

# **COLIMETRIA DAS ÁGUAS MARINHAS DE FORTALEZA (CEARÁ, BRASIL) E DETECÇÃO DE CEPAS DE *Escherichia coli* ENTEROINVASORA (EIEC) E ENTEROPATOGÊNICA CLÁSSICA (EPEC)**

Colimetry of marine waters off Fortaleza (Ceará State, Brazil) and detection of strains of *Escherichia coli*, a well-known enteroinvader (EIEC) and enteropathogenic (EPEC)

Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira<sup>1</sup>, Norma Suely de Santana Evangelista<sup>2</sup>,  
Dália dos Prazeres Rodrigues<sup>3</sup>

## **RESUMO**

A análise bacteriológica das águas de algumas praias de Fortaleza foi realizada no período 3 de maio-22 de outubro de 1995, com a finalidade de se avaliar seu grau de contaminação por *Escherichia coli*, com base em 10 amostras por praia. O método utilizado consistiu de testes de colimetria e posterior análise de patogenicidade das cepas isoladas. Os resultados principais são os seguintes: (a) a praia do Mucuripe apresentou o maior índice de contaminação, com 50% das amostras mostrando um NMP de coliformes fecais superior a 2.400/100 ml; (b) as praias Formosa e Meireles apresentaram um menor índice de contaminação, com 10% das amostras alcançando esse valor máximo; (c) foram identificadas *Escherichia coli* em 70% das amostras de água coletadas nas praias Formosa, Meireles e Mucuripe, e 60% das amostras coletadas na praia dos Diários; (d) além de *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter aerogenes* e *Citrobacter* foram isoladas das amostras das quatro praias; (e) dentre 78 cepas de *Escherichia coli* isoladas das praias, quatro foram caracterizadas como enteropatogênicas clássicas (EPEC); (f) as cepas *Escherichia coli*-EPEC isoladas das praias Meireles, Formosa e Diários pertenciam aos sorogrupos 026, 0127, 055 e 0125; (g) as quatro cepas de *Escherichia coli*-EPEC mostraram resistência a antibióticos das famílias das Cefalosporinas e das Penicilinas.

**Palavra-chaves:** poluição microbiológica, praias de Fortaleza, *Escherichia coli* EPEC, antibióticos

## **ABSTRACT**

The bacteriological analysis of the water in a few beaches of Fortaleza was performed from May 3 to October 22, 1995 in order to assess its degree of contamination by *Escherichia coli*, based on 10 samples per beach. The following results emerged from this study: (a) Mucuripe beach was the most contaminated with 50% of the water samples showing over 2,400/100 ml of MPN fecal coliforms; (b) on a secondary position come Formosa and Meireles beaches, with 10% of samples showing that maximum value; (c) *Escherichia coli* strains were identified in 70% of the samples collected on Formosa, Meireles and Mucuripe beaches, and in 60% of the samples collected on Diários beach; (d) in addition to *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter aerogenes* and *Citrobacter* were isolated from water samples taken on the four above-mentioned beaches; (e) among 78 *E. coli* strains isolated from the water, four were characterized as classic enteropathogenic; (f) the *Escherichia coli* EPEC isolated from Meireles, Formosa and Diários beaches belonged to 026, 0127, 055 and 0125 serogroups; (g) the four *Escherichia coli*-EPEC strains proved resistant to Cephalosporin and Penicillin antibiotics families.

**Key words:** Microbial pollution, Fortaleza beaches, *Escherichia coli* EPEC, antibiotics

(<sup>1</sup>) Professor Adjunto do Departamento de Engenharia de Pesca e Pesquisador no Laboratório de Ciências do Mar-UFC.

(<sup>2</sup>) Bolsista de Iniciação Científica (CNPq) do Laboratório de Ciências do Mar-UFC.

(<sup>3</sup>) Pesquisadora-doutora do Departamento de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz-FIOCRUZ, Rio de Janeiro.

## INTRODUÇÃO

O tratamento e o destino final das águas servidas deveriam ser um ponto prioritário nos programas de Saúde Pública de uma cidade. Quando essa está ligada por redes de esgoto e o receptor desses excretas joga seus resíduos no oceano, como é o caso de Fortaleza, torna-se necessário realizar um monitoramento das condições físicas e microbiológicas do sistema. O monitoramento microbiológico das águas advindas do corpo receptor deve ser feito escolhendo-se alguns grupos bacterianos que indiquem, quantitativa e qualitativamente, a eficiência do tratamento nos emissários submarinos. O indicador microbiológico de poluição fecal mais empregado é o grupo coliforme, que abrange um número de espécies de enterobactérias incluídas nos gêneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter* e *Enterobacter* (Jay, 1992). Dentre esses, a espécie *Escherichia coli* é a única, dentre os coliformes, considerada de origem unicamente fecal. Segundo Hagler & Hagler (1988) existem várias críticas e desvantagens sobre a utilização de coliformes como indicadores de contaminação fecal, principalmente pelo fato de sua pouca tolerância à toxicidade da água do mar. Em virtude disto, essa característica faz com que sua detecção, nessa classe de água, implique na constatação de um aporte contínuo de dejetos. O objetivo dessa pesquisa é quantificar os coliformes fecais e isolar cepas de *Escherichia coli* na tentativa de classificá-las antigenicamente no grupo das patogências intestinais, tendo em vista que essa bactéria, além de ser um indicador de poluição orgânica, também é uma causa comum, em nosso meio, de processos entéricos em crianças e adultos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 10 amostras de água provenientes de 4 praias de Fortaleza (Formosa, Diários, Meireles e Mucuripe) - ver Figura 1, perfazendo um total de 40 amostras. Estas eram trazidas ao laboratório em vidros âmbar, estéreis, em quantidades de  $\pm 500$ ml,

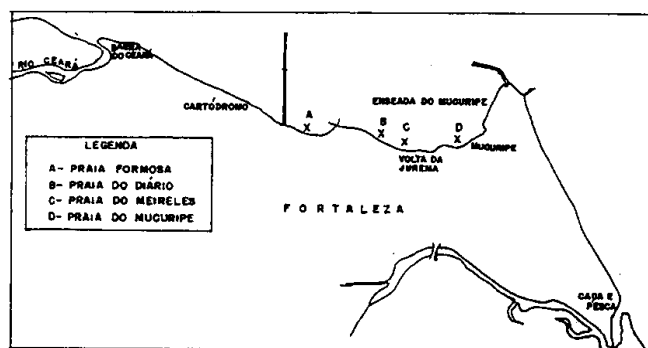


Figura 1 - Pontos de coleta nas praias da zona costeira de Fortaleza.

onde eram imediatamente processadas. Procedeu-se à colimetria das águas seguindo-se a técnica dos tubos múltiplos, de acordo com Mehlman *et al.* (1984). O cálculo do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e fecais das amostras estudadas foi feito consultando-se a tabela de Hoskins (1933). As cepas foram identificadas bioquimicamente de acordo com ICMSF (1978) e aquelas classificadas como *Escherichia coli* foram isoladas em Ágar Tripton Soja-Difco (TSA) inclinado, e enviadas ao Departamento de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz-FIOCRUZ, Rio de Janeiro, para, através da análise antigênica, identificar as cepas Enteropatogênicas (EPEC) e/ou Enteroinvasivas (EIEC).

As cepas sorotipadas foram então testadas em relação às suas sensibilidades a antimicrobianos através do kit "sensibiodisc"- CECON, de acordo com o método de difusão em discos (Bauer *et al.*, 1966), em meio de Mueller-Hinton.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as praias estudadas, a do Mucuripe, em frente à estátua de Iracema, foi a que apresentou maior quantidade de amostras (50%) com um NMP de coliforme fecal superior a 2.400/100 ml, seguida das praias Formosa e Meireles (10%); a praia dos Diários não apresentou nenhuma amostra com esses valores máximos (tabela I).

Verifica-se na Tabela II que, independentemente dos valores altos ou baixos apresentados na colimetria dessas praias, foi possível se isolar em todas as amostras cepas de *Escherichia coli* I. Esse resultado levanta a suspeita de que o Emissário Oceânico não está cumprindo seu papel de único receptor dos esgotos da cidade, função essa dividida entre inúmeros riachos que desembocam na costa de Fortaleza aliado aos sistemas individuais clandestinos, provenientes dos restaurantes instalados na Av. Beira Mar e que, possivelmente, seriam os responsáveis por tal contaminação.

Por outro lado, fica confirmado que o perfil microbiológico de nossas praias não tem mudado ao longo de 24 anos, uma vez que Caland-Noronha & Moraes (1972) haviam observado, já naquela época, que o maior índice de poluição nas praias de Fortaleza se distribuía desde à barra do Rio Ceará até o Porto do Mucuripe, com contagens que chegavam a 2.400 coliformes totais/100 ml de água.

De mais grave foi o fato da identificação de 4 cepas de *Escherichia coli* EPEC, dentre as 78 cepas isoladas das águas estudadas, embora nenhuma delas tenha sido enquadrada como EIEC. Ainda que se admita que a *Escherichia coli* (EPEC) seja patogênica apenas para crianças com até dois anos de idade, alguns autores sugerem que elas podem causar dis-

Tabela I - Número Mais Provável (NMP) de coliformes total e fecal/100ml em amostras de água coletadas nas praias Formosa, Diários, Meireles e Mucuripe, no município de Fortaleza.

Amostra	NMP/100 ml de coliforme total				NMP/100 ml de coliforme fecal			
	Formosa	Diários	Meireles	Mucuripe	Formosa	Diários	Meireles	Mucuripe
1°	1.100,0	240,0	240,0	>2400,0	1.100,0	240,0	240,0	>2400,0
2°	9,1	23,0	23,0	>2400,0	9,1	9,0	9,1	>2400,0
3°	3,6	43,0	0,0	93,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4°	240,0	23,0	240,0	>2400,0	43,0	23,0	93,0	>2400,0
5°	240,0	240,0	240,0	460,0	93,0	21,0	93,0	93,0
6°	460,0	09,0	93,0	460,0	460,0	09,0	23,0	43,0
7°	460,0	460,0	240,0	>2400,0	460,0	460,0	93,0	>2400,0
8°	9,1	0,0	3,6	93,0	0,0	0,0	3,6	23,0
9°	>2.400	1.100,0	23,0	1.100,0	>2.400,0	1.100,0	23,0	1.100,0
10°	>2.400,0	460,0	>2.400,0	>2.400,0	460,0	150,0	1.100,0	>2400,0

Tabela II - Distribuição e caracterização fenotípicas dos coliformes total e fecal isolados da água coletada nas praias Formosa, Diários, Meireles e Mucuripe, no município de Fortaleza.

Amostra	Formosa	Diários	Meireles	Mucuripe
1°	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
2°	<i>E.coli</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Citrobacter sp Enterobacter aerogenes</i>	<i>E.coli</i>
3°	-	-	-	-
4°	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>
5°	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>
6°	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>
7°	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>
8°	-	-	<i>E.coli</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
9°	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>
10°	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>

túrbios gastrointestinais também em indivíduos adultos (Petri *et al.*,1989). Segundo Jakabi & Franco (1991) a *Escherichia coli* está entre os principais agentes enteropatogênicos, principalmente nos países da América Latina e África, representados pelos seguintes sorogrupos de EPEC: O18, O26, O44, O55, O86, O111, O112, O114, O119, O125, O126, O127, O128ab e O142. Dentre os sorogrupos de *Escherichia coli* EPEC isolados nas nossas amostras figuram O125( praia dos Diários), O55(praia Formosa), e O26 e O127 (isolados da praia do Meireles).

Saridakis (1994) investigou a produção de toxinas Shiga-Like (SLTs) em 41 amostras de *Escherichia coli* O26, pertencentes a diferentes sorotipos isolados de humanos, bezerras e produtos cárneos, através de ensaios em culturas de células HeLa e Vero, e hibridização de colônias com sondas para SLT I e SLT II, não encontrando nenhuma positividade. Os resultados, segundo o autor, sugerem que SLTs não é característica freqüente dentre amostras brasileiras deste soro-

grupo, o que não podemos afirmar em nossos achados visto que tais testes não foram realizados na presente pesquisa. Andrade & Santa Rosa(1986), comparando *Escherichia coli*-EPEC proveniente de surtos epidêmicos e amostras de *Escherichia coli* não-EPEC associadas a infecções intestinais e extratestinais, verificaram que a "aderência localizada"(AL) ocorre apenas com as cepas EPEC. Considerando que a espécie *Escherichia coli* é pouco tolerante à toxidez da água do mar (Hagler & Hagler,1988), sua detecção nessas águas significa uma descarga constante de fezes, o que poderia indicar a contaminação do ambiente por outras bactérias patogênicas, também de origem fecal, como é o caso das *Salmonella*, *Shigella* e o *Vibrio cholerae*, dentre outras. Segundo esses mesmos autores, a ocorrência *Escherichia coli* em ambientes aquáticos é preocupante porque essas bactérias podem conter plasmídios de resistência a antibióticos, transferíveis para espécies patogênicas, tornando-as resistentes.

De uma maneira geral as cepas apresentaram pouca resistência aos antibióticos empregados, exce-

ção observada a algumas drogas pertencentes às Cefalosporinas e ao grupo das Penicilinas (tabela III). A esses antibióticos as cepas de *Escherichia coli*-EPEC sorogrupos O26, O55, e O127 mostraram-se resistentes, enquanto a cepa *Escherichia coli*- EPEC O125 foi sensível. Mandell *et al.* (1992) citaram, numa tabela envolvendo microrganismos Gram positivos e negativos, a *Escherichia coli* como moderadamente sensível(++) a Carbenicilina, fato este que corrobora os resultados acima mencionados.

Tabela III - Susceptibilidades a antibacterianos nas cepas de *E. coli*, O26, O55, O125 e O127 isoladas da água coletada nas praias Formosa, Diários, Meireles e Mucuripe, no município de Fortaleza.

Antibacteriano	Sorogrupos			
	O26	O55	O125	O127
Amicacina	S	S	S	S
Ampicilina	S	R	S	S
Ac.pipemídico	R	S	S	R
Ac.nalidíxico	S	S	S	S
Cefazolina	S	S	S	R
Ceftriaxona	S	S	S	R
Clorafenicol	S	S	S	S
Cefoxitina	R	R	S	S
Cefotaxima	R	R	S	S
Cefalotina	S	R	R	S
Carbenicilina	R	R	S	R
Gentamicina	S	S	S	S
Kanamicina	S	S	S	S
Netilmicina	S	S	S	S
Nitrofurantoina	S	S	S	S
Norfloxacina	S	R	S	S
Sulfonamidas	S	S	S	S
Tobramina	S	S	S	S
Tetraciclina	S	S	S	S

Convenção: S = sensível; R = resistente

## CONCLUSÕES

1- A praia do Mucuripe foi a mais contaminada com coliformes totais e fecais, seguida das praias Formosa, Meireles e Diários.

2- A praia do Mucuripe apresentou NMPs de coliformes fecais superiores a 2.400/100 ml em 50% das amostras, enquanto que as praias Formosa e Meireles tiveram este índice em 10% das amostras estudadas. Na praia dos Diários todas as amostras apresentaram NMPs de coliformes fecais inferiores a 2.400/100 ml.

3- Foram identificadas cepas de *Escherichia coli* em todas as praias estudadas, sendo essa positividade apresentada em 70% das amostras coletadas nas praias Formosa, Meireles e Mucuripe, e em 60% das coletadas na praia dos Diários.

4- Além de *Escherichia coli*, foram isoladas nas águas das praias Formosa e Diários: *Klebsiella* e *Enterobacter aerogenes*; e das praias do Meireles e Mucuripe: *Citrobacter* e *Enterobacter aerogenes*.

5- Das 78 cepas de *Escherichia coli* isoladas das amostras das praias do Mucuripe, Formosa, Meireles e Diários, quatro foram caracterizadas como enteropatogênicas clássicas (EPEC).

6- As cepas de *Escherichia coli* EPEC isoladas das praias Meireles, Formosa e Diários pertenciam aos sorogrupos O26 e O127, e O55, O125, respectivamente.

7- As cepas de *Escherichia coli* EPEC mostraram sensibilidade a quase todos os antibióticos testados, com exceção daqueles pertencentes ao grupo das Cefalosporinas e Penicilinas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, J. R. C., Santa Rosa, M. R. Investigation on an adhesive property (localized adherence) characteristic of classic enteropathogenic serogroups of *Escherichia coli*. *Rev. Microb.*, São Paulo, v.17, n.2, p. 116-125, 1986.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M.; Sherris, J. C. & Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Amer. J. Clin. Path.*, v. 45, p. 493 - 496, 1996.
- Caland-Noronha, M. C. & Morais, J. O. Aspectos da poluição marinha em frente ao município de Fortaleza, *Arq. Ciên. Mar*, Fortaleza, v.2, n.12. p. 109-115, 1972.
- Hagler, A. N. & Hagler, L. C. S. M. Indicadores microbiológicos de qualidade sanitária, p. 88-96, in Roitman, I.; Travassos, L. R. & Azevedo, J. L. (eds.), *Tratado de Microbiologia*. Manole, São Paulo, 1988.
- Hoskins, J. K. The most probable numbers of *Escherichia coli* in water analysis. *J. Am. Water Works Ass.*, v. 25, n. 6, p. 867-877, 1933.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). *Microorganisms in foods. 1. Their significance and methods of enumerations*. Toronto University Press, 2nd ed., Toronto, 434 p., 1978.
- Jakabi, M. & Franco, B.D.G.M. Frequência de isolamento de cepas de *Escherichia coli* patogênicas em alimentos de origem animal. *Ciên. Tecnol. Alim.*, Campinas, v.11, n.1., p.170-181, 1991. Jay, J. M. *Indicators of food microbial quality and safety. Modern Food Microbiology*. Van Nostrand Reinhold. Parte VI. cap.17. 1992. p.416.
- Kano, E; Dias, A. M. G. & Valle, G. R. F. Sorotipos e Biotipos de *Escherichia coli*. *Rev. Microb.*, São Paulo, v. 22, n.3, p.156, 1991.

- Mandell, G. L.; Douglas J.R.; Gordon, R. & Bennett, J. E. Resumo de agentes microbianos por classe, in *Manual de tratamento antimicrobiano: Princípios e práticas de doenças infecciosas*. Artes médicas, Seção 1, Cap.1, p.4, 1992.
- Mehlman, I. J.; Andrews, W. H. & Wentz, B. A. Coliform bacteria, p. 5.01 - 5.07, in Jackson, G.J. (ed.), *Bacteriological analytical manual of the Division of Microbiology*. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, 1984.
- Petri, C.M; Antunes, L.A.F. & Saridakis, H.O. *Escherichia coli* em produtos cárneos comercializados em Londrina-PR. I- Frequência de *Escherichia coli* enteropatogênica clássica (EPEC). *Rev. Microb.*, São Paulo, v. 20, n. 4, p, 421-426, 1989.
- Saridakis, H. O. Non production of shiga-like toxins by *Escherichia coli* serogroup O26. *Rev. Microb.*, São Paulo, v.25, n.3,p. 154-155, 1994.