

---

**MICROORGANISMOS NO SEDIMENTO DE MARGENS OPOSTAS DO ESTUÁRIO DO RIO COREAÚ EM CAMOCIM/CE****MICROORGANISMS IN THE SEDIMENT OF THE OPPOSITE MARGINS OF COREAÚ RIVER ESTUARY IN CAMOCIM/CE**

Adelaide Sampaio Oliveira<sup>1</sup>  
Jardielen Chaves Sousa<sup>1</sup>  
Antonio Lucas Rocha Santos<sup>1</sup>  
Renatta Santos Oliveira<sup>2</sup>  
Dionéia Evangelista Cesar<sup>2</sup>  
Edmo Montes Rodrigues<sup>1\*</sup>

**Resumo**

O estuário do rio Coreaú possui uma das margens tangenciando a área urbana de Camocim, enquanto a outra tangencia a APA das Dunas da Ilha da Testa Branca. Com o objetivo de verificar os efeitos das atividades antrópicas na margem urbanizada, este trabalho analisou parâmetros físico-químicos e microbiológicos em ambas as margens. Análises de pH, temperatura, turbidez, oxigênio dissolvido e DBO<sub>5</sub> foram realizadas na água. Amostras do sedimento foram utilizadas para quantificação de matéria orgânica e de bactérias heterotróficas, enumeração de coliformes, quantificação de células procarióticas e de bactérias patogênicas. Não houve diferença significativa para os parâmetros físico-químicos, exceto para matéria orgânica no sedimento, maior na margem urbanizada. A densidade de bactérias heterotróficas e de células procarióticas é maior na margem urbanizada. Os resultados indicaram que coliformes termotolerantes ocorrem apenas na margem urbanizada. Todos os *taxa* bacterianos patogênicos são encontrados em maior densidade na margem urbanizada, onde a densidade de *E. coli* é quase cinco vezes maior. Nossos resultados indicam que o descarte de águas residuárias está relacionado com a maior densidade de bactérias patogênicas no sedimento da margem urbanizada o que pode resultar em um problema de saúde pública.

**Palavras-chave:** Bactérias patogênicas; *Escherichia coli*; Águas residuárias; Impacto ambiental; Recursos hídricos.

**Abstract**

The Coreaú River estuary presents one margin tangying the Camocim urban area, while the other touches the APA of Dunas da Ilha da Testa Branca. In order to verify the effects of human activities in the urbanized margin, this work analyzed physical-chemical and microbiological parameters on both margins. Analysis of pH, temperature, dissolved oxygen, turbidity and BOD<sub>5</sub> were performed in the water. Sediment samples were used for quantification of organic matter and heterotrophic bacteria, enumeration of coliforms by

---

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE – *Campus* Camocim, Rua Raimundo Cals, 2041 – Cidade com Deus - Camocim – CE – CEP 62400-000.

<sup>2</sup>Laboratório de Ecologia e Biologia Molecular de Micro-organismos, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, *Campus* Universitário, Rua José Lourenço Kelmer, s/n – São Pedro, Juiz de Fora – MG – CEP 36036-900.

\* Autor Correspondente; Telefone: + 55 32 988866138; e-mail: edmo.rodrigues@ifce.edu.br.

MPN and, quantification of prokaryotic cells and pathogenic bacteria. There were no significant differences in the physical-chemical parameters, except for organic matter in the sediment, greater on the urbanized margin. The densities of heterotrophic bacteria and prokaryotic cells, are higher in the urbanized margin. The results indicated that thermotolerant coliforms occur in the urbanized margin only. All the pathogenic bacterial *taxa* are found in greater density on the urbanized margin, where the density of *E. coli* is almost five times greater. Our results indicate that the wastewater discharge is related to the higher amount of pathogenic bacteria in the sediment of the urbanized margin and this can result in a public health problem.

**Keywords:** Pathogenic Bacteria; *Escherichia coli*; Wastewater; Environmental Impact; Water Resources.

Título Abreviado: **MICROORGANISMOS NO SEDIMENTO DE MARGENS DO RIO COREAÚ EM CAMOCIM**

## 1. INTRODUÇÃO

Estuários são zonas de transição críticas em que ocorre a ligação de habitats lótico, marinho e terrestre. Todo o aporte, seja de matéria orgânica, de compostos químicos e de material biológico vem dos ecossistemas adjacentes, através da dinâmica das marés, vazão fluvial e precipitação. Essa complexidade faz com que os parâmetros físico-químicos e microbiológicos da área sejam constantemente modificados. Nos estuários ocorrem funções ecológicas essenciais, como a decomposição de matéria orgânica, ciclagem e transporte de nutrientes e de matéria orgânica entre os ambientes terrestre, marinho e límnic. As características estuarinas são fundamentais para proporcionar habitats e alimentação para espécies residentes e migratórias que frequentam esses ecossistemas (LEVIN et al., 2001; FU, 2014; CREED et al., 2015; EUCHARISTIA, 2019; KRICKOV et al., 2020).

O crescimento populacional humano, associado a falta de planejamento urbano, resulta em alterações das características físico-químicas e biológicas das regiões costeiras, de forma a afetar as funcionalidades biológicas do ecossistema.

Atividades humanas geram resíduos líquidos e sólidos que irão atingir regiões de estuário, podendo causar doenças, redução da beleza cênica, alterações nas teias alimentares, redução da produtividade de peixes e contaminação da água e do sedimento (RAHIM et al., 2020). Essas alterações refletem tanto na dinâmica das espécies que utilizam esse ambiente como habitat, como para a população humana que tem relação direta ou indireta com os estuários (SEMADS, 2001). Anthony et al. (2014), alertam que a ocupação humana provoca acentuadas alterações na paisagem costeira e no aporte de efluentes para o estuário, causando degradação e assoreamento.

Águas residuárias, provenientes de atividades antrópicas, trazem consigo microrganismos entéricos com potencial patogênico, que podem se associar a partículas do sedimento de forma a persistirem no ambiente (ANDERSON et al., 2005; HASSARD et al., 2016). Microrganismos patogênicos associados ao sedimento estão sujeitos a se tornarem suspensos (DRUMMOND et al., 2014), sendo esse um significativo reservatório para bactérias encontradas na coluna d'água (YAMAHARA et al., 2007). De acordo com Zhao et al. (2020), bactérias entéricas no sedimento estuarino podem apresentar resistência a

antibióticos, elevando o risco à saúde pública. Análises metagenômicas realizadas por Medeiros et al. (2016) demonstraram que a urbanização ocasiona modificação da comunidade bacteriana em ambiente lótico, de forma a resultar em maior abundância de sequências de bactérias entéricas e patogênicas para seres humanos e demais animais. Os autores notaram aumento médio nas sequências de *Burkholderia* (319%), *E. coli* (2.733%), *Shigella* (2.400%), *Salmonella* (1.150%) *Pseudomonas* (144%), *Vibrio* (400%) dentre outros, comparando-se região urbanizada com não urbanizada.

Dentre os microrganismos potencialmente patogênicos, *Escherichia coli*, é uma enterobactéria reconhecida como indicadora da qualidade bacteriológica da água. Linhagens diarreagênicas de *E. coli* estão associadas com sérios problemas de saúde pública e muitos casos de mortalidade infantil. Condições inadequadas de saneamento e higiene em diversas regiões da África, Ásia e América Latina levam a frequentes surtos de diarreia em crianças e jovens (CROXEN et al., 2013; ODONKOR e AMPOFO, 2013; TORRES, 2017; MARAMRAJ et al., 2020). Dentre os microrganismos causadores de doenças entéricas, *E. coli* é uma das mais importantes espécies bacterianas. A aquisição de genes via transferência horizontal é um fator chave para a disseminação do potencial patogênico da espécie (KAPER et al., 2004; GOMES et al., 2016). Além disso, a resistência a antibióticos de algumas linhagens torna a infecção por *E. coli* ainda mais preocupante e de difícil tratamento (PORMOHAMMAD et al., 2019).

No município de Camocim, semiárido do estado do Ceará, localiza-se o estuário do rio Coreaú, onde ilhas, mangues e dunas fazem parte do conjunto cênico. Em uma das margens localiza-se a área urbana do município, enquanto na outra, está localizada a Área de Proteção Ambiental (APA) da Ilha da Testa Branca. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2020), a população estimada de Camocim, em

2019, era de 63.661 habitantes. De acordo com o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento, em 2018, aproximadamente 46% da população urbana era atendida pela rede coletora de esgoto e 74% do esgoto coletado era tratado pelo município (SNIS, 2020) em um sistema composto por duas lagoas de estabilização sem monitoramento dos efluentes tratados (NAT, 2014).

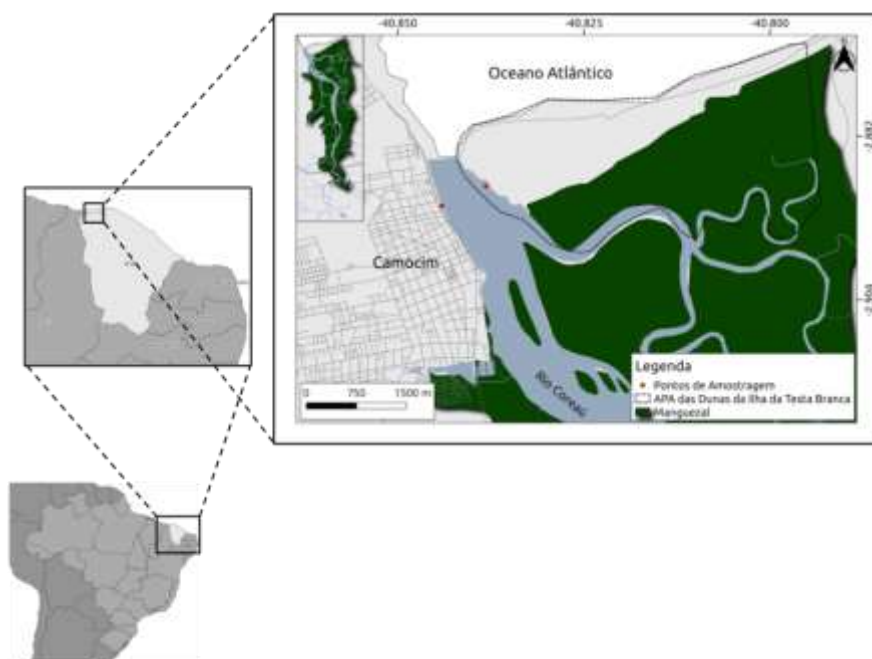
Atividades extrativistas na região da foz do rio Coreaú são fonte de renda de significativa parcela da população local, sendo rotineira a presença de pescadores realizando manutenção de embarcações e pesca, além de catadores de mariscos nas margens do rio. O despejo incorreto de parte do esgotamento sanitário pode fazer com que características físico-químicas e microbiológicas do ambiente afetem negativamente a saúde humana e ecossistêmica. O presente estudo objetivou analisar características físico-químicas e microbiológicas nas margens na região de foz do rio Coreaú e relacionar as variações com as diferentes atividades desenvolvidas nesses locais e indicar implicações para a saúde pública.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Descrição do Local

A foz do rio Coreaú está localizada na região noroeste do estado do Ceará, no município de Camocim (Figura 1). Segundo Köppen-Geiger na região ocorre o clima tropical com estação seca de inverno (PEEL et al., 2007). A foz é caracterizada por uma de suas margens tangenciar a área urbana municipal, com pontos de descarte de águas residuárias, águas pluviais e pela presença de atividades de venda de pescado, construção e manutenção de embarcações.

A margem oposta do rio Coreaú tangencia a APA das Dunas da Ilha da Testa Branca, região com pouca interferência humana, contendo grande quantidade de dunas e restinga, além da presença de uma região de mangue (ICMBIO, 2007).



**Figura 1.** Localização geográfica da área de estudo.

## 2.2 Coleta de Amostras

Amostras compostas de sedimentos da zona entremarés foram obtidas na margem que tangencia a área urbana de Camocim ( $2^{\circ}53'17''S$   $40^{\circ}50'43.5''W$ ) e na margem da APA das Dunas da Ilha da Testa Branca ( $2^{\circ}53'09.1''S$   $40^{\circ}50'29.9''W$ ). Para tanto, foram realizadas 20 subamostragens em área de nove metros quadrados. As subamostras coletadas (0-5 cm) foram inseridas em sacos plásticos e então homogêneas por agitação manual. Foram obtidas três amostras compostas de cada uma das margens do rio Coreau. As amostras foram mantidas resfriadas até a execução dos procedimentos em laboratório.

## 2.3. Turbidez, pH, Temperatura, Matéria Orgânica Total (MOT) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)

Em campo, utilizando-se a sonda *Multiparameter Water Quality Checker U-50* (HORIBA) foram realizadas medições do pH, turbidez e da temperatura da água no momento da coleta.

Amostras de água, em triplicata, foram coletadas e levadas ao laboratório onde foram inseridas em béqueres e os valores de oxigênio dissolvido foram medidos utilizando-se a sonda *Multiparameter Water Quality Checker U-50* (HORIBA). A determinação da demanda bioquímica de oxigênio foi realizada de acordo com Delzer e McKenzie (2003), onde os béqueres foram mantidos a  $20^{\circ}C$  no escuro durante cinco dias. Após esse período houve nova medição do oxigênio dissolvido em cada béquer e então a  $DBO_5$  foi calculada através da subtração do valor inicial pelo final.

Das amostras de sedimento obtidas foram utilizadas alíquotas de 20 g para se proceder com a determinação da matéria orgânica total no sedimento. Para tanto, os sedimentos foram inseridos em recipientes de porcelana de massa conhecida. O material foi deixado em estufa a  $115^{\circ}C$  durante 24 h para evaporação da água e determinação da massa de sedimento seco ( $M_{ss}$ ). Em seguida o material foi pesado e inserido em mufla a  $500^{\circ}C$  por 3 h. Por fim o material foi novamente pesado para determinação da massa do sedimento muflado ( $M_{sm}$ ) e a matéria orgânica

total foi quantificada de acordo com a seguinte equação:  $MO_t = M_{ss} - M_{sm}$ .

#### 2.4. Cultivo e Contagem de Bactérias Heterotróficas

Alíquotas de 1 g de cada amostra composta foram utilizadas para realização de diluições seriadas ( $10^{-1}$  e  $10^{-2}$ ) em solução salina estéril (NaCl 0,9%). Um volume de 1.000  $\mu$ L de cada diluição foi utilizado para realização da técnica de *pour plate* em placas de Petri. Em seguida, verteu-se um volume de 15 a 20 mL de *Plate Count Agar* (KASVI) a 50 °C (contendo 0,64% de fluconazol para inibir o desenvolvimento de colônias fúngicas) no interior de cada placa. Os procedimentos foram realizados em triplicata. Por fim as placas foram fechadas e movimentos circulares foram realizados para permitir a homogeneização da mistura antes da solidificação do meio. As placas foram incubadas a 30 °C ou 35 °C por 48 h para se proceder com a contagem das colônias obtidas. O resultado foi expresso em Unidades Formadoras de Colônias por grama de sedimento (UFC  $g^{-1}$ ).

Alíquotas de 1 g de cada amostra composta foram submetidas a diluições seriadas (NaCl 0,9%) de  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$  utilizando-se a técnica de tubos múltiplos da 23ª edição do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2017). Prosseguiu-se com as análises para determinação do Número Mais Provável (NMP) para determinação de coliformes totais e coliformes termotolerantes, utilizando-se tabela de acordo com o *Bacteriological Analytical Manual* (BLODGETT, 2010).

Inicialmente realizou-se o teste presuntivo, onde tubos contendo 9 mL de *Lactose Broth* (*TM media*) e tubos de Durham invertidos em seu interior receberam 1.000  $\mu$ L de cada diluição. Em triplicata os tubos foram incubados por 48 h a 35 °C. Os tubos de Durham com formação de gás no interior foram selecionados como positivos e então procedeu-se com o teste confirmatório de coliformes totais. Para tanto, empregou-se o

caldo Verde Brilhante 2% (*TM media*) no interior de tubos de ensaio contendo tubos de Durham invertidos para inoculação do conteúdo dos tubos positivos do teste presuntivo e posterior incubação a 35 °C por 48 h. O conteúdo dos tubos com resultados positivos no caldo Verde Brilhante 2% (formação de gás no interior dos tubos de Durham) foram então inoculados em tubos contendo caldo EC (*TM media*) e com tubos de Durham em seu interior. Para a verificação da presença e enumeração de coliformes termotolerantes os tubos foram incubados por 24 h a 44,5 °C. O conteúdo dos tubos com resultados positivos foi então inoculado em placas contendo o ágar EMB (*Eosin Methylene Blue – TM media*) para verificação da coloração das colônias crescidas a 37 °C por 24 h.

#### 2.5. Quantificação Direta de Microrganismos – Hibridização *in situ* Fluorescente (FISH)

Amostras de sedimento foram fixadas com formalina 2% e mantidas em frascos estéreis até o processamento. Inicialmente as amostras foram submetidas a sonicação (Vibra Cell VCX 130PB, Sonics & Materials®) com amplitude de 110,7  $\mu$ m durante 60 segundos, por três vezes, com intervalos de 30 segundos entre cada sonicação. Em seguida foram centrifugadas a 500 g por 5 minutos e o sobrenadante foi removido. Esta etapa foi repetida mais duas vezes, sendo que a cada repetição, era adicionada água ultrapura para lavagem do conteúdo. Por fim, as três frações de sobrenadantes foram unidas em um mesmo frasco, centrifugadas novamente e um volume de 1 mL utilizado para filtração em filtros de polícarbonato (Nucleopore®) de 0,2  $\mu$ m (DEL'DUCA et al., 2013). Em seguida as amostras foram submetidas ao protocolo de *Hibridização in situ* Fluorescente (DEL'DUCA et al., 2013) com sondas de oligonucleotídeos de rDNA para identificar bactérias com potencial patogênico (Tabela 1). Uma sonda sem especificidade para

qualquer bactéria, foi utilizada como controle negativo para avaliar a hibridização inespecífica nas amostras. Todas as sondas utilizadas eram marcadas com o fluorocromo Cy3 e descritas na plataforma *online probe Base* (LOY et al., 2007).

A abundância bacteriana foi obtida pela contagem de dez campos aleatórios em cada filtro em microscópio de epifluorescência Olympus BX60 (Olympus, Japão). Em cada campo analisado ao

microscópio foram contadas as células coradas com DAPI (para quantificar a abundância procariótica total) e as células coradas com as sondas específicas.

## 2.6. Análises Estatísticas

Os dados analisados foram considerados normais pelo teste de Shapiro-Wilks. Foi então realizado teste de variância (ANOVA) seguido por Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 1.** Sondas de oligonucleotídeos de rDNA marcadas com o fluorocromo Cy3 utilizadas no procedimento de Hibridização *in situ* Fluorescente

Sonda	Especificidade	Sequência (5' – 3')	FA <sup>1</sup>	Cobertura <sup>2</sup>	Referência
NON	Controle Negativo	TAGTGACCGTCGA	30%	--	YOKOKAWA E NAGATA, 2005
Aero2	<i>Aeromonas</i>	GTAACGTCACAGCCAGCAGA	35%	11,45%	KYSELKOVÁ et al., 2009
VIB572a	<i>Vibrio</i>	ACCACCTGCATGCGCTTT	40%	59,89%	HUGGETT et al., 2008
ENT183	Enterobacteriaceae	CTCTTTGGTCTTGCGACG	20%	44,27%	FRIEDRICH et al., 2003
Pae997	<i>Pseudomonas</i>	TCTGGAAAGTTCTCAGCA	20%	13,72%	AMANN et al., 1996
ECO1167	<i>Escherichia coli</i>	GCATAAGCGTCGCTGCCG	40%	--	NEEF E AMANN, 1995
Enc145	<i>Enterococcus</i>	GGGATAACACTTGGAAC	20%	84,00%	BEHR et al., 2000
Kpn	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CCTACACACCAGCGTGCC	30%	--	KEMPF et al., 2000
Str	<i>Streptococcus</i>	CACTCTCCCCTTCTGCAC	30%	31,92%	TREBESIUS et al., 2000

<sup>1</sup> Porcentagem de formamida (FA) na solução de hibridização.

<sup>2</sup> De acordo com o *RibosomalDatabase Project*

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de oxigênio dissolvido (OD) nas amostras de água estão de acordo com a Resolução CONAMA n° 357, de 2005, para a classe II - águas salobras (CONAMA, 2005), que permitem o uso do recurso para pesca amadora e recreação (Tabela 2). Os valores de pH também se mantiveram entre os valores determinados pela resolução, com valores entre 6,5 e 8,5. De acordo com a

Resolução CONAMA n° 274, de 2000, os valores para coliformes termotolerantes permitem classificar o ambiente como “Excelente” quanto à balneabilidade. Não houve variação significativa entre os parâmetros físico-químicos analisados da água. A matéria orgânica total do sedimento foi maior na margem urbanizada.

O maior valor de matéria orgânica na margem urbanizada pode estar relacionado com o descarte de efluentes não tratados e

mesmo de efluentes tratados na região da margem urbanizada, visto que não ocorre monitoramento dos mesmos (NAT, 2014). Além disso, o descarte de órgãos de parte do pescado que é desembarcado na margem urbanizada do rio pode contribuir para essa diferença.

Comparando-se a densidade bacteriana heterotrófica em mesmas temperaturas entre sedimento de margem urbanizada e não urbanizada, observa-se que a 30 °C o valor na margem urbanizada é, em média, 26 vezes maior que na não urbanizada

(Figura 2). No mesmo sentido, a 35 °C, a densidade é 72 vezes maior na margem urbanizada. Isso pode ser um indicativo de que parte das colônias sejam de coliformes, visto que, por serem bactérias que normalmente colonizam o trato gastrointestinal de animais, incluindo humanos, possuem temperatura ótima de crescimento mais próxima de 35 °C do que 30 °C (GRIMES et al., 1986; LAIBU, 2018). Nesse sentido, tende-se a observar maior crescimento de colônias bacterianas na temperatura de 30 °C, em decorrência de ser mais próxima da temperatura da água.

**Tabela 2.** Valores médios dos parâmetros físico-químicos medidos na água e sedimento nas margens do estuário do rio Coreau

Ambiente/ Parâmetro	pH	Temperatura (°C)	Turbidez (NTU)	OD (mg L <sup>-1</sup> )	DBO <sub>5</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	MO <sub>t</sub> (mg) sedimento
<b>Urbanizado</b>	7,96 ± 0a	27,80 ± 0,1a	19,36 ± 1,7a	5,2 ± 0,5a	0,4433 ± 0,10a	0,2205 ± 0,20a
<b>Não urbanizado</b>	7,89 ± 0a	28,02 ± 0,3a	14,96 ± 2a	5,8 ± 1a	0,3866 ± 0,17a	0,1713 ± 0b

DBO<sub>5</sub>: Demanda bioquímica de oxigênio; MO<sub>t</sub>: Matéria orgânica total; OD: Oxigênio dissolvido. As médias de um mesmo parâmetro seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente de acordo com Tukey a 5% de probabilidade.

Kim et al. (2018) analisaram a temperatura ótima de crescimento para linhagens patogênicas de *Bacillus cereus*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* e *Listeria monocytogenes*. De forma geral, a temperatura ótima de crescimento para essas espécies bacterianas foi de 35 °C e em pH 9. De acordo com os autores, a acidificação do pH resultou em redução das taxas de crescimento desses microrganismos. Nesse sentido, o valor de pH da água do rio era de 7,9 ou seja, um valor levemente básico que favorece, portanto, o desenvolvimento dessas espécies bacterianas.

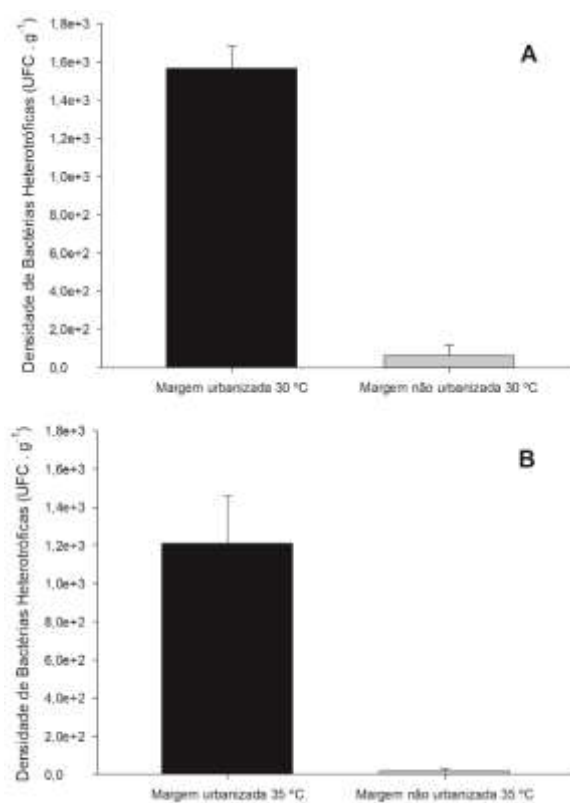
Coliformes são representantes de alguns dos gêneros bacterianos compreendidos na família Enterobacteriaceae. Suas células são caracterizadas por serem

gram-negativas, não formadoras de esporos, com forma de bastonetes e que fermentam lactose na presença de sais biliares quando crescem durante 48 h a 35 °C (APHA, 2017). Utilizando-se a técnica de tubos múltiplos, os resultados positivos para o testes presuntivo e confirmativo para coliformes totais e termotolerantes foram obtidos apenas na diluição 10<sup>-1</sup>. No teste presuntivo, para detecção de microrganismos fermentadores de lactose, foram obtidos em ambos os locais amostrados dois tubos com resultado positivo, resultando em NMP g<sup>-1</sup> de 9,2. Na Tabela 3 estão contidos os resultados para os testes confirmativos de coliformes totais e coliformes termotolerantes em ambos os ambientes amostrados. Os resultados foram iguais ao se comparar a quantidade de

coliformes totais no sedimento de ambas as margens do rio, resultando em valores de NMP  $g^{-1}$  de 3,6.

Levando-se em consideração a análise de coliformes termotolerantes, observa-se que, embora pequena a variação, houve registro desses microrganismos apenas no sedimento da margem urbanizada do rio Coreau. Esse resultado fornece indícios de que o descarte de efluentes urbanos no rio influencia a comunidade microbiana e permite o desenvolvimento de coliformes termotolerantes no sedimento. A inoculação do conteúdo do tubo positivo em meio EMB em incubação sob temperatura de 37 °C por 24 h resultou no desenvolvimento de colônias de coloração verde metálica, característica de *Escherichia coli*. Várias são as linhagens patogênicas de *E. coli*, sendo que muitas são diarreio gênicas. Medeiros et al. (2014) avaliaram a comunidade bacteriana em água de área urbanizada e não urbanizada de um ambiente lótico. Foi demonstrado que existe uma correlação positiva entre a abundância de várias linhagens de *E. coli* e a urbanização do ambiente. Essa correlação ocorre também para outras espécies bacterianas, incluindo taxa de coliformes e demais patogênicos.

A descarga de esgoto é conhecida por ser uma atividade que resulta em alteração da comunidade microbiana de ambientes naturais (PAUL e MEYER, 2001). A densidade de células procarióticas no sedimento da margem urbanizada do rio Coreau é significativamente maior quando comparada à densidade da margem não urbanizada, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade (Figura 3). Essa diferença está de acordo com os valores obtidos, não na mesma proporção, para a densidade de bactérias heterotróficas quantificadas via cultivo a 30 °C e 35 °C (Figura 2), sendo um indicativo a mais para afirmar que a densidade de células bacterianas é maior na margem urbanizada.



**Figura 2.** Densidade de bactérias heterotróficas em sedimento (0-5 cm) da zona entremarés nas margens do estuário do rio Coreau cultivadas em temperatura de incubação igual a 30 °C (A) e 35 °C (B).

Todos os grupos bacterianos analisados apresentaram maior densidade média na região entremarés da margem urbanizada do rio Coreau (Figura 4). A densidade de representantes da família Enterobacteriaceae foi cinco vezes maior na margem urbanizada. Nesta margem houve variação positiva de 33 vezes para representantes do gênero *Enterococcus* e aproximadamente cinco vezes para as espécies *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Todos os taxa mencionados são coliformes e, portanto, podem ser fração significativa da comunidade bacteriana heterotrófica quantificada em maior densidade na margem urbanizada. É possível que essa variação ocorra em decorrência das atividades humanas, principalmente pela deposição de matéria orgânica na margem urbanizada do rio, que pode ser originária do lançamento de



efluentes domésticos sem tratamento adequado nesta margem do rio. Considerando que todos os grupos bacterianos analisados são patogênicos ou apresentam potencial de patogenicidade, os resultados obtidos indicam

que indivíduos que possuem contato direto com o sedimento da margem urbanizada do rio podem ser infectados e desenvolver patologias.

**Tabela 3.** Análise do Número Mais Provável (NMP) em amostras de sedimento da zona entremarés das margens do rio Coreau

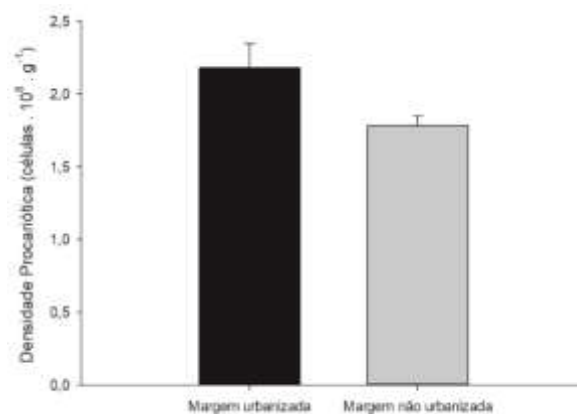
Ambiente	Coliformes totais		Coliformes termotolerantes	
	Tubos Positivos	NMP g <sup>-1</sup>	Tubos Positivos	NMP g <sup>-1</sup>
Urbanizado	1-0-0	3,6	1-0-0	3,6
Não urbanizado	1-0-0	3,6	0-0-0	< 3,0

\*valores de NMP de acordo com *Bacteriological Analytical Manual* (Blodgett, 2010).

Representantes de *E. coli* constituem parte da microbiota do intestino humano e de vários animais. As células dessa espécie são comumente utilizadas como indicadoras de contaminação fecal no ambiente (EDBERG, 2000; TALLON et al., 2005). São diversos os sorotipos de *E. coli*, que quando ingeridos podem resultar em diferentes tipos de infecções intestinais, sendo que algumas podem evoluir para quadros de hemorragia, anemia hemolítica e trombose (FDA, 2012). Vários são os fatores de virulência em populações de *E. coli*, codificados pelo DNA cromossômico, plasmidial ou de DNA de bacteriófagos (ARANDA et al., 2004)

Comparando-se os dados de NMP e de FISH, observa-se que a técnica de FISH possibilita maior resolução da densidade microbiana no ambiente. Tomando-se como base os dados para *E. coli*, por FISH foram obtidos os valores de  $7,37 \times 10^6$  e  $1,57 \times 10^6$  células por grama de sedimento na margem urbanizada e não urbanizada, respectivamente. Utilizando-se a técnica de tubos múltiplos para representar os dados em NMP, houve a quantificação de 3,6 NMP g<sup>-1</sup> e < 3,0 NMP g<sup>-1</sup> na margem urbanizada e não

urbanizada respectivamente, na quantificação de coliformes termotolerantes, notadamente *E. coli* após análise do aspecto de cor das colônias.



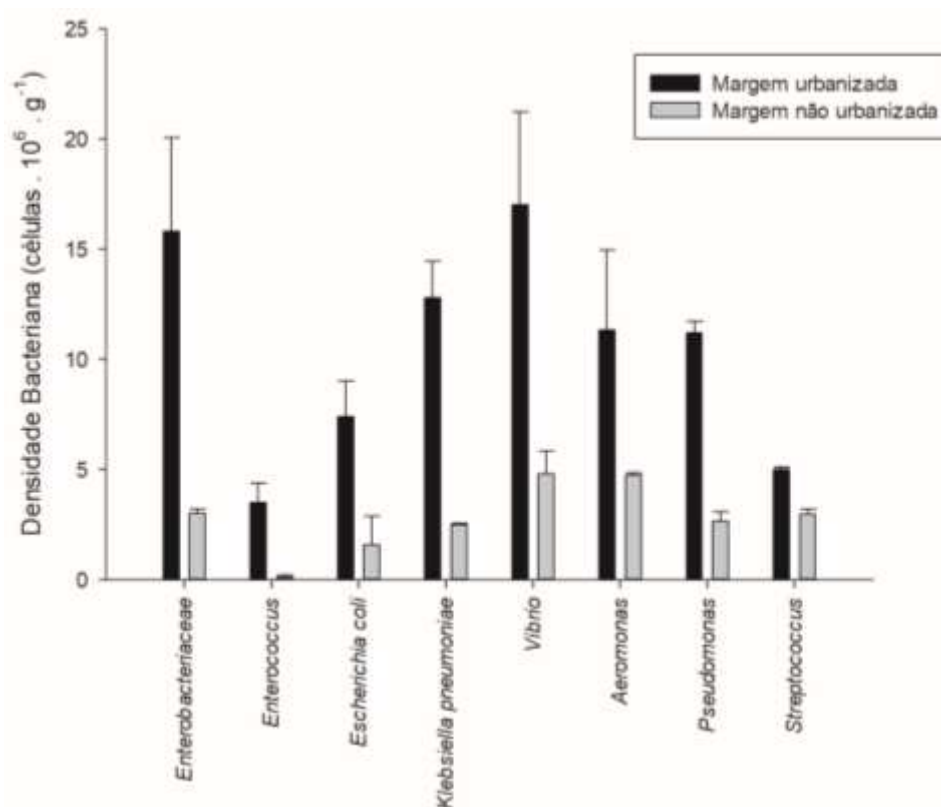
**Figura 3.** Densidade de células procarióticas no sedimento (0-5 cm) da zona entremarés nas margens urbanizada e não-urbanizada no estuário do rio Coreau.

A técnica de FISH quantifica células ativas ou inativas no ambiente, enquanto a técnica de tubos múltiplos permite analisar apenas células que permanecem ativas nas condições de cultivo, portanto, isso pode explicar a diferença observada. Nesse sentido,

explica-se porque estudos de monitoramento da qualidade microbiológica da água são realizadas por métodos dependentes de cultivo.

A diferença entre os valores de NPM e FISH para a densidade de células de *E. coli* pode ser explicada com base nos fatores ambientais do local de coleta das amostras. XU et al. (1982) propuseram pela primeira vez a existência de células de *E. coli* e *Vibrio cholerae* em ambientes aquáticos em estado viável não cultivável (VNC). De acordo com variações nas condições de salinidade e temperatura, embora tais microrganismos permanecessem metabolicamente ativos, não era possível cultivá-los utilizando-se técnicas tradicionais de cultivo. O stress osmótico, provocado pela salinidade da região da foz do

rio Coreá, bem como a incidência de radiação UV na porção superficial do sedimento coletado são fatores que favorecem indução do estado VNC (OHTOMO e SAITO, 2001; ZHANG et al., 2015). Embora sugere-se que boa parte da população de *E. coli* no ambiente estudado esteja em estado VNC, deve-se enfatizar que ainda assim as células permanecem ativas e expressam múltiplos genes de virulência (YARON e MATTEWS, 2002; PATRONE et al., 2013). Apesar da subestimativa do número de microrganismos pelas técnicas dependentes de cultivo, e a impossibilidade de avaliar as células viáveis pela técnica de FISH (ROMPRÉ et al., 2002), consideramos que, estas são técnicas complementares.



**Figura 4.** Densidade de células de grupos bacterianos no sedimento (0-5 cm) da zona entremarés na margem urbanizada e na margem não urbanizada do rio Coreá.

Os valores elevados de *K. pneumoniae* na margem urbanizada são preocupantes, à medida que essa espécie é conhecida por ser altamente patogênica, em especial, seus

mecanismos intrínsecos de resistência a antibióticos (MOREIRA, 2014). *K. pneumoniae* e outras bactérias entéricas apresentam resistência a antibióticos

favorecida pela plasticidade de seus genomas. Fenótipos de resistência a medicamentos têm apresentado vantagem na dinâmica evolutiva desses organismos (KUMAR et al. 2011).

Em estudo realizado por Baptista (2013), foi demonstrado que diversas bactérias da família Enterobacteriaceae pertencentes ao grupo dos coliformes possuem resistência a antibióticos, em especial devido à atividade de algumas de suas enzimas. A resistência de cepas bacterianas à antibióticos está relacionada com a produção de metabólitos como as  $\beta$ -lactamases de amplo espectro (ESBLs) e Amp-C  $\beta$ -lactamases, que conferem resistência à antibióticos do grupo das cefalosporinas, normalmente sintetizadas a partir de genes plasmidiais (PITOUT, 2008; JACOBY, 2009). As ESBLs podem ser modificadas em decorrência de vantagens adaptativas e tornam-se cada vez mais complexas e diversificadas, podendo gerar dificuldades no controle de infecções por estas bactérias (PATERSON, 2005). Portanto, a maior densidade dos *taxa* bacterianos encontrados na margem urbanizada pode resultar não apenas em infecções simples de serem tratadas, mas também infecções por bactérias multirresistentes, principalmente se existir contaminação por antibióticos na região.

Espécies do gênero *Vibrio* são conhecidas por infectar animais marinhos e estuarinos, além de causar doenças em humanos em caso de ingestão de animais contaminados e contato de mucosas ou ferimentos com água e sedimentos contaminados (SILVEIRA et al., 2016). Nesse sentido, a densidade de células de *Vibrio* na margem urbanizada do rio merece atenção, visto que pode servir como ponto de contaminação para animais e pessoas que habitam o local.

O consumo de pescado e mariscos da região pode também trazer risco para consumidores, visto que caso as células permaneçam viáveis após o preparo dos alimentos, podem causar infecção alimentar (HOLLIS et al., 1976). O consumo de frutos

do mar infectados por *Vibrio* spp. pode resultar em infecções nos tecidos moles, causando amputações de membros e até óbito (FINKELSTEIN e OREN 2011). A infecção pode ocorrer ainda pelo contato com a pele, mucosa ou feridas expostas à água do mar ou sedimento contaminado. Além disso, relatos na literatura indicam que representantes deste gênero bacteriano podem causar gastroenterite e septicemia (HLADY e KLONTZ 1996; ARAÚJO et al., 2007).

Reconhece-se *Aeromonas* spp. como causadora de diversas doenças em humanos outros animais, como septicemia e gastroenterite (DWIVEDI et al., 2008), inclusive associadas a consumo de ostras cruas (NIKIFOROV et al., 2014). Considerando que vários são os fatores de virulência identificados em representantes de *Aeromonas*, sua presença no sedimento é mais um fator de risco no ambiente (GRANUM et al., 1998). Espécies de *Pseudomonas* são normalmente encontradas em ambientes aquáticos e muitas cepas psicrófilas podem causar deterioração de alimentos, incluindo peixes e frutos do mar mesmo após resfriamento (ICMSF, 2000; SILVA et al., 2010). Várias espécies são patógenas oportunistas para humanos, associadas com infecções em indivíduos com o sistema imunológico debilitado (Silva et al., 2010). São versáteis quanto às exigências de condições ambientais para crescer, além de frequentemente serem capazes de resistir a vários antissépticos e antibióticos (SILVA et al., 2010). Embora não sejam coliformes, são comuns na microbiota intestinal (EUZÉBY, 2006). Essas células podem contaminar parte do pescado que tem contato com a água e a areia assim que são postos à venda na margem urbanizada do rio. Desta maneira, podem causar aceleração da deterioração dos alimentos bem como infecções em pessoas que venham a consumir esses produtos.

Algumas espécies do gênero *Streptococcus* são também potenciais indicadoras de contaminação fecal (APHA, 2017; TALLON, 2005). Portanto, a maior

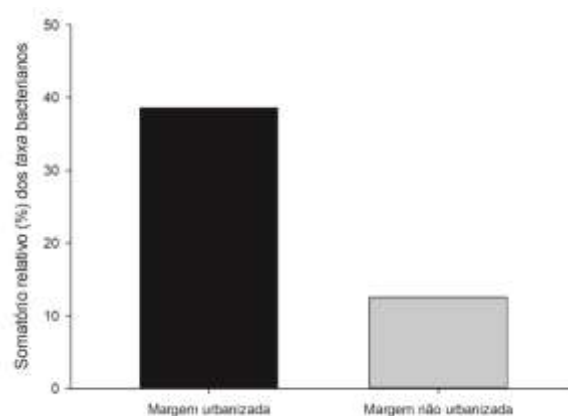
densidade de representantes desse gênero no sedimento da margem urbanizada é mais um indicativo da contaminação fecal por esgoto doméstico na região.

A detecção de microrganismos patogênicos no ambiente não apresenta risco real de doenças, mas sim um risco potencial. Para que esses microrganismos patogênicos provoquem doenças é necessário que possuam a capacidade de sobreviver e se multiplicar no meio, de modo que atinjam quantidades suficientes para causar infecção em humanos e outros animais. (ANDRADE NETO, 1997)

A maior densidade dos *taxa* analisados na região da margem urbanizada pode estar relacionada com as atividades antrópicas locais, principalmente com o descarte de esgoto doméstico sem o tratamento adequado. As análises por FISH permitiram analisar a densidade relativa dos grupos patogênicos com relação à comunidade procariótica total em cada margem do rio Coreau (Figura 5). Observa-se que 38,6% da comunidade procariótica total na margem urbanizada é composta pelos grupos bacterianos patogênicos analisados no presente estudo. Em contraste, apenas 12,5% da comunidade procariótica da margem não urbanizada é composta pelos grupos patogênicos analisados.

As porcentagens obtidas são consistentes indícios de que a comunidade microbiana é afetada pela presença das atividades antrópicas que ocorrem na margem urbanizada. As relações ecológicas entre os microrganismos locais podem ser afetadas de forma a aumentar a competição e assim favorecer o crescimento de determinados *taxa* em relação a outros, resultando em variação na diversidade microbiológica ambiental (DUARTE, 2011). De acordo com Jannasch (1968) a competição com bactérias residentes influencia no estabelecimento de enterobactérias no ambiente, sendo assim, em locais que recebem cargas de esgoto doméstico, os microrganismos preexistentes interagem com os microrganismos introduzidos. Nesse sentido infere-se que

bactérias com origem provável no esgoto doméstico se adaptaram ao ambiente, competiram com microrganismos autóctones e colonizaram a região do sedimento marginal do rio.



**Figura 5.** Densidades relativas do somatório de grupos bacterianos analisados neste estudo em relação à comunidade procariótica total.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que a urbanização no município de Camocim não ocasiona modificação dos valores dos parâmetros físico-químicos avaliados, com exceção da quantidade de matéria orgânica no sedimento da região entremarés, maior na margem urbanizada do rio. Entretanto, as atividades urbanas ocasionam diferenças na comunidade bacteriana presente no sedimento das regiões entremarés do rio Coreau. Maiores valores de densidade ocorrem no sedimento da margem urbanizada quando comparada ao da margem não urbanizada para todas as bactérias potencialmente patogênicas avaliadas.

#### Agradecimentos

Agradecemos ao estudante Francisco Marcilio de Oliveira Pereira pelo auxílio durante a execução de parte dos experimentos.

## 5. REFERÊNCIAS

- AMANN, R, LUDWIG, W, SCHULZE, R, SPRING, S, MOORE, E, SCHLEIFER, K. rRNA-targeted oligonucleotide probes for the identification of genuine and former pseudomonads. **Systematic and Applied Microbiology**, 19, 501–509, 1996. doi:10.1016/S0723-2020(96)80023-3.
- ANDERSON, KL., WHITLOCK, JE., HARWOOD, VJ. Persistence and differential survival of fecal indicator bacteria in subtropical waters and sediments. **Applied and Environmental Microbiology**. 71, 3041–3048, 2005. doi: 10.1128/AEM.71.6.3041-3048.2005.
- ANDRADE NETO, CO. **Sistemas simples para tratamento de esgotos sanitários: experiência brasileira**. Editora ABES, 1997.
- ANTHONY, EJ., MARRINER, N., MORHANGE, C. Human influence and the changing geomorphology of Mediterranean deltas and coasts over the last 6000 years: From progradation to destruction phase? **Earth-Science Reviews**, 139, 336-361, 2014.
- APHA - American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 23th ed. American Public Health Assoc., Washington, D.C., 2017.
- ARANDA, KRS, FAGUNDES-NETO, U, SCALETSKY, ICA. Evaluation of multiplex PCRs for diagnosis of infection with diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* spp. **Journal of Clinical Microbiology**, 42, 5849-5853, 2004. doi: 10.1128/JCM.42.12.5849-5853.2004.
- ARAÚJO, MRE, AQUINO, C, SCARAMAL, E, CIOLA, CS, SCHETTINO, G, MACHADO, MCC. *Vibrio vulnificus* infection in São Paulo, Brazil: case report and literature review. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 11, 302-305, 2007. doi:10.1590/s1413-86702007000200029.
- BAPTISTA, MGFM. **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos**. Lisboa, Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - ULHT de Lisboa. 2013.
- BEHR, T, KOOB, C, SCHEDL, M, MEHLEN, A, MEIER, H, KNOPP, D, FRAHM, E, OBST, U, SCHLEIFER, K, NIESSNER, R, LUDWIG, W. A nested array of rRNA targeted probes for the detection and identification of enterococci by reverse hybridization. **Systematic and Applied Microbiology**. 23, 563-572, 2000. doi: 10.1016/S0723-2020(00)80031-4.
- BLODGETT, R. Appendix 2 - Most Probable Number from Serial Dilutions. In: *US Food and Drug Administration (FDA), Bacteriological Analytical Manual*, 2010. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm109656.htm>.
- CONAMA - Conselho nacional do meio ambiente, Resolução n.º 357 de 17 de março de 2005, Brasília, DOU de 18/03/2005. Disponível em: [http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/RESOLUCAO\\_CONAMA\\_n\\_357.pdf](http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/RESOLUCAO_CONAMA_n_357.pdf).
- CREED, IF, MCKNIGHT, DM, PELLERIN, BA, GREEN, MB, BERGAMASCHI, BA, AIKEN, GR, BURNS, DA, FINDLAY, SEG, SHANLEY, JB, STRIEGL, RG, AULENBACH, BT, CLOW, DW, LAUDON, H, MCGLYNN, BL, MCGUIRE, KJ, SMITH, RA, STACKPOOLE, SM. The river as a chemostat: Fresh perspectives on dissolved organic matter flowing down the river continuum. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 72, 1272–1285, 2015. doi: 10.1139/cjfas-2014-0400.
- CROXEN, MA, LAW, RJ, SCHOLZ, R, KEENEY, KM, WLODARSKA, M, FINLAY, BB. Recent advances in

- understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, 26, 822-880, 2013.
- DEL'DUCA, A, CESAR, D, DINIZ, C, ABREU, P. Evaluation of the presence and efficiency of potential probiotic bacteria in the gut of tilapia (*Oreochromis niloticus*) using the fluorescent in situ hybridization. **Aquaculture**, 388–391, 115–121, 2013. doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.01.019.
- DELZER, GC, MCKENZEE, SW. Five day biochemical oxygen demand, 3<sup>rd</sup> ed. **U.S. Geological Survey, Technique of Water Resources Investigations**, USGS, TWRI book 9-A7, 2003.
- DRUMMOND, JD, DAVIES-COLLEY, RJ, STOTT, R, SUKIAS, JP, NAGELS, JW, SHARP, A, PACKMAN, AI. Retention and remobilization dynamics of fineparticles and microorganisms in pastoral streams. **Water Resource**. 66: 459–472, 2014. doi:10.1016/j.watres.2014.08.025.
- DUARTE, ER, SILVA, KL, FREITAS, CES, ABRÃO, FO. Interações microbianas e interações hospedeiro com microrganismo. In: Duarte, E. R. (Org.). **Microbiologia Básica para Ciências Agrárias**. Montes Claros: Instituto de Ciências Agrárias da UFMG, p. 105-116, 2011.
- DWIVEDI, M, MISHRA, A, PRASAD, A, AZIM, A, SINGH, RK, BARONIA AK, PRASAD KN, DWIVEDI UN. Aeromonas caviae septicemia in immunocompetent gastrointestinal carriers. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 12, 547–548, 2008. doi: 10.1590/S1413-86702008000600023.
- EDBERG, SCL, RICE, EW, KARLIN, RJ, ALLAN, MJ. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. **Journal of Applied Microbiology**, 88, 106S-116S, 2000. doi: 10.1111 / j.1365-2672.2000.tb05338.x.
- EUCHARISTA, FEI. Assessment of physicochemical characteristics of the estuary water at punnaikayal. **The pharma Innovation Journal**. 8, 189-192, 2019.
- EUZÉBY, JP. Pseudomonadales, Pseudomonadaceae, Pseudomonas. In: Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire Online, 2006. Disponível em: <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/pp/pseudomonadales.html>.
- FDA – Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). In: Food and Drug Administration, Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. 2. Ed., 2012. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/CausesOfIllnessBadBugBook>.
- FINKELSTEIN, R, OREN, I. Infecções por Tecidos Moles Causadas por Patógenos Bacterianos Marinhos: Epidemiologia, Diagnóstico e Manejo. **Current Infectious Disease Reports**, 13, 470, 2011. doi: 10.1007/s11908-011-0199-3.
- FRIEDRICH, U, LANGENHOVE, HV, ALTENDORF K, LIPSKI, A. Microbial community and physicochemical analysis of an industrial waste gas biofilter and design of 16S rRNA-targeting oligonucleotide probes. **Environmental Microbiology**., 3, 183-201, 2003. doi: 10.1046/j.1462-2920.2003.00397.x.
- FU, Y, TANG, C, LI, J, ZHAO, Y, ZHONG, W, ZENG, X. Sources and transport of organic carbon from the Dongjiang River to the Humen outlet of the Pearl River, southern China. **Journal of Geographical Sciences**, 1, 143–158, 2014. doi: 10.1007/s11442-014-1078-2
- GOMES, TAT, ELIAS, WP, SCALETSKY, ICA, GUTH, BEC, RODRIGUES, JF, PIAZZA, RMF, FERREIRA, LCS, MARTINEZ, MB. Diarrheagenic *Escherichia*

*coli*. **Brazilian Journal of Microbiology**, 47, 3–30, 2016.

GRANUM, PE., O'SULLIVAN, K, TOMÁS, JM, ØRMEN, Ø. Possible virulence factors of *Aeromonas spp.* from food and water. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, 21, 131-137, 1998 doi: 10.1111/j.1574-695X.1998.tb01158.x.

GRIMES, DJ, ATWELL, RW, BRAYTON, PR, PALMER, LM, ROLLINS, DM, ROSZAK, DB, SINGLETON, FL, TAMPLIN, ML, COLWELL RR. The fate of enteric pathogenic bacteria in estuarine and marine environments. **Ciências microbiológicas**, 3, 324-329, 1986.

HASSARD, F, GWYTHYR, CL, FARKAS, K, ANDREWS, A, JONES, V, COX, B, BRETT, H, JONES, DL, MCDONALD, JE, MALHAM, SK. Abundance and Distribution of Enteric Bacteria and Viruses in Coastal and Estuarine Sediments - a Review. **Frontiers in microbiology**, 7, 1692, 2016. doi: 10.3389/fmicb.2016.01692.

HLADY, WG, KLONTZ, KC. The Epidemiology of *Vibrio* Infections in Florida, 1981–1993. **The Journal of Infectious Diseases**, 173, 1176–1183, 1996. doi: doi.org/10.1093/infdis/173.5.1176.

HOLLIS, DG, WEAVER, RE, BAKER, CN. Halophilic *Vibrio* species isolated from blood cultures. **Journal of Clinical Microbiology**, 3, 425–431, 1976.

HUGGETT, MJ, CROCETTI, GR, KJELLEBERG, S, STEINBERG, PD. Recruitment of the sea urchin *Haliocidaris erythrogramma* and the distribution and abundance of inducing bacteria in the field. **Aquatic Microbial Ecology**, 53, 161-171, 2008. doi: 10.3354/ame01239.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas. Panorama cidades, 2020. Disponível em:

<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ce/camocim/panorama>.

ICMBio – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. **Análise da Região Unidade de Conservação, Parque Nacional de Jericoacoara**, 2007. Disponível em: <https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/imgs-unidades-coservacao/Analise%20da%20Regiao.pdf>.

ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods (Org.). **Microorganisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities**. Gaithersburg: Springer US, 2000. doi: 10.1007/0-387-28801-5.

JACOBY GA. AmpC beta-lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, 22, 161–182, 2009. doi:10.1128/CMR.00036-08.

JANNASCH, HW. Competitive elimination of Enterobacteriaceae from seawater. **Applied Microbiology**, 16, 1616-1618, 1968.

KAPER, JB, NATARO, JP, MOBLEY, HL. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, 2, 123–40, 2004.

KEMPF, VA, TREBESIU, K, AUTENRIETH, I.B. Fluorescent In situ hybridization allows rapid identification of microorganisms in blood cultures. **Journal of Clinical Microbiology**. 38, 830-838, 2000.

KIM, C, WILKINS, K, BOWERS, M, WYNN, C, NDEGWA, E. Influence of pH and temperature on growth characteristics of leading foodborne pathogens in a laboratory medium and select food beverages. **Austin Food Sciences**, 3, 1031, 2018.

KUMAR, V, SUN, P, VAMATHEVAN, J, LI, Y, INGRAHAM, K, PALMER, L, HUANG, J, BROWN, JR. Comparative genomics of *Klebsiella pneumoniae* strains with different antibiotic resistance profiles.

**Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 55, 4267-4276, 2011. doi: 10.1128 / AAC.00052-11.

KYSELKOVÁ, M, KOPECKÝ, J, FRAPOLLI, M, DÉFATO, G, SÁGOVÁ-MAREČKOVÁ, M, GRUNDMANN, GL, MOËNNE-LOCCOZ, Y. Comparação da composição da comunidade rizobacteriana no solo supressor ou propício à doença da podridão negra do tabaco. **The ISME Journal**, 3, 1127-1138, 2009. doi: 10.1038/ismej.2009.61.

LAIBU, PK, MAINGI J, KEBIRA, A. Determination of bacterial composition, heavy metal pollution and physicochemical parameters of fish pond water in Abothuguchi Central, Meru County, Kenya. **Bioteknologi**, 15, 66-79, 2018. doi: 10.13057/biotek/c150203.

LEVIN, L, BOESCH, D, COVICH, A, DAHM, C, ERSÉUS, C, EWEL, KC, KNEIB, RT, MOLDENKE, A, PALMER, MA, SNELGROVE, P, STRAYER, D, WESLAWSKI, JM. The Function of Marine Critical Transition Zones and the Importance of Sediment Biodiversity. **Ecosystems**, 4, 430–451, 2001. doi: 10.1007/s10021-001-0021-4.

LOY, A, MAIXNER, F, WAGNER, M, HORN, M. ProbeBase - an online resource for rRNA-targeted oligonucleotide probes: New features. **Nucleic Acids Research**, 35, D800–D804, 2007. doi: 10.1093/nar/gkl856.

MARAMRAJ, K, SUBBALAKSHMI, G, ALI, M, DIKID, T, YADAV, R, SODHA, S, JAIN, S, SINGH, S. A community-wide acute diarrheal disease outbreak associated with drinking contaminated water from shallow bore-wells in a tribal village, India, 2017. **BMC Public Health**, 20, 231, 2020. doi: 10.1186/s12889-020-8263-2

MEDEIROS, JD, ARAÚJO, LX, SILVA, VL, DINIZ, CG, CESAR, DE, DEL'DUCA, A,

COELHO, CM. Characterization of the microbial community in a lotic environment to assess the effect of pollution on nitrifying and potentially pathogenic bacteria. **Brazilian Journal of Biology**, 74, 612-622. doi: 10.1590/1519-6984.26712.

MEDEIROS, JD, CANTÃO, ME, CESAR, DE, NICOLÁS, MF, DINIZ, CG, SILVA, VL, VASCONCELOS, ATR, COELHO, CM. Comparative metagenome of a stream impacted by the urbanization phenomenon. **Brazilian Journal of Biology**, 47, 835-845. doi: 10.1016/j.bjm.2016.06.011

MOREIRA, VC, FREIRE, D. *Klebsiella pneumoniae* e sua resistência a antibióticos, 2014. Disponível em: <http://www.cpgls.ucg.br/6mostra/artigos/SAUDE/VANESSA%20CARVALHO%20MOREIRA.pdf>.

NAT - Núcleo de apoio técnico. **Relatório técnico de vistoria**, 2014. Disponível em: <http://tmp.mpce.mp.br/orgaos/CAOMACE/cordenadorias/material.apoio/rel.vistoria.municipios/Relatorio.de.Vistoria235.2014-Saneamento.Ambiental.de.Camocim.pdf>.

NEEF, A, AMANN, R, SCHLEIFER, KH. Detection of microbial cells in aerosols using nucleic acid probes. **Systematic and Applied Microbiology**, 18, 113–122, 1995. doi:10.1016/S0723-2020(11)80458-3.

NIKIFOROV, I, GOLDMAN, J, CHERIYATH, P, VYAS, A, NOOKALA, V. *Aeromonas hydrophila* Sepsis Associated with Consumption of Raw Oysters. **Case Reports in Infectious Diseases**, 163040, 2014. doi: 10.1155/2014/163040.

ODONKOR, S, AMPOFO, J. *Escherichia coli* as an indicator of bacteriological quality of water: an overview. **Microbiology Research**, 4, e2, 2013.

OHTOMO, R, SAITO, M. Increase in the culturable cell number of *Escherichia coli*



- during recovery from saline stress: possible implication for resuscitation from the VBNC state. **Microbial Ecology**, 42, 208–214, 2001.
- PATERSON, DL, BONOMO, RA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. **Clinical Microbiology Reviews**, 18, 657-686, 2005.
- PATRONE, V, CAMPANA, R, VALLORANI, L, DOMINICI, S, FEDERICI, S, CASADEI, L, GIOCCINI, A, STOCCHI, V, BAFFONE, W. CadF expression in *Campylobacter jejuni* strains incubated under low-temperature water microcosm conditions which induce the viable but non-culturable (VBNC) state. **Antonie Van Leeuwenhoek**, 103, 979–988, 2013.
- PAUL, MJ., MEYER, JL. Streams in the urban landscape. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 32, 333-365, 2001. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114040.
- PEEL, MC, FINLAYSON, BL, MCMAHON, TA. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences**, 11, 1633–1644, 2007.
- PITOUT, JDD, LAUPLAND, KB. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. **The Lancet Infectious Diseases**, 8, 159-166, 2008.
- PORMOHAMMAD, A, NASIRI, MJ, AZIMI, T. Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains simultaneously isolated from humans, animals, food, and the environment: a systematic review and meta-analysis. **Infection and Drug Resistance**, 12, 1181-1197, 2019.
- RAHIM, S, WIDAYATI, W, ANALUDDIN, K, SALEH, F, ALFIRMAN, SS. Spatial Distribution of Marine Debris Pollution in Mangrove-Estuarines Ecosystem of Kendari Bay. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, 412, 012006, 2020. doi:10.1088/1755-1315/412/1/012006.
- ROMPRÉ, A, SERVAIS, P, BAUDART, J, DE-ROUBIN, MR, LAURENT, P. Detection and Enumeration of Coliforms in Drinking Water: Current Methods and Emerging Approaches. **Journal of Microbiological Methods**, 49, 31-54, 2002. doi: 10.1016/S0167-7012(01)00351-7.
- SEMADS - Secretaria De Estado De Meio Ambiente e Desenvolvido Sustentável (Org.). *Manguezais Educar para Proteger*. Brasil-Alemanha: Ailton Santos, 1.ed. 2001.
- SILVA, N, JUNQUEIRA, V, SILVEIRA, NFA, TANIWAKI, MH, SANTOS, RFS, GOMES, RAR. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. São Paulo: Varela, 4.ed., 2010.
- SILVEIRA, DR, MILAN, C, ROSA, JV, TIMM, CD. Fatores de patogenicidade de *Vibrio* spp. de importância em doenças transmitidas por alimentos. **Arquivos do Instituto Biológico**, 83, 1-7, 2016. doi: 10.1590/1808-1657001252013.
- SNIS - Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento, 2020. Disponível em: [http://appsnis.mdr.gov.br/indicadores/web/agua\\_esgoto/mapa-esgoto](http://appsnis.mdr.gov.br/indicadores/web/agua_esgoto/mapa-esgoto).
- TALLON, P, MAGAJNA, B, LOFRANCO, C, LEUNG, K. Microbial Indicators of Faecal Contamination in Water: A Current Perspective. **Water, Air, & Soil Pollution**, 166, 139–166, 2005. doi: 10.1007/s11270-005-7905-4.
- TORRES, A. *Escherichia coli* diseases in Latin America-a 'One Health' multidisciplinary approach. **Pathogens and Disease**, 75, ftx012, 2017. doi: 10.1093/femspd/ftx012
- TREBESIOUS, K, LEITRITZ, L, ADLER, K, SCHUBERT, S, AUTENRIETH, IB,

HEESEMANN, J. Culture independent and rapid identification of bacterial pathogens in necrotising fasciitis and streptococcal toxic shock syndrome by fluorescence in situ hybridisation. **Medical Microbiology and Immunology**, 188, 169-175, 2000. doi:10.1007/s004300000035.

KRICKOV, IV, LIM, AG, MANASYPOV, RM, LOIKO, SV, VOROBYEV, SN, SHEVCHENKO, VP, DARA, O. M, GORDEEV, VV, POKROVSKY, OS. Major and trace elements in suspended matter of western Siberian rivers: first assessment across permafrost zones and landscape parameters of watersheds. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, 269, 429-450, 2020.

XU, HS, ROBERTS, N, SINGLETON, FL, ATTWELL, RW, GRIMES, DJ, COLWELL, RR. Survival and viability of nonculturable *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* in the estuarine and marine environment. **Microbial Ecology**, 8, 313–323, 1982.

YAMAHARA, KM, LAYTON, BA, SANTORO, AE, BOEHM, AB. Beach sands along the California Coast are diffuse sources of fecal Bacteria to Coastal Waters. **Environmental Science and Technology**, 41, 4515–4521, 2007. doi: 10.1021/es062822n.

YARON, S, MATTHEWS, K. A reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay for detection of viable *Escherichia coli* O157:H7: investigation of specific target genes. **Journal of Applied Microbiology**, 92, 633–640, 2002.

YOKOKAWA, T, NAGATA, T. Growth and grazing mortality rates of phylogenetic groups of bacterioplankton in coastal marine environments. **Applied and Environmental Microbiology**, 71, 6799–6807, 2005. doi: 10.1128/AEM.71.11.6799-6807.2005.

ZHANG, S, YE C., LIN, H, LV, L, YU, X. Response to comment on “UV disinfection induces a VBNC state in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*”. **Environmental Science and Technology**, 49, 10752–10753, 2015.

ZHAO, Z, ZHANG, K, WU, N, LI, W, XU, W, ZHANG, Y, NIU, Z. Estuarine sediments are key hotspots of intracellular and extracellular antibiotic resistance genes: A high-throughput analysis in Haihe Estuary in China. **Environment International**, 135, 105385, 2020. doi: 10.1016/j.envint.2019.105385.

**Submissão: 11/06/2020**

**Aceito: 11/11/2020.**

**Publicado: 07/03/2021.**