



# Análise Microbiológica de Água de Córrego em Áreas de Contato com Agrotóxicos: Identificação e Atividade Bacteriana Frente a Antibióticos

Karen Corbellini <sup>1</sup>  
Amanda Luisa Ströher <sup>2</sup>  
Mônica Jachetti Maciel <sup>3</sup>

## RESUMO

A contaminação dos recursos hídricos é preocupante. A água consumida pelo ser humano deve ser potável, a quantidade de microrganismos e agentes químicos controlada. Porém, há um problema quando há desenvolvimento de resistência ao tratamento com antibacterianos. O uso de agrotóxicos pode provocar alterações no crescimento microbiano quando em contato com a água. Com base nisso, este estudo objetivou avaliar a presença de coliformes totais, termotolerantes, *Escherichia coli* e bactérias heterotróficas em águas de córregos, e avaliar se *E. coli* adquire maior resistência à antibióticos após a exposição a agrotóxicos. Após as análises microbiológicas foram encontradas elevadas concentrações de coliformes totais e coliformes termotolerantes e bactérias heterotróficas em todos os pontos dos córregos. Bactérias *E. coli* apresentaram resistência somente a ampicilina, resultado repetido após a exposição ao glifosato, concluindo que, nas condições desse trabalho, o uso do agrotóxico não altera a sensibilidade de *E. coli* perante antimicrobianos.

**Palavras-Chave:** Microrganismos; Recursos Hídricos; Resistência Bacteriana; Glifosato.

<sup>1</sup> Graduação em Biomedicina pela Universidade do Vale do Taquari, UNIVATES, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-6426-0448>. [kcorbellini@universo.univates.br](mailto:kcorbellini@universo.univates.br)

<sup>2</sup> Graduação em andamento em Biomedicina pela Universidade do Vale do Taquari, UNIVATES, Brasil. <https://orcid.org/0000-0003-4279-8279>. [amanda.stroher@universo.univates.br](mailto:amanda.stroher@universo.univates.br)

<sup>3</sup> Doutorado em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Brasil. Docente na Universidade do Vale do Taquari, UNIVATES, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-6863-2181>. [monicajm@univates.br](mailto:monicajm@univates.br)

**A** água tem grande importância na vida do ser humano, e é, sem dúvida, essencial para a sobrevivência de todos os indivíduos, podendo ser utilizada tanto para consumo e produção de materiais, quanto no cultivo de práticas agrícolas. Ao longo dos anos, a água tem sido utilizada de forma irresponsável e inadequada. A poluição que chega aos corpos hídricos torna esse bem impróprio para o consumo, e o crescimento demográfico e econômico torna sua demanda ainda maior (Gene Nunes Barros and Amin 2008).

Em condições ideais para consumo, a água deve ser incolor, insípida e inodora, estando assim apta para a ingestão humana e atividades relacionadas. Além disso, deve ter a presença de microrganismos controlada, a fim de evitar doenças quando consumida (Brasil 2011). Muitas vezes existe o contato direto das águas de rios e córregos, que podem conter altas quantidades de microrganismos, que podem ser patogênicos ou não. O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) possui uma resolução que apresenta níveis aceitáveis desses microrganismos em diferentes classes de água, e sua classificação ocorre de acordo com a utilização desses recursos. Os córregos deste estudo são classificados como de água doce, de classe três (03), sendo destinado para a dessedentação de animais e irrigação de plantações (Brasil 2005).

Uma vez que as doenças causadas por esses microrganismos patogênicos atingem o homem, pode ocorrer a chamada resistência antimicrobiana, que é o resultado da capacidade que alguns organismos possuem de se multiplicar mesmo em condições extremas de sobrevivência, ocasionadas pela aplicação de antimicrobianos (Wannmacher 2004). As bactérias, por exemplo, por possuírem um tempo de vida muito curto, podem se adaptar rapidamente as novas condições ambientais e desenvolver muito mais rápido a resistência antimicrobiana. O mau uso de antibióticos pode aumentar as chances de desencadear essa resistência, a qual se torna um risco à vida humana, podendo levar o hospedeiro a óbito. A administração inconsciente de antibióticos é preocupante, tendo em vista a grande importância do controle do uso dos mesmos (Santos 2004; Tavares 2009; Wannmacher 2004).

Com a má utilização e as inúmeras formas de poluição em que o ser humano afeta os recursos hídricos, agrava-se ainda mais a potabilidade das águas, atingindo não somente o ser humano, mas também toda a microbiota daquela água e região (Victorino 2007; ONU 2015). A recuperação dos corpos hídricos é muito dificultada quando ocorre contaminação por agentes químicos, a utilização de agrotóxicos na agricultura é um dos principais motivos de contaminação aquática na área rural (Ferreira et al. 2016). Esses químicos foram criados com a pretensão de diminuir o trabalho braçal na remoção de ervas daninhas afim de aumentar a produtividade na agricultura (D'amato, Torres, and Malm 2002). O uso de técnicas que visam o aumento da produtividade nas lavouras tem sido cada vez mais danosa

ao meio ambiente. Porém, o uso excessivo e de forma incorreta dos agrotóxicos, por exemplo, vem trazendo vários pontos negativos para o meio ambiente (Troian and Eichler 2009).

A produção do tabaco é uma cultura que exige grande utilização de agrotóxicos, sendo que durante todo o período de produção, desde a germinação das sementes até o momento da colheita, são utilizados diferentes produtos químicos, como fertilizantes ou agrotóxicos, usados para promover a qualidade do produto ou diminuir o serviço de mão-de-obra (Troian and Eichler 2009; ULT 2015). Quando depositados no solo esses contaminantes são levados pela água da chuva até os corpos d'água próximos às lavouras de cultivo (Almeida et al. 2006). Uma vez em contato com a água, o agrotóxico, como produto químico muito contaminante e com alta toxicidade, age na microbiota do corpo d'água podendo provocar alterações no crescimento dos microrganismos ali presentes (Amarante Júnior et al. 2002; Forlani et al. 2008; APM 2016).

Diante dessas situações se faz importante o estudo das condições antimicrobianas adquiridas pelas bactérias existentes nesses locais, considerando que estes indivíduos podem desenvolver resistência cruzada quando colocadas em contato com os agrotóxicos e aditivos químicos, uma vez que, se tornando mais resistentes elas podem aumentar o grau de patogenicidade, sendo mais maléficas ao ser humano.

Com base nesses dados, o presente estudo teve como objetivos avaliar a presença de coliformes totais, termotolerantes, *Escherichia coli* e bactérias heterotróficas em águas de córregos, além de avaliar se as bactérias *E. coli* isoladas da água dos córregos irão adquirir maior resistência frente aos antibióticos, após a exposição junto aos agrotóxicos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram realizadas duas coletas de águas entre os meses de agosto e setembro de 2017, ambas às 07 horas da manhã, sendo a temperatura ambiental do local registrada. As amostras foram coletadas nos três principais córregos de um município do interior do Rio Grande do Sul/ RS. Os pontos de coleta foram em dois locais do percurso do córrego com proximidade às lavouras de fumo, sendo o primeiro a 100 metros antes da lavoura e o segundo a 100 metros após a lavoura de fumo. As coletas foram feitas em água superficial, no canal principal. As amostras de água foram coletadas e armazenadas em frascos de vidro de 200 ml esterilizados e transportadas até o laboratório de microbiologia em caixa de isopor com gelo para manter a temperatura ideal (APHA 2012). Todas as análises microbiológicas da água (contagem de heterotróficos, coliformes totais, coliformes

termotolerantes e *E. coli*) foram realizadas dentro das 24 horas entre a coleta e o recebimento das amostras no laboratório.

Para o isolamento e contagem de bactérias heterotróficas foi utilizada a técnica de Contagem Padrão em Placas, por plaqueamento, por *Pour Plate*, inicialmente ambas as amostras de água foram diluídas em 09 ml de solução salina peptonada 01%, fazendo-se diluição seriada de  $10^0$  a  $10^{-4}$ . Após foi adicionado 01 ml da amostra de cada diluição em uma placa de Petri vazia e esterilizada, em seguida foi vertido o meio de cultura PCA (*Plate Count Agar*). Todas as placas foram incubadas invertidas a  $36 \pm 1$  °C, durante 48 horas. Por fim, foi feita a contagem de colônias crescidas nas placas e os resultados expressos em UFC/ml, para isso utilizou-se placas que apresentavam um intervalo de precisão de 30 a 300 colônias (APHA 2012).

Para os microrganismos do grupo coliformes foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP) descrita na Instrução Normativa (IN) nº 62/2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Brasil 2003) e no Manual Prático de Análise de Água da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) ((Brasil 2013). Para a realização da prova presuntiva foi executada a inoculação de 10 ml das amostras de água em 05 tubos contendo caldo Lauril Sulfato de Sódio em concentração dupla. Em seguida, foi adicionado 01 ml da amostra em outros 05 tubos contendo caldo Lauril Sulfato de Sódio em concentração simples. Para finalizar, foi realizada uma diluição ( $10^{-1}$ ) e logo adicionou-se 01 ml em outra série de 05 tubos caldo Lauril Sulfato de Sódio, em concentração simples, totalizando 03 séries de 05 tubos com diferentes concentrações de amostras. Todos os tubos foram incubados a  $36 \pm 1$  °C por 48h (Brasil (Brasil 2003, 2013). Os resultados de NMP foram expressos a partir do *Standard Methods* (APHA 2012). Na prova confirmativa (coliformes totais) foi realizado o repique das amostras nos tubos que apresentaram reação positivas no teste presuntivo, esse foi indicado através da formação de gás nos tubos de Duran, para tubos contendo caldo Verde Brilhante Bile 2% Lactose e incubados a  $36 \pm 1$  °C por 48 horas (Brasil 2003, 2013).

Para detecção de coliformes termotolerantes foram repicados os tubos que apresentaram formação de gás no teste do Verde Brilhante Bile 02% Lactose para o caldo *Escherichia coli* (EC), que permaneceu em banho-maria por 48 horas, na temperatura de  $45 \pm 0,2$  °C (Brasil 2003, 2013). Para a diferenciação de *E. coli* foi adotado o procedimento com utilização de substrato fluorogênico. A inoculação foi feita a partir de placas contendo ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) que foram incubado a  $35 \pm 0,5$  °C por 24 horas (APHA 2012). Cada placa que apresentou coloração de brilho verde metálico ou negras foi repicada para caldo EC Mug, onde permaneceram por 24 h a  $44,5 \pm 0,5$

°C e visualizou-se quanto à formação de fluorescência sob lâmpada UV, para este método foram utilizados controles negativo e positivo (APHA 2012).

O preparo do inóculo para o Teste de Sensibilidade Antimicrobiana (TSA) foi feito a partir de *E. coli* previamente isoladas em ágar EMB, que foram repicadas separadamente em ágar TSA e incubadas a  $37\text{ °C} \pm 0,5$  por 24 horas. Posteriormente, as colônias isoladas foram colocadas em 05 ml de solução salina, o inóculo foi padronizado de acordo com a solução padrão Mc Farland de 0,5, resultando em uma suspensão contendo aproximadamente de  $01$  a  $02 \times 10^8$  UFC/ ml (CLSI 2003; Laborclin 2013). Posteriormente, com o auxílio de um *swab* estéril foi realizada a semeadura em placa com meio ágar *Mueller Hinton*. Os discos de antibióticos foram utilizados a temperatura ambiente e, para a colocação dos discos, foi utilizada uma pinça esterilizada. A incubação foi realizada em estufa a  $36 \pm 1$  °C por 24 horas. Para confirmação da sensibilidade foi realizado o teste com uma cepa de *E. coli* ATCC 25.922 (CLSI 2003; Laborclin 2013). Para a realização da leitura das placas, foi utilizada uma régua que definiu o halo de inibição (mm) dos discos. A interpretação foi determinada conforme tabelas padronizadas, a interpretação variou de Sensível (S), Intermediário- (I) ou Resistente (R) (Laborclin 2013). Para a realização dos testes foram utilizados os antibióticos ampicilina 10 µg, cefotaxima 30 µg, aztreonam 30 µg, cloranfenicol 30µg, gentamicina 10 µg, tobramicina10µg, ceftazidima 30 µg, ceftriaxona 30 µg. Estes foram escolhidos com base no Manual de Antibiograma elaborado pela Laborclin em 2013.

Para avaliar a atividade dos agrotóxicos na sensibilidade desses microrganismos, após o isolamento de *E. coli*, as amostras foram colocadas em contato com o agrotóxico *RoundupTransobr*®, cujo princípio, de acordo com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), é identificado como Glifosato (Brasil 2005, 2016). Para este teste foi utilizado um método adaptado com base na Norma Européia EN 1040: 2005, mantida pelo Comitê Europeu de Normalização, para avaliação de atividade bactericida de desinfetantes (British Standard 2006). A adaptação do método iniciou com cada amostra de *E. coli* sendo padronizada em solução salina e ajustada de acordo com a solução padrão Mc Farland de 0,5. Foi misturado 01 ml da cultura padronizada e 09 ml do agrotóxico diluído e esterilizado por membrana filtrante. As concentrações do Glifosato foram de 280 µg/L, 140 µg/L, 65 µg/L e 32,5 µg/L, o tempo de contato foi de 24 horas. Para inibição do agente químico (agrotóxico) foi utilizado como neutralizador o Carvão Ativado diluído em concentração de 30 mg/ml e Bicarbonato de Sódio em concentração de 10 mg/ml. O tempo de neutralização foi de 05 minutos e, em seguida foi retirada uma alíquota de 0,1 ml e adicionada a superfície do ágar TSA sendo realizado o espalhamento do inóculo com auxílio de alça de Drigalski estéreis e incubadas a  $36 \pm 1$  °C/24 h (British

Standard 2006). Após o crescimento dos microrganismos na metodologia descrita acima, foi realizado novamente o Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (Laborclin 2013).

Para a avaliação microbiológica da água, os resultados foram comparados com a Resolução nº 357/2005, do CONAMA. Os dados do trabalho foram tabulados em planilhas Microsoft Excel® e analisados por meio de estatística descritiva.

**Tabela 01.** Resultados da técnica de Pour Plate para identificação de bactérias heterotróficas referente a primeira (1ª C) e a segunda (2ª C) coleta nos meses de agosto e setembro respectivamente.

		Microrganismos Heterotróficos	
		1ª C* (UFC/mL)	2ª C* (UFC/mL)
Córrego 1	P1	3,1 X 10 <sup>3</sup>	8,0X 10 <sup>4</sup>
	P2	2,7 X 10 <sup>3</sup> est.	7,1 X 10 <sup>4</sup>
Córrego 2	P1	2,0 X 10 <sup>3</sup> est.	3,3 X 10 <sup>3</sup>
	P2	1,5X 10 <sup>3</sup> est.	4,2 X 10 <sup>4</sup>
Córrego 3	P1	2,0 X 10 <sup>3</sup> est.	1,0 X 10 <sup>5</sup>
	P2	5,5 X 10 <sup>2</sup>	9,2 X 10 <sup>4</sup>

C\*- Coleta; P1-Ponto 1; P2-Ponto 2

Fonte: Autoes.

Na Tabela 02 pode ser observado que as bactérias apresentam uma oscilação nos resultados, tanto entre córregos quanto em pontos de coleta. O córrego 02 foi o que apresentou maior quantidade de coliformes totais, além disso, observa-se maior incidência na segunda coleta, isso pode ocorrer em função da temperatura ambiente estar mais elevada. Alves et al. (2012), por meio de seus estudos, também correlaciona a temperatura com a incidência de coliformes totais idealizando que há maior prevalência em períodos de temperaturas mais elevadas, afirmando também que a qualidade da água pode estar relacionada com a ação antrópica em maiores escalas e a fatores naturais em menores escalas. Além disso, observa-se que no ponto 01 do córrego 02 a quantidade de coliformes totais excede a quantidade máxima permitida pela Resolução nº 357/2005 do CONAMA, para águas de classe 03, que nestes locais são águas destinadas para a dessedentação de animais e irrigação de plantações (Brasil 2005). Em outros estudos, como o de Martins, Costa, and Marques (2010), que realizaram análises em águas do Arroio Olarias, em Ponta Grossa, no Paraná, para monitorar a qualidade da água em diferentes pontos do corpo d'água, constatou-se uma quantidade muito elevada de coliformes, tanto que após evidenciar que os resultados ultrapassaram o valor 1600 NMP/100 ml em todos os pontos de coleta, os autores optaram pela não continuidade das análises microbiológicas do estudo. É possível observar que a presença de coliformes termotolerantes (Tabela 02) no córrego 02 é menor que nos outros dois córregos.

Karen Corbellini; Amanda Luisa Ströher; Mônica Jachetti Maciel

**Tabela 02.** Resultados do teste do Número Mais Provável (NMP) para coliformes totais (NMP/100mL), coliformes termotolerantes (NMP/100mL) e *E. coli* (NMP/100mL) em águas de córregos referentes a primeira e a segunda coleta, nos meses de agosto e setembro respectivamente.

		Coliformes Totais (NMP/100 mL)		Termotolerantes (NMP/100 mL)		<i>E. coli</i> (NMP/100 mL)	
		1ª C*	2ª C*	1ª C*	2ª C*	1ª C*	2ª C*
Córrego 1	P1	280	47	47	39	12	7,1
	P2	220	280	24	21	6,8	4,2
Córrego 2	P1	140	1600	32	39	7	6
	P2	140	220	70	32	8,7	6,6
Córrego 3	P1	47	280	33	21	6,7	4
	P2	140	220	140	140	11	8,4
<b>Padrões</b>		<b>≤1000 NMP/100 mL</b>		<b>≤1000 NMP/100 mL</b>		<b>≤1000 NMP/100 mL</b>	

C\*- Coleta; P1-Ponto 1; P2-Ponto 2

Fonte: Autores.

Quanto aos resultados para *E. coli* (Tabela 02), observa-se que os córregos 01 e 03 apresentaram valores semelhantes quanto à presença de *E. coli*, todavia, existe oscilação nos resultados entre pontos e entre períodos de coleta. Conforme a resolução nº 357/2005, do CONAMA (Brasil 2005), o número máximo permitido de *E. coli* pode ser determinado em substituição ao parâmetro de coliformes termotolerantes, ou seja, não excedendo 1000 coliformes por 100 mililitros ( $1 \times 10^3$  UFC/100 ml), pode-se observar que os resultados exibidos na Tabela 02 para *E. coli* estão dentro dos padrões da resolução (Brasil 2005). Outro estudo em córregos também apontou valores elevados de *E. coli*, como a pesquisa de Grieco et al. (2017). Esse estudo realizou análises microbiológicas no córrego do Tanquinho, em Ribeirão Preto, localizado em área altamente urbana e industrializada, e evidenciou que até mesmo em pontos mais protegidos como na nascente, a quantidade de *E. coli* estava muito elevada, caracterizando a presença de microrganismos patogênicos que podem causar doenças se transmitidos por meio da água. Além disso, o mesmo autor relata que a contaminação fecal é causada por animais silvestres que vivem às margens do córrego.

**Tabela 03.** Perfis de suscetibilidade a antimicrobianos das cepas de *E. coli* isoladas de amostras de águas de córregos referentes a primeira e a segunda coleta dos meses de agosto e setembro.

Antimicrobiano	Sensível		Intermediário		Resistente	
	1ªC* n (%)	2ªC* n (%)	1ªC* n (%)	2ª C* n (%)	1ª C* n (%)	2ªC* n (%)
Ampicilina 10 µg	21 (47)	15 (41)	19 (42)	19 (51)	5 (11)	3 (8)
Aztreonam 30 µg	45 (100)	37 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Cefotaxima 30 µg	45 (100)	37 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Ceftazidima 30 µg	45 (100)	37 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Ceftriaxona 30 µg	45 (100)	37 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Cloranfenicol 30µg	45 (100)	37 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Gentamicina 10 µg	45 (100)	37 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Tobramicinan10µg	45 (100)	37 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

C\*- Coleta

Fonte: Autores.

Observa-se na Tabela 03 que *E. coli* isoladas das duas coletas apresentaram resistência somente à ampicilina 10 µg. Quanto aos outros antibióticos, as bactérias foram sensíveis nas duas coletas realizadas. O que possivelmente explica esse resultado são os mecanismos que as bactérias possuem de mutação por transferência cromossômica que as tornam resistentes à antibióticos como a ampicilina 10µg utilizada nesse estudo (Mosquito et al. 2011).

**Tabela 04.** Resultados dos microrganismos que apresentaram crescimento referente ao teste piloto adaptado da EN1040: 2005, para avaliar a ação do glifosato quando em contato com as bactérias.

	Bicarbonato de Sódio				Carvão Ativado			
	Concentração de glifosato (µg/L)				Concentração de glifosato (µg/L)			
Mos R.	280	140	65	32,5	280	140	65	32,5
<i>E. coli</i> 1	NC	NC	C	C	NC	NC	NC	NC
<i>E. coli</i> 2	NC	NC	C	C	NC	NC	NC	NC
<i>E. coli</i> 3	NC	NC	C	C	NC	NC	NC	NC
<i>E. coli</i> 4	NC	NC	C	C	NC	NC	NC	NC
<i>E. coli</i> 5	NC	NC	C	C	NC	NC	NC	NC
<i>E. coli</i> 6	NC	NC	C	C	NC	NC	NC	NC
<i>E. coli</i> 7	NC	NC	C	C	NC	NC	NC	NC
ATCC 25922	NC	NC	C	C	NC	NC	NC	NC

**Mos R.-** Microrganismos que apresentaram resistência a algum antibiótico no Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (TSA); NC: Não houve crescimento microbiano; C: Houve crescimento microbiano.

Fonte: Autoes.

Na Tabela 04 observa-se que não ocorreu crescimento nas concentrações mais altas de glifosato, sendo que a Resolução nº 357/2005 do CONAMA estabelece que a quantidade deste composto em águas doces de classe 03 não deve ultrapassar 280 µg/L, porém para águas de classe 01, a quantidade de 65 µg/L de glifosato na água não deve ser excedida, para tanto, nessa concentração e em concentração diluída pela metade observa-se que houve crescimento de microrganismos (Brasil 2005). Staub et al. (2012) relataram que bactérias *E. coli* apresentam genes resistentes ao glifosato que as tornam capazes de sobreviver quando expostas ao agente, explicando que este gene altera códigos de transporte da membrana responsáveis pela entrada e saída de drogas, impedindo que o glifosato entre de forma efetiva e se acumule nas células bacterianas. Além da influência da concentração, observa-se também (Tabela 04) que os neutralizadores utilizados demonstraram diferentes ações na remoção dos agentes tóxicos do glifosato. Quando utilizado o carvão ativado constata-se que não houve crescimento de *E. coli*. O carvão ativado é indicado para remoção das toxinas do glifosato (Monsanto- Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos, s/d), por conter porosidades por onde as toxinas são absorvidas. Porém, em um estudo realizado por Moser, Pereima, and Pereima (2013) o carvão ativado possui capacidade de absorver bactérias até mesmo no tratamento de úlceras infecciosas, indicando que além de absorver as toxinas do glifosato o carvão ativado também absorveu as bactérias



presentes na amostra. Observa-se (Tabela 04) que no uso do bicarbonato de sódio como neutralizador houve crescimento de *E. coli* em concentração menor ou igual a 65 µg/L, indicando que as bactérias sobrevivem somente em concentrações menores que 140µg/L. Um estudo realizado por Yang et al. (2017), que comparou a eficiência do uso de produtos comerciais e feitos em casa na remoção de resíduos de pesticidas da maçã, mostrou que o bicarbonato de sódio ajuda a retirar até 96% de herbicidas da superfície de maçãs. Após a exposição por 24horas aos pesticidas, a solução aquosa de bicarbonato de sódio foi capaz de removê-los da superfície das maçãs em um tempo de 12 a 15 minutos de exposição.

Os resultados do Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (TSA), feito após a exposição ao glifosato frente a *E. coli* que apresentaram resistência no primeiro antibiograma realizado, mostrou que das sete cepas isoladas que apresentaram resistência no primeiro teste, todas mantiveram a taxa de sensibilidade, demonstrando resistência somente à ampicilina 10 µg (Tabela 03).

## CONCLUSÕES

Por meio das análises realizadas, foi possível detectar que em todos os pontos de coleta dos córregos há contaminação de coliformes totais e termotolerantes. A contaminação por *E. coli* evidencia que os animais silvestres e domésticos da região, que recorrem aos corpos d'água para dessedentação, são potenciais agentes de contaminação dos córregos com material fecal. Evidenciou-se também que os córregos apresentam grande contaminação por bactérias heterotróficas, que possuem em seu grupo diversos microrganismos patogênicos que podem causar doenças quando em contato com o ser humano ou outros animais.

O contato com glifosato provoca inibição do crescimento de *E. coli* em concentrações maiores ou iguais a 140 µg/L. Em concentrações menores o glifosato não provoca nenhuma alteração na resistência antimicrobiana, devido à possível presença de genes de resistência que impedem a entrada e acúmulo de glifosato nas células bacterianas. Consta-se que o carvão ativado absorveu *E. coli* evitando o crescimento quando repicadas para o meio TSA. Já o bicarbonato de sódio apresentou grande eficiência como neutralizador das toxinas de glifosato.

## REFERÊNCIAS

- Almeida, S.D.B., E.A.D. Costa, M.A.F. Gomes, L.C. Luchini, C. Spadotto, and M.B. Matallo. 2006. "Sorção de Triazinas Em Solos Tropicais. I. Pré Seleção Para Recomendação de Uso Na Região de Ubatuba, São Paulo, Brasil." In *IV Congresso Iberoamericano de Física Y Química Ambiental, MEDIO AMBIENTE EN IBEROAMERICA - Visión Desde La Física y La Química En Los Albores Del Siglo XXI*, 17–22.

- Alves, Igor Charles Castor, Maâmar El-Robrini, Maria de Lourdes Souza Santos, Sury de Moura Monteiro, Leandro Patrick Ferreira Barbosa, and José Tasso Felix Guimarães. 2012. “Qualidade Das Águas Superficiais e Avaliação Do Estado Trófico Do Rio Arari (Ilha de Marajó, Norte Do Brasil).” *Acta Amazonica* 42 (1): 115–24.
- Amarante Júnior, Ozelito Possidônio de, Teresa Cristina Rodrigues dos Santos, Natilene Mesquita Brito, and Maria Lúcia Ribeiro. 2002. “Métodos de Extração e Determinação Do Herbicida Glifosato: Breve Revisão.” *Quim. Nova* 25 (3): 420–28.
- APHA, American Public Health Association. 2012. *Standard Methods For The Examination of Water and Wastewater*. <https://www.e-wef.org/Default.aspx?TabID=251&productId=58296758>.
- APM, Atrazine Pathway Map. 2016. “Atrazine Degradation Pathway.” Atrazine Pathway Map. 2016. [http://eawag-bbd.ethz.ch/atr/atr\\_map.html](http://eawag-bbd.ethz.ch/atr/atr_map.html).
- Brasil. 2003. “Instrução Normativa SDA N° 62 de 26 de Agosto de 2003.” *Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)*. <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=75773>.
- . 2005. “Resolução (RDC) N° 357, de 18 de Março de 2005.” <http://www2.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>.
- . 2013. “Manual Prático de Análise de Água.”
- . 2016. “Consulta de Produtos Formulados.” Ministério Da Agricultura Pecuária e Abastecimento. 2016.
- Brasil, Ministério da Saúde. 2011. “Portaria N° 2.914, de 12 de Dezembro de 2011.” *Ministério Da Saúde*. [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0005\\_03\\_10\\_2017.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0005_03_10_2017.html).
- British Standard. 2006. “Chemical Disinfectants and Antiseptics-Quantitative Suspension Test for the Evaluation of Bactericidal Activity of Chemical Disinfectants and Antiseptics Used in Food, Industrial, Domestic and Institutional Areas-Test Method and Requirements.” <http://www.kebs.org>.
- CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. 2003. “Padronização Dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos Por Disco-Difusão.” [www.clsi.org](http://www.clsi.org).
- D’amato, Claudio, João P M Torres, and Olaf Malm. 2002. “DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano): Toxicidade e Contaminação Ambiental – Uma Revisão.” *Quim. Nova* 25 (6): 995–1002.
- Ferreira, Marcelo José Monteiro, Mário Martins Viana Júnior, Andrezza Graziella Veríssimo Pontes, Raquel Maria Rigotto, and Diego Gadelha. 2016. “Gestão e Uso Dos Recursos Hídricos e a Expansão Do Agronegócio: Água Para Quê e Para Quem?” *Ciência & Saúde Coletiva* 21 (3): 743–52. <https://doi.org/10.1590/1413-81232015213.21012015>.
- Forlani, G., M. Pavan, M. Gramek, P. Kafarski, and J. Lipok. 2008. “Biochemical Bases for a Widespread Tolerance of Cyanobacteria to the Phosphonate Herbicide Glyphosate.” *Plant and Cell Physiology* 49 (3): 443–56. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcn021>.
- Gene Nunes Barros, Fernanda, and Mário M Amin. 2008. “Água: Um Bem Econômico de Valor Para

o Brasil e o Mundo.” *Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional* 4 (1): 75–108.

Grieco, Andre Abreu, Brisa Maria Fregonesi, Karina Aparecida de Abreu Tonani Tonani, Thaís Vilela Silva, Beatriz Smidt Celere, Tânia Maria Beltramini Trevilato, Susana Inés Segura-Muñoz, and Renato Igor da Silva Alves. 2017. “Diagnóstico Espacial e Temporal de Condições Físico-Químicas e Microbiológicas Do Córrego Do Tanquinho, Ribeirão Preto, SP, Brasil.” *An Interdisciplinary Journal of Applied Science Rev. Ambient. Água* 12 (2). <https://doi.org/10.4136/1980-993X>.

Laborclin. 2013. “Manual Do Antibiograma.” [http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi\\_OPASM2-A8.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi_OPASM2-A8.pdf).

Martins, Alysso Stefan, Wilson Costa, and Mariza Boscacci Marques. 2010. “Qualidade Da Água Do Arroio Olarias e Seu Impacto Na Represa Projetada.” *Tecno-Lógica* 14 (2): 76–86. <https://online.unisc.br/seer/index.php/tecnologica/article/view/1349/1157>.

Moser, Heloisa, Renato Rodrigues Pereima, and Maurício José Lopes Pereima. 2013. “Evolução Dos Curativos de Prata No Tratamento de Queimaduras de Espessura Parcial.” *Revista Brasileira de Queimaduras* 12 (2). <http://www.rbqueimaduras.com.br/details/147/pt-BR/evolucao-dos-curativos-de-prata-no-tratamento-de-queimaduras-de-espessura-parcial>.

Mosquito, Susan, Susan R Mosquito, Joaquim Ruiz, José Luis Bauer, and Theresa J. Ochoa. 2011. “Mecanismos Moleculares de Resistencia Antibiótica En Escherichia Coli Asociadas a Diarrea.” *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 28 (4): 648–56.

ONU, Organização das Nações Unidas. 2015. “Relatório Mundial Das Nações Unidas Sobre Desenvolvimento Dos Recursos Hídricos: Água Para Um Mundo Sustentável.” 2015. [https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000367276\\_por?posInSet=2&queryId=fa5e9bfb-2f91-44ad-8dab-065598a7cadf](https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000367276_por?posInSet=2&queryId=fa5e9bfb-2f91-44ad-8dab-065598a7cadf).

Santos, Neusa de Queiroz. 2004. “A Resistência Bacteriana No Contexto Da Infecção Hospitalar.” *Texto Contexto Enferm* 13: 64–70.

Staub, Jevrey M., Leslie Brand, Minhtien Tran, Yifei Kong, and Stephen G. Rogers. 2012. “Bacterial Glyphosate Resistance Conferred by Overexpression of an E. Coli Membrane EZux Transporter.” *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 39 (4): 641–47. <https://doi.org/10.1007/s10295-011-1057-x>.

Tavares, Walter. 2009. *Antibióticos e Quimioterápicos Para o Clínico*. <https://www.saraiva.com.br/antibioticos-e-quimioterapicos-para-o-clinico-acompanha-tabela-de-consulta-7580379/p>.

Troian, Alessandra, and Marcelo Leandro Eichler. 2009. “‘Somente Os Mais Fracos Ficam Doentes’: A Utilização de Agrotóxicos Por Agricultores de Tabaco Da Comunidade Cândido Brum, Em Arvorezinha (RS).” *Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional* 5 (3): 116–39.

ULT, Universal Leaf Tabacos. 2015. “Manual de Produção de Mudanças.”

Victorino, Célia Jurema Aito. 2007. *Planeta Água Morrendo de Sede: Uma Visão Analítica Na Metodologia Do Uso e Abuso Dos Recursos Hídricos*.

Wannmacher, Lenita. 2004. "Uso Indiscriminado de Antibióticos e Resistência Microbiana: Uma Guerra Perdida?" *Brasília*, 2004.

Yang, Tianxi, Jeffery Doherty, Bin Zhao, Amanda J. Kinchla, John M. Clark, and Lili He. 2017. "Effectiveness of Commercial and Homemade Washing Agents in Removing Pesticide Residues on and in Apples." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 65 (44): 9744–52. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03118>.

## Microbiological Analysis of Stream Water in Contact Areas with Agrochemicals: Identification and Bacterial Activity Against Antibiotics

### ABSTRACT

Contamination of water resources is worrisome. The water consumed by humans must be potable, and the amount of microorganisms and chemical agents controlled. However, there is a problem when is development of resistance to antibacterial treatment. The use of agrochemicals can cause changes in microbial growth when in contact with water. Based on this, this study evaluated the presence of total coliforms, thermotolerant, *Escherichia coli* and heterotrophic bacteria in the water streams, and evaluate if *E. coli* acquires greater resistance to antibiotics after exposure to pesticides. After microbiological testing, it was found elevated concentrations of total coliform, fecal coliform and heterotrophic bacteria were found at all points of the streams. *E. coli* bacteria showed only ampicillin resistance, a result repeated after exposure to glyphosate, concluding that in the conditions of this work, the use of pesticides does not alter the sensitivity of *E. coli* to antimicrobials.

**Keywords:** Microorganisms; Water Resources; Bacterial Resistance; Glyphosate.

Submissão: 09/04/2018

Aceite: 12/02/2019