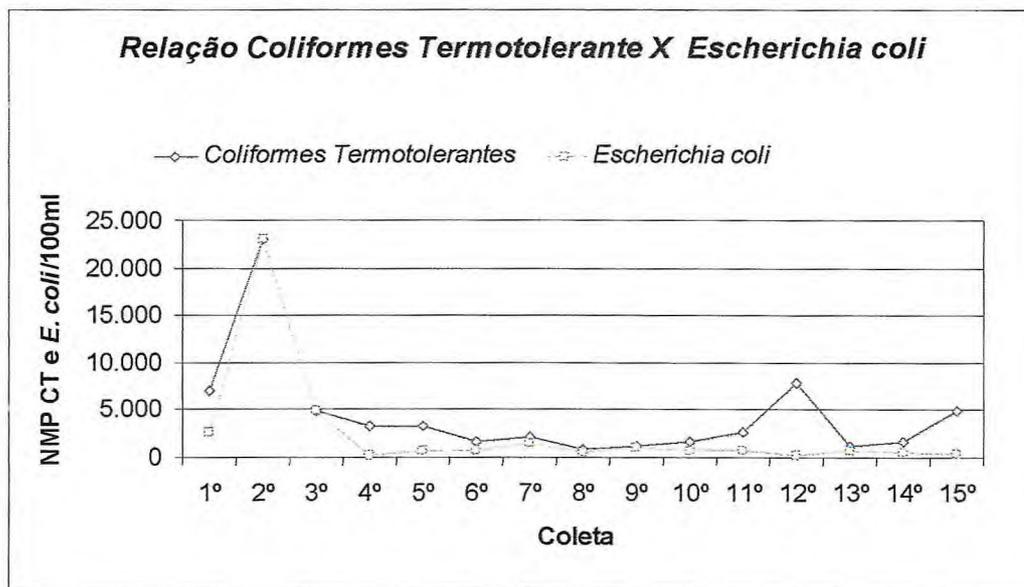


FIGURA 12 – Quantificação de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* nas amostras do ponto 2 no Açude Santo Anastácio, Fortaleza – Ceará, ao longo do estudo.

Das 392 cepas isoladas das amostras dos pontos 1 e 2, 65,05% (255) foram confirmadas como *E. coli*. Este dado mostra que durante a pesquisa, o Açude recebeu continuamente aporte fecal. Segundo Mendes et al. (1997), a exposição e contato de pessoas com águas recreacionais contaminadas têm sido freqüentemente associados a riscos a saúde pública, por este motivo o controle de águas destinadas a balneabilidade enfoca, principalmente a qualidade microbiológica das águas. É verificada a crescente preocupação pela contaminação de água doce, provocado principalmente pelo descarte de material inadequado de lixos e esgotos e, por dejetos de animais. Deste modo, podemos afirmar que a água deste Açude, por ter apresentado alto índice de CT, sistematicamente, está sendo contaminado por dejetos humanos e/ou animais.

Os valores das temperaturas e do pH no momento das coletas estão descritos na Tabela 6. Para o ponto 1, a temperatura variou entre 26,0 e 29,2°C e o pH entre 6,80 e 7,75. Para o ponto 2 tivemos respectivamente 27,5 e 30,0°C para temperatura e 7,15 e 7,82 para o pH. Essas faixas de temperatura situam-se na faixa de crescimento ótima das bactérias mesófilas, favorecendo assim o crescimento dos coliformes. Não houve variação na salinidade, visto que o Açude não recebe aporte de água salgada, estando sempre com valor zero para este parâmetro.

Das 30 cepas isoladas na água do Açude Santo Anastácio, e testadas para a produção de bacteriocinas, nenhuma cepa apresentou resultado positivo, isto é, inibição no crescimento das bactérias teste (*Vibrio cholerae* ATCC 569B e *Salmonella anatum* IOC 4279-99).

Brito et al. (2003), constataram a produção de colicina em 18,6% das 140 cepas testadas, sendo que 3,6% apresentaram a produção de colicina *V*. Martins et al. (2001) verificaram em seu trabalho que 54,8% das cepas produziram colicinas e 24,2% produziram colicina *V*.

TABELA 6 – Variáveis ambientais (temperatura, pH e salinidade) nas coletas de amostras de água no Açude Santo Anastácio, Fortaleza – Ceará.

Coletas	Ponto 1			Ponto 2		
	Temperatura (°C)	pH	Salinidade	Temperatura (°C)	pH	Salinidade
1º Coleta	28,2	7,32	0	27,8	7,33	0
2º Coleta	29,0	7,75	0	29,5	7,77	0
3º Coleta	28,2	7,44	0	27,5	7,82	0
4º Coleta	28,5	7,42	0	29,5	7,28	0
5º Coleta	28,0	7,50	0	28,8	7,40	0
6º Coleta	29,0	7,20	0	30,0	7,30	0
7º Coleta	27,0	6,80	0	28,5	7,15	0
8º Coleta	26,0	7,18	0	27,5	7,35	0
9º Coleta	29,0	7,22	0	29,0	7,50	0
10º Coleta	28,0	7,45	0	28,5	7,65	0
11º Coleta	26,5	7,40	0	28,0	7,55	0
12º Coleta	29,0	7,52	0	29,5	7,45	0
13º Coleta	29,0	7,31	0	30,0	7,40	0
14º Coleta	28,6	7,30	0	29,5	7,45	0
15º Coleta	29,2	7,53	0	29,5	7,50	0

CONCLUSÕES

- De acordo com os resultados obtidos, a água do Açude Santo Anastácio, situado na cidade de Fortaleza, apresenta-se como um risco à saúde dos freqüentadores (pescadores e banhistas).
- Com relação à qualidade microbiológica, não foi verificado na água, entre os pontos de coleta. Os altos valores de coliformes fecais e *E. coli* é uma comprovação da adição de compostos sanitários a água deste Açude, sem nenhum tratamento prévio.
- Foi verificado que as bactérias *E. coli* isoladas do Açude não produzem colicinas, contra *Vibrio cholerae* ATCC 569B e contra *Salmonella* Anatum IOC 4279-99.

Recomenda-se uma ação eficaz das autoridades sanitárias no sentido de eliminar as fontes de contaminação do Açude Santo Anastácio, e conservar sua fiscalização no sentido de manter os padrões de qualidades estabelecidas pela legislação.

5. BIBLIOGRAFIA

ADAM, M. R.; MOSS, M. O. **Microbiologia de los alimentos**. 1° ed. Zaragoza: Acribia, 1997. 463 p.

AGUIAR, L.; SCHARF, R. **Como cuidar da nossa água**. São Paulo: Bei Comunicação, 2003. (Coleção entenda e aprenda).

AMMON, A. Surveillance of enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) infections and haemolytic uraemic syndrome (HUS) in Europe. **Euro Surveill**, Berlin, v.2, n.12, p.91-96, Dec. 1997.

BERN, C.; MARTINES, J.; ZOYSA, I.; GLASS, R.I. The magnitude of the global problem of diarrhoeal disease: a ten-year update. **Bull World Health Organ**. Switzerland, v.70, n.6, p.705-714, nov., 1992.

BLANCO, M.; PADOLA, N. L.; KRUGER, A.; SANZ, M. E.; BLANCO, J. E.; GONZÁLEZ, E. A.; DAHBI, G.; MORA, A.; BERNÁRDEZ, M. I.; ETCHEVERRIA, A. I.; ARROYO, G. H.; LUCCHESI, P. M.; PARMA, A. E.; BLANCO, J. Virulence genes and intimin types of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle and beef products in Argentina. **International Microbiology**, Lugo, v.7, n.4, p.269-276, Dec. 2004.

BOLLMANN, H. A.; SAMWAYS, G. O uso de indicadores não comensuráveis para avaliar a qualidade das águas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 22., 2003. **Anais...** Joinville, 2003. p. 225.

BOOP, C. A.; BRENNER, F. W.; WELLS, J. G.; STROCKBINE, N. A. *Escherichia*, *Shigella* and *Salmonella*. In. **Manual of clinical microbiology**. MURRAY, P. R., et al. (ed). 7ª ed. Washington: ASM, 1999. cap. 28, p. 459-482.

BORGES, J. L. **Exames químicos e bacteriológicos do Açude Santo Anastácio em Fortaleza, Ceará, Brasil**. 1978. 22 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Pesca) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1978.

BORGES, K. P.; BERTOLIN, A. O. Avaliação microbiológica da qualidade da água do córrego São João, Porto Nacional – Tocantins, Brasil. **HOLOS Environment**, São Paulo, v.2, n.2, p.174-184, Ago, 2002.

BOURGEOIS, C. M.; MESCLE, J. F.; ZUCCA, J. **Microbiologia alimentaria**. Aspectos Microbiológicos de la Seguridad e Calidad Alimentaria. 1ª ed. Zaragoza:Acribia, 1994. v.1, 460 p.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **Manual prático de análise de água**. 2ª ed. rev. - Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2006.

BRASIL. Lei Federal nº 6.938, de 31 de agosto de 1981. Política Nacional do Meio Ambiente. In: FREITAS, Vladimir Passos de (Coord.). **Águas: aspectos jurídicos e ambientais**. Curitiba: Juruá, 2000. p. 209-215.

BRITO, B. G.; TAGLIARI, K. C.; FREIRE, R. L. Produção de enterotoxina termoestável, hemolisinas, colicina e fimbrias em amostras de *Escherichia coli* isoladas de leitões com diarreia da região Sudoeste do Paraná. **Scientia Agricola**, São Paulo, v.4, n.1-2, p.15-20, 2003.

BRITO, B. G.; TAGLIARI, K. C.; PIFFER, I. A. Caracterização da virulência da *Escherichia coli* - BK99. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.3, p.455-459, out., 2001.

CÂMARA, S. A. V. **Surtos de toxinfecções alimentares no estado de mato grosso do sul, no período de 1998-001**. 2002. 79 f. Monografia (Especialização em Gestão em Saúde) – Escola de Saúde Pública “Dr. Jorge David Nasser”, Campo Grande, 2002.

CAMPOS, L. C.; TRABULSI, L. R. *Escherichia*. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia**. 3ª ed. São Paulo: Atheneu, 1999. cap. 28, p.215-228.

CASTRO, H. M. P.; VIEIRA, R. H. S. F; TORRES, R. C. O. Balneabilidade e doenças de veiculação hídrica: situação das praias de Fortaleza, Estado do Ceará, Brasil. **Arquivo de Ciências do Mar**, Fortaleza, v.35, p.119-124, 2002.

CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE (Brasil). **Resolução nº. 20, de 18 de junho de 1986**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>>. Acesso em: 23 mar. 2007.

CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE (Brasil). **Resolução nº. 274, de 29 de novembro de 2000**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>>. Acesso em: 23 mar. 2007.

CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE (Brasil). **Resolução nº. 357, de 17 de março de 2005**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>>. Acesso em: 23 mar. 2007.

DIAS DA SILVA, W.; SILVA, J. A. *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) ao contrário da comensal adere, sinaliza e lesa enterócitos. **Revista de Patologia Tropical**, Goiás, v.34, n.3, p.175-196, jan., 2006.

FDA – Food and Drugs Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition. **Bacteriological analytical manual on line**. FDA/CFSAN. sept. 2002. Disponível em: <<http://www.fda.gov/~bam/bam-4a.html>>. Acesso em: 12 mar. 2007.

FDA – Food and Drugs Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition. **Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins**

hand book. Estados Unidos, Jan. 1992. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov>>. Acesso em: 15 mar. 2007.

FENG, P.; WEAGANT, S. D.; GRANT, M. A. Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. Sept. 2002. In: **Bacteriological analytical manual on line.** Food and Drugs Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition, FDA/CFSAN. Jan. 2001. Disponível em: <<http://www.fda.gov/~ebam/bam-4.html>>. Acesso em: 15 mar. 2007.

FILHO, R. A. P.; SILVA, J. C. C.; LIMA, C. R. G.; BRITO JR, A. O. S.; NASCIMENTO, F. O. T. **Estudos de viabilidade de renascer, Fortaleza, Brasil.** Projeto regional do sistemas integrados de tratamento e usos de águas residuárias na América Latina: realidade e potencial. Centro Pan-Americano de Engenharia Sanitária e Ciências do Ambiente, Lima, 2002. 62 p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

FRANCO, R. M.; CHAVES, G. M. C. Avaliação bacteriológica da lingüiça frescal suína comercializada no município do Rio de Janeiro – RJ – Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 19., 1997. **Anais...** Rio de Janeiro. Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1997, p. 280.

GARTHRIGHT, W. E. Most probable number from serial dilutins. In: **Bacteriological Analytical Manual on line.** Food and Drug Administration, FDA. FDA/CFSAN, 2001. Appendix 2. Disponível em: <<http://www.fda.gov/~ebam/bam-2a.html>>. Acesso em: 15 mar. 2007.

GREGO, D. O planeta água esta secando. **Globo Ciência,** São Paulo, v.8, n.85, p.54-61, ago., 1998.

GUEDES Jr., A. **Qualidade da água da ilha de Santa Catarina.** 1999. 114 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1999.

HARRIGAN, W. F. **Laboratory methods in food microbiology.** 3ª ed. Academic Press, 1998. 520 p.

HAUSSEN, D. C.; BRANDALISE, L. N.; PRAETZEL, F. A.; MALYSZ, A. S.; MOHRDIECK, R.; REICHEL, M. A. F., MAGALHÃES, C. B.; GROSSI, S. P.; GUARDIOLA, A. Neonatal meningitis: related features. **Arquivo Neuro-Psiquiatria,** São Paulo, v.63, n.3a, p.625-631, Sept. 2005.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa nacional por amostra de domicílios.** Rio de Janeiro, 2003. v.24, p.1-120.

JACK, R. W.; TAGG, J. R.; RAY, B. Bacteriocins of Gram-positive bacteria. **Microbiological Reviews**, Washington, v.59, n.2, p.171-200, Jun. 1995.

JUNIOR, G. B. O.; LEITE, R. D. Meningite Neonatal: avaliação diagnóstica. **Revista de Pediatria do Ceará**, Ceará, v.7, n.2, p.49-58, jul./dez., 2006.

LAUTROP, H.; ORSKOV, I.; GAARSLEV, K. Hydrogen sulphide producing variants of *Escherichia coli*. **Acta Pathology Microbiology Scandinavian - Section B: Microbiology & Immunology**, v.79, n.5, p.641-650, 1971.

LECLERC, H.; MOSSEL, D. A.; EDBERG, S. C.; STRUIJK, C. B. Advances in the bacteriology of the coliform group: their suitability as markers of microbial water safety. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v.55, p. 201-234, oct., 2001.

LEITÃO, M. F. F. Microrganismos patogênicos em alimentos. In: **Tratado de microbiologia**. ROITMAN, I., TRAVASSO, L. R.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). São Paulo: Manole, 1988. p.30-31.

LEVINE, M. M. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic and enteroadherent. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v.155, p. 377-389, mar., 1987.

MACHADO, L. M. C. P. **Qualidade ambiental: indicadores quantitativos e perceptivos**. In: **Indicadores ambientais**. MARTOS, H. L.; MAIA, N. B. (Coord.). Sorocaba: Bandeirante Ind. Gráfica S.A, 1997, p. 15-21

MAHON, C. R.; MANUSELIS Jr., G. Enterobacteriaceae. In: **Textbook of Diagnostic Microbiology**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1995. cap. 16, p.447-487.

MARTINS, M. F.; MARTINEZ-ROSSI, N. M.; FERREIRA, A.; BROCCHI, M.; YANO, T.; CASTRO, A. F.; SILVEIRA, W. D. Pathogenic characteristics of *Escherichia coli* strains isolated from newborn piglets with diarrhea in Brazil. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.78, n.1, p.51-59, Jan. 2001.

MEDEIROS, M. M. M. **Avaliação das ações de saneamento básico desenvolvidas na 1ª administração do município de Bombinhas – SC**. 1998. 102 f. Monografia (Especialização em Vigilância Sanitária) – Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 1998.

MENDES, B.; URBANO, P.; ALVES, C.; LAPA, N.; MORAIS, J.; NASCIMENTO, J.; OLIVEIRA, J. F. S. Sanitary quality of sands from beaches of Azores island. **Water Science Technology**, Oxford, v.35, n.11-12, p.147-150, 1997.

MENG, J.; FENG, P.; DOYLE, P. Pathogenic *Escherichia coli*. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods**. 4^a ed. Washington: APHA, 2001. cap.35, p.331-341.

MERICO, L. F. K. Proposta metodológica de avaliação do desenvolvimento econômico na região do Vale do Itajaí (SC) através de indicadores ambientais. **Revista Dynamis**, Blumenau, v.5, n.19, p.59-67, abr./jun., 1997.

MICHAEL, A. H.; BARBARA, A. V.; KEITH, W.; KARL, A. B.; BRUCE, C.; PAUL, G.; GRAHAM, B., STEVEN, P. D. Virulence Properties and Serotypes of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* from Healthy Australian Cattle. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.68, n.12, p.6439-6445, Dec., 2002.

MORELLI, A. M. F. **Isolamento de enterococos e coliformes fecais de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) comercializadas na Praia do Futuro, Fortaleza, Ceará**. 2003. 109 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.

MOTA, S. **Preservação de recursos hídricos**. Rio de Janeiro: ABES, 1988. 222 p.

NEMETZ, S. M. M. C. S. **Balneabilidade de praias do litoral centro-norte de Santa Catarina: estudo de percepção ambiental**. 2004. 223 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Fundação Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2004.

NIELSEN, J. W.; DICKSON, J. S.; CROUSE, J. D. Use of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* to inhibit *Listeria monocytogenes* associated with fresh meat. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.56, n.7, p.2142-2145, Jul., 1990.

NOGUEIRA, V. L. M. **Caracterização do Sistema de Lagoas de Estabilização da Estação de Esgotos do Parque Fluminense, em Fortaleza, Ceará**. 1999. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1999.

OLIVA, C. A. G.; SCALETSKY, I.; MORAIS, M. B.; FAGUNDES NETO, U. Diarréia aguda grave associada à *Escherichia coli* enteropatogênica clássica (EPEC): características clínicas e perdas fecais em lactentes hospitalizados. **Revista da Associação de Medicina Brasileira**, São Paulo, v.43, n.4, 1997.

OLIVEIRA, R. A. **Avaliação do grau de contaminação fecal das águas e do camarão capturado em algumas lagoas de Fortaleza-CE**. 1999. 27 f. Monografia. (Graduação em Engenharia de Pesca) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1999.

ROTTNER K.; STRADAL T. E. B.; WEHLAND J. Bacteria-host cell interactions at the plasma membrane: stories on actin cytoskeleton subversion. **Developmental Cell**. Cambridge, v.9, n.1, p.3-17, Jul. 2005.

SANDRINI C. N. M.; PEREIRA, M. A.; BROD, C. S.; CARVALHAL, J. B.; ALEIXO, J. A. G. *Escherichia coli* verotoxigênica: isolamento e prevalência em 60 propriedades de bovinos de leite da região de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.1, p.175-182, jan./fev., 2007

SETTI, A. A.; LIMA, J. E. F. W.; CHAVES, A. G. M.; PEREIRA, I. C. **Introdução ao Gerenciamento de Recursos Hídricos**. Brasília: Agência Nacional de Energia Elétrica (ANEEL); Agência Nacional de Águas (ANA), 2001. 328 p.

SILVA, M. L. G. **Análise da Qualidade Ambiental Urbana da Bacia Hidrográfica da Lagoa da Conceição**. 2002. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

SYDOW, A. C. M. D. G. V.; COOGAN, J. A.; MORENO, A. M.; MELVILLE, P. A.; BENITES, N. R. Ocorrência de fatores de virulência em estirpes de *escherichia coli* isoladas de fezes de cães errantes. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.4, p.401-407, out./dez., 2006.

TAGG, J. R.; DAJANI, A. S.; WANNAMAKER, L. W. Bacteriocins of Gram positive bacteria. **Bacteriology Reviews**, v.41, n.3, p.722-756, sep., 1976.

TODOROV, S. D.; DICKS, L. M. T. *Lactobacillus plantarum* isolated from molasses produces bacteriocins active against Gram-negative bacteria. **Enzyme and Microbial Technology, South Africa**, v.36, p.318-326, feb., 2005.

TONI, F.; SOUZA, E. M.; KLASSEN, G.; RIGO, L. U.; STEFFENS, M.B.; CRUZ, C. R.; PICHETH, G.; FARAH, S. M. S. S.; FADEL-PICHETH, C. M. T. Detecção de *Escherichia coli* Shiga Toxigênica (STEC) através da amplificação dos genes Stx. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v.36, n.2, p.73-77, jan., 2004.

TORO, C. R. **Uso de bactérias lácticas probióticas na alimentação de camarões *litopenaeus vannamei* como inibidoras de microrganismos patogênicos e estimulantes do sistema imune**. 2005. 173 f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

TORRES, R. C. O. *Escherichia coli*. In: **Microbiologia, Higiene e Qualidade do Pescado: teoria e prática**. VIEIRA, R.H.S.F. (Coord.). São Paulo: Varela, 2004. p.125-139.

TRABULSI, R. L., ALTERTHUM, F.; **Microbiologia**. 4ª ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 718 p.

VARELA, C. A. S. **Poluição em águas continentais: alternativas de controle de resíduos líquidos industriais**. São Luís: PPPG/EDUFMA, 1987. 168 p.

VILLASECA, J. M.; HERNÁNDEZ, U.; SAINZ-ESPUÑES, T. R.; ROSARIO C.; ESLAVA C. Enteroaggregative *Escherichia coli* an emergent pathogen with different virulence properties. **Revista Latinoamericana de Microbiologia**, México, v.47, n.3-4, p.140-159, Jul., 2005.

VON SPERLING, E. Água para saciar corpo e espírito: balneabilidade e outros usos nobres. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 22., 2003, Joinville. **Anais...** Joinville, 2003.

VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**: introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 2ª ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais, 1996. v.1, p. 85-89.

YATSUYANAGI J.; SAITO, S.; SATO, H.; MIYAJIMA, Y.; AMANO, K.; ENOMOTO, K. Characterization of enteropathogenic and enteroaggregative *Escherichia coli* isolated from diarrheal outbreaks. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.40, n.1, p.294-297, Jul., 2002.