



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE



LUCIANO DE SOUZA RODRIGUES JÚNIOR

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA, SEDIMENTO E PEIXE DA
LAGUNA DA JANSEN, SÃO LUÍS-MA**

São Luís
2019

LUCIANO DE SOUZA RODRIGUES JÚNIOR

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA, SEDIMENTO E PEIXE DA
LAGUNA DA JANSEN, SÃO LUÍS-MA**

Dissertação de Mestrado submetida ao
Programa de Pós-Graduação em Saúde e
Ambiente da Universidade Federal do
Maranhão, como requisito para obtenção
do grau de Mestre em Saúde e Ambiente.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Adenilde
Nascimento Mouchrek

Área de Concentração: Qualidade
Ambiental e Saúde
Linha de pesquisa: Determinantes
Ambientais e Saúde

São Luís
2019

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Rodrigues Júnior, Luciano de Souza.

Qualidade microbiológica da água, sedimento e peixe da
Laguna da Jansen, São Luís-MA / Luciano de Souza Rodrigues
Júnior. - 2019.

68 f.

Orientador(a): Adenilde Nascimento Mouchreck.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Saúde e Ambiente/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
UFMA, 2019.

1. Águas ambientais. 2. Clostridium. 3.
Enterobactérias. 4. Pseudomonas. 5. Testes
Antimicrobianos por Disco-Difusão. I. Mouchreck, Adenilde
Nascimento. II. Título.

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA, SEDIMENTO E PEIXE DA
LAGUNA DA JANSEN, SÃO LUÍS-MA**

Dissertação de Mestrado submetida ao
Programa de Pós-Graduação em Saúde e
Ambiente da Universidade Federal do
Maranhão, como requisito para obtenção
do grau de Mestre em Saúde e Ambiente.

Data da apresentação: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA:

Prof^ª. Dra. Adenilde Nascimento Mouchrek
(PPGSA/UFMA– Orientadora)

Prof^º. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho
(PPGSA/UFMA– -Membro Interno)

Prof^ª. Dra. Ivone Garros Rosa
(PPGSA/UFMA– -Membro Interno)

Prof^ª. Dra. Josilene Lima Serra
(IFMA-Membro Externo)

São Luís, 20 de março de 2019.

*Dedico este trabalho a meus pais Luciano de Souza Rodrigues (in memorian) e Maria Odete Cunha Rodrigues, pela doação incansável a nossa família, um de seus maiores ensinamentos nesta vida, que nos faz agir de igual forma e nos une para sempre.
A Josiana Rodrigues, Larissa Rodrigues e Laura Rodrigues, pelas quais estou sempre me renovando.
A Deus, pelas infinitas glórias.*

AGRADECIMENTOS

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho, fica aqui expresso o meu sincero agradecimento, especialmente:

À Professora Doutora Adenilde Nascimento Moucherek, minha orientadora, por todo o acompanhamento que tive, que nunca se limitava a condição de dizer como algo deveria ser feito, mas que diariamente a conduzia a bancada do laboratório junto aos seus orientados. Também, pelo zelo com seu trabalho (sendo rotineiramente uma das últimas a deixar o expediente), com as pessoas com quem divide seu tempo, com todos os alunos a quem orienta não só como professora, mas como modelo de profissional, bem como por a todo instante deixar evidente a satisfação e o entusiasmo naquilo que está fazendo, registro aqui a satisfação de dizer que a Sra. é memorável.

A Universidade Federal do Maranhão, pelo suporte dado na qualidade de transporte quando da realização do piloto desta pesquisa no Estuário do Rio Bacanga, aqui representados pela Magnífica reitora Nair Portela Silva Coutinho e pelos servidores Evaldo e Davi.

Ao Instituto de Tecnologia, Ciências e Educação do Maranhão – IFMA, nas pessoas dos diretores gerais Professora Doutora Davina Camelo Chaves, Campus Zé Doca, pelo acolhimento inicial nesta instituição de ensino e Professor Mestre Valdir Damascena Araújo, não só pelo amparo institucional como, também, nas orientações profissionais repassadas.

A todos os professores da Pós-graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão UFMA, por seus valores repassados em que posso atestar a presença de todos na feitura deste trabalho, na pessoa da coordenadora Professora Doutora Denise Fernandes Coutinho Moraes.

Ao Professor Doutor Marco Valério Jansen Cutrim – Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Oceanografia (PPGOceano), pelo suporte a este trabalho, não só na cessão de equipamentos para coleta de parâmetros físico-químicos água e de material sedimentar na Laguna da Jansen, mas, sobretudo, por partilhar de seu tempo e conhecimentos, sempre com cordialidade, atenção e profissionalismo.

Aos professores Doutores Vitor Elias Moucherek Filho, Ivone Garros Rosa, e Josilene Lima Serra, pelo aceite em participar das bancas de avaliação deste trabalho, sempre colocando-se à disposição para melhoria do mesmo, no sentido de torná-lo uma comunicação técnico-científica viável.

Aos meus irmãos, pelo companheirismo, união e amor, aqui representados pela Professora Mestra Lucélia da Cunha Rodrigues Guimarães (irmã e servidora do IFMA),

a quem credito minha mudança profissional, passando de Médico Veterinário a Professor/Pesquisador e que tem me servido de exemplo profissional. Antes juntos pela fraternidade e agora, também pelos projetos de trabalho. Amo-te!

Aos amigos de trabalho, na pessoa da Professora Doutora Josilene Lima Serra, que bem representa os bons profissionais que temos no IFMA, daquele que é capaz de partilhar o conhecimento com todos indistintamente com muita humildade. “Amigo fiel é poderoso refúgio, quem o descobriu, descobriu um tesouro”. (ECLO, 6,17). Meu agradecimento por toda colaboração na execução deste trabalho.

Aos pesquisadores, bolsistas, colaboradores e servidores do Laboratório de Microbiologia e Físico-química de Alimentos da UFMA, Programa de Controle e Qualidade de Alimentos (PCQA), onde foram realizadas as análises microbiológicas deste estudo, aqui representados pela Doutoranda Amanda Mara Teles.

Aos pescadores que atuam na área da Laguna da Jansen, na pessoa do Sr. Claudecy Portela, pela experiência trocada e ajuda prestada durante a pesca e coleta de amostras realizadas neste estudo.

A Fundo de Amparo à Pesquisa do Estado do Maranhão – FAPEMA, pelo auxílio concedido para compra de materiais para o desenvolvimento desta pesquisa.

E a todos aqueles que, mesmo não nominalmente citados, contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

“Ainda que eu tenha o dom da profecia e saiba todos os mistérios e todo o conhecimento, e também tenha uma fé capaz de mover montanhas, mas se não tiver amor, nada seria” (I Cor 13:1-8,13).

RESUMO

A Laguna da Jansen é uma laguna costeira de localização tipicamente urbana, situada na ilha de São Luís – MA, considerada um dos principais pontos turísticos da cidade, muito utilizada para atividades pesqueiras pela população local. Este ambiente vem sendo impactado negativamente em função do crescimento urbano desordenado em seu entorno, bem como, por ser um corpo receptor de efluentes domésticos ao longo dos anos. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade microbiológica da água, pescado e sedimento da Laguna da Jansen, através da verificação da influência dos parâmetros físico-químicos da água sobre o crescimento das bactérias, identificação de bactérias indicadoras e perfil de multirresistência a antibióticos comerciais. Foram coletadas 25 amostras de água, 15 de sedimento e 10 de peixe totalizando 50 amostras. A metodologia utilizada para a realização das análises microbiológicas foi a preconizada pelo *Standart Methods for the Examination of Water and Waste Water* da *American Public Health Association* para determinação do número mais provável (NMP) de bactérias do grupo coliforme termotolerantes e *Pseudomonas*. A presença de *Clostridium perfringens* foi determinada pela técnica de inoculação em profundidade utilizando ágar seletivo e condições anaeróbicas. As identificações das cepas de bactérias isoladas foram realizadas através de testes bioquímicos. Os parâmetros físico-químicos da água foram registrados *in situ* utilizando equipamento multiparâmetro. A avaliação do perfil de sensibilidade das cepas isoladas, frente aos antimicrobianos comerciais foi realizada com base no protocolo estabelecido pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Com base nos resultados obtidos, a concentração de sólidos solúveis foi influenciada diretamente pela sazonalidade, especialmente na estação chuvosa, onde ocorreram registros dos maiores valores. Um perfil similar foi observado para população de coliformes termotolerantes que no período chuvoso apresentaram as maiores contagens na água, em contraste com sedimento, que apresentou maiores índices de contaminação no período de estiagem. Paralelamente foram isoladas 130 cepas de bactérias e identificadas 19 espécies de enterobactérias, com predomínio de *E. coli* nas amostras de água, sedimento e peixe. A maioria das enterobactérias apresentaram maior resistência a cefalotina (70%), seguido por tetraciclina (41%). Essas bactérias apresentaram maior sensibilidade ao cloranfenicol (91%). A presença de *C. perfringens* foi detectada apenas no período de estiagem na água e sedimento, não sendo detectada no peixe. Em relação a *Pseudomonas aeruginosa*, foram encontradas as maiores contagens no peixe em comparação a água e sedimento, sendo isoladas cepas sensíveis a gentamicina (92,5%) e resistentes ao sulfazotrim (25%). Com base nos dados obtidos, o período chuvoso apresentou os maiores índices de contaminação por bactérias potencialmente patogênicas e multirresistentes antibióticos comerciais, sendo, portanto, necessário um maior monitoramento da qualidade microbiológica dessas águas nesse período como ferramenta para subsidiar tomadas de decisões em gestão ambiental.

Palavras-chave: Testes Antimicrobianos por Disco-Difusão. Enterobactérias. *Pseudomonas*. *Clostridium*. Águas ambientais.

ABSTRACT

The Jansen Lagoon is a coastal lagoon with a typically urban location, situated on the island of São Luís - MA, considered one of the main tourist attractions in the city, much used for fishing activities by the local population. This environment has been impacted negatively due to the disorderly urban growth in its surroundings, as well as being a receiving body of domestic effluents over the years. Therefore, the objective of this study was to evaluate the microbiological quality of water, fish and sediment of the Jansen Lagoon, through the verification of the influence of the physical-chemical parameters of the water on the growth of bacteria, identification of indicator bacteria and multiresistance profile to commercial antibiotics. Were collected 25 samples of water, 15 of sediment and 10 of fish totalling 50 samples. The methodology used to perform the microbiological analyses was the one recommended by the Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water of the American Public Health Association to determine the most probable number (MPN) of thermotolerant coliform bacteria and *Pseudomonas aeruginosa*. The presence of *Clostridium perfringens* was determined by pour plate inoculation technique using selective agar and anaerobic conditions. Identifications of strains of bacteria isolated were performed through biochemical tests. The physical-chemical parameters of the water were recorded in situ using multi-parameter equipment. The sensitivity profile of strains isolated from commercial antimicrobials was evaluated based on the protocol established by the Clinical and Laboratory Standards Institute. Based on the results obtained, the concentration of soluble solids was directly influenced by the seasonality, especially in the rainy season, where records of the highest values. A similar profile was observed for the population of thermotolerant coliforms that in the rainy season presented the highest counts in the water, in contrast with the sediment, which presented higher indices of contamination in the dry period. In parallel, 130 bacterial strains were isolated and 19 enterobacterial species were identified, with predominance of *Escherichia coli* in water, sediment and fish samples. Most enterobacteria presented higher resistance to cephalothin (70%), followed by tetracycline (41%). These bacteria were more sensitive to chloramphenicol (91%). The presence of *C. perfringens* was only detected in the dry period in the water and sediment, not being detected in the fish. In relation to *Pseudomonas aeruginosa*, the highest fish counts were compared to water and sediment, being strains isolated, susceptible to gentamicin (92.5%) and resistant to sulfazotrim (25%). Based on the data obtained, the rainy season had the highest contamination rates by potentially pathogenic bacteria and was resistant to at least one type of antibiotic. Based on the data obtained, the rainy season presented the highest contamination rates by potentially pathogenic bacteria and multiresistant commercial antibiotics. Therefore, it is necessary to monitor the microbiological quality of these waters in this period as a tool to support decision making in environmental management.

Key-words: Diffusion Disk Antimicrobials Test. Enterobacteria. *Pseudomonas*. *Clostridium*. Natural Lagoon.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Vista panorâmica da Laguna da Jansen com escultura da “Serpente da Lagoa”.....	18
Figura 2. Mapas com a descrição geográfica dos pontos de coleta na Laguna da Jansen, São Luís, Maranhão.	30
Figura 3. Dados climatológicos de precipitação no município de São Luís-MA e temperatura da água da Laguna da Jansen.	52
Figura 4. Parâmetros físico-químicos avaliados na água da Laguna da Jansen durante o período de estiagem e chuvoso na campanha de 2018.	53
Figura 5. Comparação entre os valores médios de coliformes termotolerantes encontrados na água, sedimento e peixe da Laguna da Jansen nas campanhas de 2018.	38
Figura 6. Comparação entre os valores médios de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> encontrados na água, sedimento e peixe da Laguna da Jansen nas campanhas de 2018.	41
Figura 7. Comparação entre os valores médios de <i>C. perfringens</i> encontrados na água, sedimento e peixe da Laguna da Jansen nas campanhas de 2018.	44
Figura 8. Atividade antibacteriana de antibióticos comerciais frente a cepas de <i>P. aeruginosa</i> isoladas da Laguna da Jansen.	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Qualidade físico-química das águas ambientais brasileiras.	29
Tabela 2. Descrição das espécies de peixe coletadas na Laguna da Jansen nas campanhas de 2018.	31
Tabela 3. Parâmetros de halos de inibição esperados para enterobactérias e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34
Tabela 4. Quantificação coliformes termotolerantes na água, sedimento e peixe da Laguna da Jansen.	36
Tabela 5. Quantificação de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> na água, sedimento e peixe da Laguna da Jansen.	40
Tabela 6. Identificação de <i>C. perfringens</i> na água, sedimento e peixe da Laguna da Jansen.	43
Tabela 7. Espécies de enterobactérias identificadas na água da Laguna da Jansen.	45
Tabela 8. Atividade dos antibióticos frente as bactérias gram-negativas isoladas da Laguna da Jansen.	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APA - Área de Proteção Ambiental

APHA - American Public Health Association

BHI - Brain Heart Infusion

CLSI - National Committee for Clinical Laboratory Standards

CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente

DAEC - *E. coli* difusamente aderente

EAEC- *E. coli* enteroagregativa

EHEC - *E. coli* entero-hemorrágica

EIEC - *E. coli* enteroinvasiva

EMB - Ágar Eosina Azul de Metileno

EPEC- *E. coli* enteropatogênica

ETEC - *E. coli* enterotoxigênica

H₂S – Ácido sulfídrico

I - Intermediário

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IMVIC - Indol, caldo Vermelho de Metila e Citrato

N - Nitrogênio

NaCl - Cloreto de sódio

NH₃ - Amônia

NH₄⁺ - Íon amônio

NMP - Número Mais Provável

OMS - Organização Mundial de Saúde

P - Fósforo

pH- potencial hidrogeniônico

R - Resistente

S - Sensível

SISBIO - Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade

SPS - Ágar seletivo para *Clostridium perfringens*

STEC ou VTEC- *E. coli* produtora de toxina shiga ou verotoxigênica

TDS – Sólidos Solúveis Totais

TSA - Ágar Triptona de Soja

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1. Geral	17
2.2. Específicos	17
3. REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 Aspectos gerais da Laguna da Jansen	18
3.2 Indicadores de qualidade microbiológica em ecossistemas marinhos e costeiros	20
3.3 Resistência de bactérias a antimicrobianos comerciais	26
3.4 Qualidade físico-químicas da água e sedimentos de ecossistemas marinhos e costeiros	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 Coleta das amostras	30
4.2 Aspectos Éticos da pesquisa	31
4.3 Parâmetros físico-químicos da água	32
4.4 Análises Microbiológicas	32
4.4.1 Preparo das amostras	32
4.4.2 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes	32
4.4.3 Isolamento e identificação bioquímica de enterobactérias	32
4.4.4 Isolamento e identificação bioquímica de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33
4.4.5 Identificação de <i>Clostridium perfringens</i>	33
4.5 Testes de sensibilidade de bactérias a antibióticos comerciais	34
4.6 Análises estatísticas	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	36
5.1 Análises microbiológicas da água, peixe e sedimento da Laguna da Jansen	36
5.1.1 Quantificação de coliformes termotolerantes	36
5.1.2 Quantificação de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
5.1.3 Incidência de <i>Clostridium perfringens</i>	42
5.1.4 Identificação de enterobactérias	44
5.2 Susceptibilidade de bactérias Gram-negativas a antibióticos comerciais	46
5.3 Avaliação dos parâmetros físico-químicos da água da Laguna da Jansen	51
6. CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS	57
APÊNDICES	66

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a qualidade da água e do pescado em ecossistemas aquáticos vem sendo diretamente afetados pelo crescimento urbano desordenado no entorno destes ambientes, e consequentemente pela emissão de efluentes domésticos sem o devido tratamento. Grande parte da matéria orgânica que contribui para a formação das vazões esgotáveis, é composta por um número extenso de microrganismos oriundos, principalmente, do trato digestório do homem e de outros animais de sangue quente (GERMANO; GERMANO, 2013).

Segundo McLellan et. al (2015), o conhecimento sobre a população microbiana presente em águas de superfície de ecossistemas aquáticos localizados em regiões urbanas, como rios, lagos e estuários pode não só apontar os riscos à saúde que determinada população está exposta, como também fornecer informações importantes sobre o nível do impacto causado pela poluição e as possíveis alterações a longo prazo nestes ecossistemas.

A água pode ser veiculadora de um grande número de microrganismos patogênicos ao homem, a maior parte deles é um reflexo da poluição de ambientes aquáticos. A qualidade microbiológica de águas ambientais no Brasil é normalmente monitorada pelas concentrações de microrganismos indicadores, como coliformes termotolerantes, *Enterococcus* e *Escherichia coli* (BRASIL, 2005).

A *Escherichia coli* é um membro da família Enterobacteriaceae e um patógeno importante utilizado como indicador de contaminação fecal em águas ambientais (CONAMA, 2005). A versatilidade dessa espécie em termos metabólicos permite a sua adaptação e sobrevivência em ambientes adversos, como as águas salinas do Complexo Portuário de São Luís - MA (COSTA et al., 2014; ARAÚJO et al., 2017).

Outros estudos demonstram que esses microrganismos não são bons indicadores, devido ter seu metabolismo afetado por fatores climáticos e parâmetros físico-químicos do ambiente. Por isso, microrganismos alternativos têm sido utilizados para avaliar a qualidade microbiológica da água, entre eles destacam-se *Salmonella*, *Vibrio*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Aeromonas* (NASCIMENTO, 2004; BASSO, 2006; MARTINS, 2009; GONZALEZ et al., 2010).

Outra preocupação iminente é a resistência a antibióticos comerciais facilmente adquirida por esses microrganismos, devido ao contato com efluentes contendo resíduos de antimicrobianos, bem como, a transferência horizontal de genes entre bactérias. Devido a isso, destaca-se que a emissão de efluentes orgânicos em ambientes aquáticos pode contribuir tanto para o aumento de microrganismos patogênicos na água como para a resistência desses

patógenos a antimicrobianos comerciais (FARIAS, TRINDADE, ALCÂNTARA, 2010; VASCONCELLOS, IGANCI, RIBEIRO, 2006).

A resistência a antimicrobianos é um fator que ameaça o desenvolvimento sustentável de países em desenvolvimento. O uso de antibióticos na saúde humana e animal, na produção de alimentos como forma de controle microbiológico tem aumentado a resistência de microrganismos em diversos ecossistemas, incluindo águas ambientais (CARS; JASOVSKY, 2015).

A microbiota presente na Laguna da Jansen, após sua ocupação urbana ainda é pouco conhecida, sendo, portanto, necessária a realização de novos estudos com o intuito de conhecer e monitorar a concentração de microrganismos patogênicos, tais como, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens* e seus impactos nesse ambiente. Do ponto de vista da saúde pública, é importante também a determinação do perfil de resistência desses microrganismos a antimicrobianos comerciais a fim de contribuir para redução e controle desses patógenos.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar a qualidade microbiológica da água, peixe e sedimento da Laguna da Jansen, através da verificação da influência dos parâmetros físico-químicos da água sobre o crescimento das bactérias, identificação de bactérias indicadoras e perfil de multirresistência a antibióticos comerciais.

2.2. Específicos

2.2.1 Determinar o Número Mais Provável de Coliformes termotolerantes na água, peixe e sedimento da Laguna da Jansen;

2.2.2 Isolar e identificar bioquimicamente cepas de enterobactérias e *Pseudomonas sp.* na água, peixe e sedimento da Laguna da Jansen;

2.2.3 Verificar a incidência de *Clostridium perfringens* na água, peixe e sedimento da Laguna da Jansen;

2.2.4. Avaliar o perfil de multirresistência das cepas de bactérias identificadas a antibióticos comerciais;

2.2.5 Verificar parâmetros físico-químicos da água da Laguna da Jansen.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aspectos gerais da Laguna da Jansen

O Brasil possui uma grande faixa costeira, com uma área de aproximadamente 514.000 km², distribuídos ao longo de 17 estados, e concentra 13 das 27 capitais. As regiões metropolitanas concentram milhões de pessoas indicando um alto nível de pressão antrópica que esses ambientes estão submetidos (MMA, 2010). Neste contexto, destacam-se as lagunas costeiras como um ambiente bastante atrativo para a população em atividades de pesca e lazer. Lagunas costeiras são corpos d'água rasos encontrados no continente, paralelos a região costeira, separados pelo oceano por uma barreira física, conectadas ao oceano por um ou mais canais que se abrem intermitentemente (KJERFVE, 1994).

Esses ambientes são de grande importância ecológica e apresentam uma grande diversidade de fauna e flora. No entanto, o aumento acelerado de atividades industriais e a urbanização nestas regiões têm gerado uma rápida degradação desse ecossistema. De fato, mais de 40% da população mundial reside dentro de uma proximidade de 100 km de regiões costeiras, e estima-se ainda que pelo menos 60% dos ecossistemas marinhos estão degradados ou são utilizados de forma não sustentável (IOC/UNESCO, IMO, FAO, UNDP, 2011).

No estado do Maranhão, especificamente na ilha de São Luís, encontra-se a Laguna da Jansen, conhecida popularmente como Lagoa da Jansen, um dos pontos turísticos de referência da cidade, bastante utilizado pela população para atividades de subsistência, como a pesca (Figura 1).

Figura 1. Vista panorâmica da Laguna da Jansen com escultura da “Serpente da Lagoa”.



Fonte: Arquivo pessoal

A Laguna é um corpo d'água costeiro, de origem antrópica, sendo a região caracterizada por um clima úmido, apresentando uma estação chuvosa e outra seca, com duração de aproximadamente seis meses cada. Esse ecossistema foi originado pelo represamento dos igarapés Ana Jansen e Jaracati, devido a construção da avenida Coronel Colares Moreira (1969/70) e da Avenida Maestro João Nunes (1974) (GOMES; IBANEZ, 1994).

Em 1988, a Laguna foi denominada Parque Ecológico da Lagoa da Jansen pelo decreto-lei nº 4.878, visando a preservação das áreas de manguezais. Em 2012, foi reclassificada como Unidade de Conservação de Uso Sustentável do tipo Área de Proteção Ambiental (APA) da Lagoa da Jansen com base no decreto nº 28.690 (MARANHÃO, 1988; MARANHÃO, 2012).

As ações de urbanização desordenada das áreas de manguezais no bairro da Ilhinha e a construção dos conjuntos residenciais do Renascença são fatores que contribuíram para as modificações da paisagem desse ambiente e dos impactos ambientais por ele sofridos. O desmatamento das áreas de manguezais originou alterações nas características físicas, químicas e biológicas impactando no aumento do volume de escoamento superficial das águas, erosão e aumento da carga de poluentes (MASULLO et al., 2014).

Processos de eutrofização já foram registrados na Laguna da Jansen, os quais provocaram a mortandade de peixes. Em 1988, um estudo realizado por Lopes (1988) identificou um grande número de espécies de zooplânctons característicos de lagoas tropicais em estágio avançado de eutrofização, sendo provocado pela emissão de efluentes domésticos e redes de esgotos locais.

Cantanhede et al. (2014) detectaram altas concentrações de coliformes termotolerantes nas amostras de água coletadas na Laguna da Jansen e alterações histológicas nas brânquias da espécie de peixe *Centropomus undecimalis* indicando que este habitat recebe esgotos por via direta e indireta. Ainda, eles verificaram que esses animais desenvolveram essas alterações como forma de adaptação as condições de estresse ambiental.

A Área de Proteção Ambiental (APA) da Laguna da Jansen é uma área de grandes aglomerados urbanos que sofre os impactos negativos da urbanização desequilibrada, ao mesmo tempo em que figura como um dos principais pontos turísticos da cidade de São Luís/MA e representa fonte de obtenção de alimentos para a população local. O comportamento da microbiota local e de suas relações com fatores abióticos, ainda é pouco conhecido, porém necessário do ponto de vista da saúde pública com vistas a identificar e diminuir os riscos sanitários a que estão expostas as comunidades do entorno, tanto pelo contato primário com

água, como pelo consumo de pescado contaminado com bactérias patogênicas e que apresentem resistência a antibióticos comerciais, sendo o propósito deste trabalho.

3.2 Indicadores de qualidade microbiológica em ecossistemas marinhos e costeiros

Ecossistemas marinhos e costeiros são habitats naturais para vários microrganismos, incluindo bactérias, vírus, protozoários, cianobactérias, entre outros. Ecossistemas costeiros, como lagunas, ao sofrerem impactos ambientais gerados pela poluição expõem a população a patógenos microbianos, os quais incluem microrganismos autóctones e microrganismos externos. Esses patógenos são comumente encontrados na água, e podem também ser encontrados em associação com animais marinhos, sedimentos, detritos e vegetação (STEWART et al., 2008).

Indicadores microbiológicos têm sido utilizados mundialmente para verificar a contaminação de corpos d'água por resíduos humanos (VASCONCELOS e RIBEIRO, 2006). No Brasil, os parâmetros para a qualidade microbiológica de águas ambientais são estabelecidos pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente – CONAMA. Dentre os indicadores microbiológicos utilizados estão, os coliformes termotolerantes, *Enterococcus* e *Escherichia coli* (BRASIL, 2000). Esses microrganismos são considerados indicadores microbiológicos por apresentarem seu habitat natural no trato gastrointestinal do homem e animais de sangue quente. Deste modo, a presença desses microrganismos indica uma contaminação fecal de origem direta ou indireta (JAY, 2005).

Vários estudos documentaram altas concentrações de bactérias indicadoras em águas marinhas e costeiras do litoral brasileiro, bem como, a sua correlação com animais marinhos e sedimentos. A relação da contaminação da água e moluscos bivalves, como ostras, por coliformes termotolerantes comprovam a insalubridade de águas de um estuário em Cananéia-SP, principalmente em pontos próximos a zonas urbanas, em que ocorrem despejos de efluentes (DOI et al., 2015).

Moresco et al. (2012) também detectaram altas concentrações de coliformes termotolerantes em águas de praia do litoral de Santa Catarina em regiões exclusivas para recreação e áreas de cultivo de moluscos. Neste estudo, também foram detectados em mais de 50% das amostras a presença de adenovírus e hepatite A, que apesar de serem entéricos disseminados através de fezes de humanos infectados, não foram correlacionadas com a presença de *E. coli*.

Alguns estudos consideram que esses microrganismos não são bons indicadores de contaminação, por serem afetados pela sazonalidade, condições climáticas, salinidade, entre outros. Por isso, indicadores microbiológicos alternativos estão sendo utilizados para o monitoramento da qualidade da água, tais como, *Vibrio*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* e *Clostridium* sulfito redutor (STEWART et al., 2008; GONZALEZ et al., 2010).

As comunidades bacterianas de sedimentos são compostas principalmente por Proteobactérias que possuem um papel importante na prevenção da eutrofização em lagunas, estuários, e também atuam nos processos biogeoquímicos, na transformação dos nutrientes, através do ciclo do carbono e nitrogênio (BEHERA et al., 2017). Fatores naturais, como os tipos de marés, descarga fluvial, ventos, bem como, fatores antropogênicos influenciam na dinâmica sedimentar, interferindo tanto na colonização microbiana dos grãos de sedimento, quanto na ressuspensão dos mesmos, aumentando o número de bactérias na água (PINTO e OLIVEIRA, 2011).

De fato, estudos realizados em areias e águas de praias do litoral brasileiro indicam altos índices de contaminações por *Enterococcus*, demonstrando essa relação e transferência de patógenos de sedimentos para a água (MONTEIRO et al., 2015). Os índices de contaminações por *Enterococcus* em areias da praia no estudo de Pinto, Pereira e Oliveira et al. (2012) foi vinte vezes maior do que na água.

3.2.1 Bactérias pertencentes a família *Enterobacteriaceae*

A família Enterobacteriaceae compõe o subgrupo 1, do grupo 5 de bactérias classificadas pelo *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, que representa os bacilos gram-negativos anaeróbicos e facultativos. Esta família é composta por 30 gêneros de bactérias e mais de 115 espécies. Entre os gêneros encontram-se *Arsenophonus*, *Budvicia*, *Buttiauxella*, *Cedecea*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Ewingella*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Leclercia*, *Leminorella*, *Moelleralla*, *Morganella*, *Obesumbacterium*, *Pantoea*, *Pragia*, *Providencia*, *Rahnella*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Tatumella*, *Xenorhabdus*, *Yersinia* e *Yokenella* (BERGEY, 1994).

As características mais comuns deste grupo incluem o metabolismo fermentativo da glicose, om produção de ácido e gás, a conversão de nitrato a nitrito, bem como a produção de catalase. Essas bactérias são amplamente distribuídas na natureza e são encontradas no solo, plantas, água, no homem e em outros animais. Alguns membros dessa família são denominados bactérias entéricas por colonizarem superfícies internas e cavidades intestinais de animais de sangue quente, tais como, *E. coli*. Outras bactérias, são considerados patógenos invasores,

provocando doenças ao homem, através da ingestão de água e alimentos contaminados, como *Salmonella* e *Shigella* (PANDEY et al., 2012).

3.2.2 *Escherichia coli*: um indicador de contaminação fecal

Escherichia coli é um microrganismo chave na transmissão de doenças de origem alimentar e algumas cepas estão associadas a surtos de toxinfecção alimentar em escala internacional. Esse microrganismo faz parte da família Enterobacteriaceae e pertence ao grupo coliforme, que é comumente utilizado como indicador de contaminação fecal em água e alimentos, por se tratar de um habitante natural da microbiota intestinal de animais de sangue quente, incluindo o homem (SILVA et al, 2007; ARAÚJO et al., 2017).

E. coli foi isolado pela primeira vez, em 1885, pelo bacteriologista alemão Theodor Escherich, sendo considerada um habitante normal do trato intestinal (NASCIMENTO, 2004). É um microrganismo anaeróbio facultativo, bacilo Gram-negativo e capaz de metabolizar uma ampla variedade de substâncias como carboidratos (em particular a lactose), aminoácidos, proteínas, lipídios, ácidos orgânicos entre outros (TRABULSI; ORDONEZ, 2004).

Essa bactéria também exerce um efeito benéfico sobre o organismo de seus hospedeiros, suprimindo a multiplicação de bactérias prejudiciais e auxiliando na síntese de vitaminas. Entretanto, existem cepas de *E. coli* capazes de provocar doenças em seres humanos, as quais são conhecidas como enteropatogênicas (SILVA et al, 2003).

As cepas de *E. coli* enteropatogênicas podem ser classificadas em subgrupos com base nos sintomas das doenças, fatores de virulência e nas características sorológicas. Os subgrupos de *E. coli* associados a infecções intestinais são classificados em seis patótipos: *E. coli* enteropatogênica (EPEC); *E. coli* enterotoxigênica (ETEC); *E. coli* enteroinvasiva (EIEC); *E. coli* produtora de toxina shiga ou verotoxigênica (STEC ou VTEC), da qual a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) constitui um subtipo; *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* difusamente aderente (DAEC) (CALDORIN et al., 2013).

A presença de *E. coli* tem sido relatada na literatura, principalmente, em corpos hídricos que são utilizados como receptores de efluentes domésticos, em consequência da falta de saneamento básico e/ou tratamento de esgoto sanitário nos municípios limítrofes. Devido a isso, destaca-se que a emissão de efluentes orgânicos em ambientes aquáticos pode contribuir tanto para o aumento de microrganismos patogênicos na água como para a resistência desses patógenos a antimicrobianos comerciais (COSTA et al., 2014; FARIAS, TRINDADE, ALCÂNTARA, 2010; VASCONCELOS, IGANCI, RIBEIRO, 2006).

Algumas linhagens de *E. coli* apresentam uma grande aptidão para adquirir informações genética através da transferência horizontal de genes de outros microrganismos como mecanismo de adaptação. A multiresistência a antibióticos comerciais de linhagens de *E. coli* isoladas de água de irrigação e vegetais indicam uma contaminação cruzada e a disseminação desse microrganismo da água para o alimento (ARAÚJO et al., 2017).

Vasconcelos et al. (2010) detectaram a resistência antimicrobiana de 67,4% das 43 cepas de *Escherichia coli* isoladas do açude Santo Anastácio (Fortaleza, CE), sendo constatado a resistência a tetraciclina, ao sulfazotrin, ao ácido nalidixico e a ciprofloxacina. Os referidos autores destacam que a presença de bactérias resistentes pode estar relacionada ao lançamento de antimicrobianos nas águas através de esgotos, sendo que o uso inadequado dessas águas pode comprometer a saúde da população.

3.2.3 *Vibrio* sp.: características, riscos e incidência

O gênero *Vibrio* pertence a família *Vibrionaceae*. Entre as principais características das espécies de bactérias desse gênero incluem serem Gram-negativas, anaeróbicas facultativas, bacilos não formadores de esporos, oxidase positiva e halofílicas (JAKSIC et al., 2002). Esse um grupo de bactérias isolados comumente de águas costeiras, pescados e outros frutos do mar. Essas bactérias estão associadas com interações entre hospedeiros presentes em ecossistemas marinhos, incluindo uma ampla patogenicidade em pescados e simbiose entre organismos marinhos (BERGEY, 1994; GAO et al., 2016).

Já foram identificadas mais de 100 espécies de *Vibrio* e recentemente a espécie *V. ishigakensis* sp. nov., pertencente ao clade Halioticoli foi isolada em águas marinhas de um recife de corais no Japão. Algumas espécies de *Vibrio* são patogênicas ao homem estando associadas a muitas infecções alimentares, principalmente, em países com águas costeiras, como o Brasil e o Japão. A principal rota de transmissão desses patógenos ocorre através da ingestão de água contaminada, pescados e derivados crus ou levemente cozidos (GAO et al., 2016).

Três espécies de *Vibrio* são comumente associadas a surtos de infecções alimentares em ambientes aquáticos e produtos do mar, dentre eles encontram-se o *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* e *V. cholerae*. Essas espécies produzem citotoxinas capazes de causar lesões teciduais podendo levar ao surgimento de gastroenterites. As gastroenterites ocorrem após um período de incubação médio de 19 horas, apresentando como sintomas, vômitos, cólicas abdominais, náuseas e diarreia, sanguinolenta ou não (JAY, 2005).

Vibrio cholerae sorogrupos O1 e O139 são os sorogrupos mais envolvidos em surtos de cólera no mundo. Em 2014, um total de 190.549 casos de cólera foram reportados pela OMS (Organização Mundial de Saúde), com 2231 mortes (OMS, 2014). As epidemias de cólera são prevalentes principalmente em ambiente aquáticos, como rios, estuários e lagos, sendo a principal forma de transmissão através do consumo de água contaminada ou alimentos contaminados por contaminação cruzada com água. Por isso, métodos rápidos de diagnóstico desse patógeno tem sido desenvolvido, a fim de detectar em 24 horas ou menos a sua presença em águas contaminadas (BRIQUAIRE et al., 2017).

Vibrio parahaemolyticus está entre a espécie mais comumente envolvida em surtos de infecções alimentares. De 2010 a 2014, foram diagnosticados 71 surtos de infecções envolvendo esse patógeno na China, com 933 doentes e 117 hospitalizações, sendo 38% dos casos associados ao consumo de peixes e derivados e 50,7% ocorridos em restaurantes (CHEN et al., 2017).

A resistência de espécies de *Vibrio* a antimicrobianos comerciais é um fato preocupante que tem sido relatado na literatura. Mala et al. (2017) relatam em amostras clínicas e de água na Tailândia que a multirresistência de cepas de *V.cholerae* a antimicrobianos comerciais está associada ao elemento SXT, podendo haver disseminação cruzada ou uma transferência horizontal desse elemento entre cepas patogênicas do sorogrupo O1 e não patogênicas. Os autores ainda destacam que ambientes aquáticos são fontes importantes de disseminação entre microrganismos de genes resistentes a antimicrobianos comerciais.

3.2.4 *Pseudomonas* sp.: características, riscos e incidência

O gênero *Pseudomonas* pertence a família *Pseudomonaceae* e compõe um grupo de bactérias gram-negativas, aeróbias estritas, que em alguns casos podem utilizar o nitrato como aceptor de elétron, permitindo seu crescimento em condições anaeróbicas. Uma característica peculiar deste gênero é a capacidade de produzir pigmentos. O pigmento mais conhecido é a piocianina azul responsável pela coloração azul de secreções de ferimentos infectados por *P. aeruginosa* (BERGEY, 1994).

Nos últimos dez anos, mais de 70 novas espécies de *Pseudomonas* foram isoladas de diferentes ambientes, dos quais mais de 30 espécies foram isoladas do solo e o restante de animais, plantas, água, ar, fungos, algas, homem, alimentos e ambientes extremos (Antártica e desertos) (PEIX et al., 2018).

A espécie *Pseudomonas aeruginosa* é a espécie mais comumente associada a contaminação de água potável. Esta bactéria era utilizada como indicador de qualidade

microbiológica em água potável por ser um patógeno oportunista e estar associado a vários casos de infecções hospitalares, como infecções no trato respiratório, infecções urinárias e septicemia (GUERRA et al., 2000; d'AGUILA et al., 2000). No entanto, a legislação brasileira atual não utiliza essa bactéria como parâmetro microbiológico de águas potáveis (BRASIL, 2011).

A presença dessa bactéria em águas hospitalares é uma preocupação constante, pelo risco de contaminação de pacientes e pela multirresistência a antibióticos comerciais, o que dificulta o seu controle. Lefebvre et al. (2017) durante o período de 2005 a 2014 em um hospital americano detectaram a contaminação por *P. aeruginosa* em 16,8% das amostras de água analisadas e isolaram 3.946 cepas desse patógeno de 2.996 pacientes. Apesar do estudo não ter estabelecido uma relação clara entre as amostras positivas e os casos dos pacientes infectados são altos os riscos de transmissão direta ou cruzada, especialmente em unidades de terapia intensiva.

Ferrareze et al. (2006) identificaram 10 pacientes portadores de *P.aeruginosa* hospitalizados em uma unidade de cuidados intensiva, dos quais 7 vieram ao óbito. Kobayashi et al. (2009) também isolaram cepas de *P. aeruginosa* multirresistentes de pacientes de um hospital público em Goiânia e relatam sua preocupação sobre a dificuldade de se estabelecer um tratamento adequado as infecções graves causadas por este patógeno.

Apesar do crescimento de *Pseudomonas* spp. não ser comum em ambientes de alta salinidade, como ambientes marinhos, Khan et al. (2010) demonstraram que cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de águas oceânicas sobrevivem e crescem em altas concentrações de NaCl (7%) e alto pH (8-9). Além disso, essas cepas possuem um melhor potencial de adaptação a essas condições do que cepas de *P. aeruginosa* isoladas de águas doces e ambientes hospitalares.

3.2.5 *Clostridium* sp.: características, riscos e incidência

O gênero *Clostridium* compõe um grupo de bactérias gram-positivas, formadores de esporos e anaeróbicas. Este gênero possui mais de 100 espécies, muitas das quais são consideradas patogênicas, incluindo *C. botulinum*, *C. tetani*, *C. difficile* e *C. perfringens*. Todas as bactérias que produzem a neurotoxina botulínica são membros do gênero *Clostridium*. Essas toxinas são letais e responsáveis pela sua patogenicidade (PECK, 2014).

As espécies de *Clostridium* estão presentes no ambiente e no trato gastrointestinal de homens e animais, podendo serem utilizados como marcadores de contaminação fecal. Esse gênero tem sido associado a surtos de toxinfecções veiculadas pelo consumo de alimentos

contaminados em países em desenvolvimento como a Nigéria. As enterotoxinas produzidas por essas bactérias são responsáveis por vários sintomas e únicas para cada espécie. Por exemplo, a enterotoxina do tipo A produzida por *C. perfringens* são responsáveis por diarreia aguda e vômitos, e as toxinas produzidas pelo *C. botulinum* causam paralisia dos músculos, podendo levar a morte do indivíduo por asfixia (JONHSON, 2014; CHUKWU et al., 2016).

Dentre essas espécies, *C. perfringens* é a espécie mais frequentemente encontrada em águas ambientais e sedimentos. A sua presença nesses ambientes indica a poluição por esgotos. Também é importante destacar, que os esporos dessa bactéria são mais estáveis na água e no sedimento do que as bactérias do grupo coliformes e estreptococos. Entretanto, a salinidade é um fator que limita o crescimento dessa bactéria (SKANAVIS; YANKO, 2001; MANAFI, WALDHERR, KUNDI, 2013, HENRY et al., 2018). Além disso, a presença dessa bactéria na água está associada a contaminação fecal e ainda pode indicar a presença de *Giardia* sp (FERGUSON et al., 1996). Por isso, estudos da literatura recomendam o uso desse microrganismo como indicador de qualidade da água (MANAFI, WALDHERR, KUNDI, 2013; BURKHARDT et al., 2000).

3.3 Resistência de bactérias a antimicrobianos comerciais

Os antibióticos, nas últimas décadas, têm sido os principais agentes antimicrobianos selecionados para o tratamento de doenças infecciosas. A utilização deste termo teve início no século XX com a descoberta do primeiro antibiótico, a penicilina, por Alexandre Fleming (MONTANARI; BOLZANI, 2001).

O termo antibiótico inicialmente era definido como substâncias químicas produzidas por diferentes microrganismos (bactérias e fungos), sintetizadas em laboratórios, os quais podem suprimir o crescimento de outros microrganismos ou destruí-los (SCHAECHTER et al, 2002). A essência da ação antimicrobiana do antibiótico é a toxicidade sobre o agente invasor, apresentando um efeito bacteriostático ou bactericida sobre o microrganismo sem afetar o hospedeiro (ALTHERTHUM et al, 2004).

No entanto, além da origem microbiana, os antimicrobianos podem ter origem vegetal e animal. Por isso, segundo Tavares (2007) o conceito de substâncias antimicrobianas é muito mais amplo e pode ser enquadrado no conceito de quimioterápicos, sendo definido como substâncias químicas utilizadas no tratamento das doenças infecciosas e neoplásicas, em concentrações que são toleradas pelo hospedeiro.

Em relação ao mecanismo de ação do antibiótico, este pode ocorrer em diferentes pontos da célula bacteriana, tais como a inibição da síntese da parede celular, lesão da membrana

citoplasmática, inibição da síntese de proteínas e ácidos nucleicos (JACKSON et al, 1998). O desenvolvimento de agentes antimicrobianos teve um grande efeito benéfico na saúde humana e animal, porém temporariamente. Em meados de 1950, iniciou-se o fenômeno da resistência bacteriana e atualmente tornou-se um problema mundial de saúde pública (RAPINI et al, 2004).

Segundo o *Review on Antimicrobial Resistance* divulgado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que a resistência a drogas antimicrobianas causa 70.000 mortes anualmente. Em 2050 podem chegar a 10 milhões de mortes com custos acima de 10 trilhões de dólares. Dessa forma, a resistência a antimicrobianos atualmente não é apenas uma questão de saúde pública, mas um ponto crítico para o progresso e desenvolvimento global (REVIEW ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE, 2014; CARLS; JASOVSKY, 2015).

O uso indiscriminado de antimicrobianos comerciais na saúde humana e animal, assim como, seu uso como promotores de crescimento em animais, tem afetado diretamente diversos ecossistemas e contribuído para disseminação de genes de resistência a antimicrobianos entre microrganismos, o que tem refletido em ameaças ao desenvolvimento sustentável de muitos países. A resistência a antimicrobianos comerciais é uma evidência clara de consequências adversas a saúde humana, tendo em vista o aumento na frequência das infecções, o aumento na severidade das infecções e falhas no tratamento com antibióticos (OMS, 2017).

Mota et al (2005) afirmam que a utilização indiscriminada de antibióticos tanto em animais como em humanos, contribuíram progressivamente para o aumento da resistência bacteriana, uma vez que essa resistência pode ser transferida por diversos mecanismos, podendo estabelecer-se entre microrganismos de uma mesma população ou de populações diferentes, como da microbiota animal para a humana e vice-versa.

Outro fator que também contribui para a disseminação de bactérias resistentes é a ocorrência de fármacos, como os antibióticos, em esgotos domésticos, águas superficiais e sedimentos (FENT et al, 2006). Gil e Mathias (2005) relatam que os fármacos apresentam uma boa estabilidade ou elevada vida prolongada quando expostos ao ambiente, contribuindo para o desenvolvimento de microrganismos resistentes.

3.4 Qualidade físico-químicas da água e sedimentos de ecossistemas marinhos e costeiros

Os componentes físicos de um ecossistema interagem diretamente com todos os organismos vivos presentes nesse ambiente, tais como, ar, vegetação, água e solo, influenciando na composição química da água e sedimento. Em particular, ecossistemas marinhos, como estuários e sistemas costeiros, são altamente produtivos e a atividade biológica por ação de

microrganismos nesses ambientes é constante, devido a disponibilidade, decomposição e regeneração de nutrientes através dos processos biogeoquímicos (FUHRMAN; CRAM; NEEDHAM, 2015).

Elementos químicos importantes são biologicamente transformados durante esses processos, tais como, carbono, nitrogênio, fósforo, enxofre e outros. Nesse contexto, as propriedades físico-químicas de ecossistemas marinhos são indicadores importantes da atividade biológica nesse ambiente. Essas propriedades sofrem uma forte influência dos fatores climáticos e hidrológicos, os quais apresentam variações conforme a sazonalidade (JORCIN, 2000).

Lagunas costeiras em locais de clima tropical úmido recebem grandes quantidades da água do mar e sedimento, apresentando uma alta turbidez com muito sedimento em suspensão. Além disso, a presença de vegetação, como os manguezais, também influencia nas características físico-químicas desses ambientes. Os mangues estão associados a estuários e lagoas devido a alta salinidade, baixos níveis de oxigênio, alta intensidade de luz, fortes ventos e inundação periódica (KATUPOTHA, 2016; GERARDO; PICCOLLO; PINO-QUIVIRA, 1999).

As lagoas com reentrâncias restritas por canais são menos influenciadas e mais protegidas dos efeitos das ondas do mar. A entrada e saída de água doce nas lagoas ocorre através da descarga do rio, infiltração de águas subterrâneas e chuvas, e é perdido por evaporação e trocas d'água com o oceano costeiro. Normalmente, a água é fresca ou ligeiramente salobra, mas durante a estiagem, a salinidade aumenta à medida que a água do mar se propaga ao longo do canal (KJERFVE, 1994).

No Brasil, a resolução nº357 do CONAMA estabelece algumas condições de qualidade de águas ambientais com base em propriedades químicas e físicas para águas ambientais, entre elas destacam-se a salinidade, pH, turbidez, odor, carbono total, oxigênio dissolvido e pH (tabela 1).

A salinidade é utilizada como um critério para classificar os tipos de águas em doces, salinas e salobras. Águas doces possuem salinidade igual ou inferior a 0,5 ‰; águas salobras possuem salinidade superior a 0,5 ‰ e inferior a 30 ‰ e águas salinas possuem salinidade igual ou superior a 30 ‰ (BRASIL, 2000).

Tabela 1. Qualidade físico-química das águas ambientais brasileiras.

Parâmetros físico-químicos	Salina			Salobra		
	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 1	Classe 2	Classe 3
CO* total (mg/mL de C)	≤ 3	≤ 5	≤ 10	≤ 3	≤ 5	≤ 10
OD** (mg/L O ₂)	≤ 6	≤ 5	≤ 4	≤ 5	≤ 4	≤ 3
Turbidez (UNT)	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Odor	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
pH	6,5 a 8,5	6,5 a 8,5	6,5 a 8,5	6,5 a 8,5	6,5 a 8,5	5 a 9
Salinidade	≥ 30 ‰			≥ 0,5 ‰ e ≤ 30 ‰		

Nota. *CO: Carbono orgânico total; **OD: Oxigênio dissolvido.

Fonte: BRASIL, 2005.

A turbidez é uma característica da água devida a presença de partículas em estado coloidal, em suspensão, matéria orgânica e inorgânica finamente dividida, plâncton e outros organismos. Ela expressa a interferência à passagem de luz através de um líquido, ou seja, a transparência da água. Em águas ambientais salinas e salobras é estabelecido pelo CONAMA ausência de turbidez. A turbidez de águas ambientais sofre influência de variações sazonais entre os períodos de chuva e estiagem (BRASIL, 2005; BRASIL, 2006).

O pH (potencial hidrogeniônico) da água é a medida da atividade de íons hidrogênio. Os valores de pH expressam condições ácidas (valores de pH < 7), neutras (pH = 7) e alcalinas (valores de pH > 7). Águas naturais devem apresentar um pH próximo da neutralidade em decorrência da sua capacidade de tamponamento. As características do solo, a presença de ácidos húmicos ou uma atividade fotossintética intensa contribuem para a elevação ou redução do pH natural. Além disso, o pH influencia na solubilidade de diversas substâncias e na sua toxicidade, bem como, nas condições de crescimento de organismos vivos (BRASIL, 2005; BRASIL, 2006).

O odor pode ter origem natural, ou sofrer modificações por causa da presença de matérias orgânicas ou organismos aquáticos, associados ou não a presença de contaminantes químicos, efluentes domésticos, entre outros. Alterações do odor frequentemente estão associados a proliferação de algas e cianobactérias (BRASIL, 2005; BRASIL, 2006).

4. MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia empregada para a realização das análises microbiológicas foi a preconizada pelo Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater, da American Public Health Association (APHA, 2005) e o perfil de sensibilidade das cepas de enterobactérias e *Pseudomonas sp.* aos antimicrobianos comerciais foi determinada pelo método de difusão de discos estabelecido pela National Commitee for Clinical Laboratory Standards-CLSI (CLSI, 2012).

4.1 Coleta das amostras

As amostras de água foram coletadas na Laguna da Jansen, em cinco pontos distintos, georeferenciados por GPS (Figura 2), durante os meses de fevereiro a novembro de 2018. As coletas foram realizadas na sub-superfície da água, a uma profundidade mínima de 30cm e em frascos estéreis com capacidade para 500mL. Após as coletas, as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas, resfriadas com gelo triturado e transportadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Físico-Química de Água da Universidade Federal do Maranhão (PCQA-UFMA).

Figura 2. Pontos de coleta na Laguna da Jansen, São Luís, Maranhão.



Fonte: Arquivo pessoal e Google EarthPro.

Legenda. Ponto 1: Próximo ao Shopping Galeria-Av. Coronel Colares Moreira; Ponto 2: Meio da Laguna; Ponto 3: Próximo a restaurantes- Av. Prof. Mário Meireles; Ponto 4: Próximo a comporta – Av. dos Holandeses; Ponto 5: Próximo ao bairro São Francisco.

As amostras de sedimento foram coletadas em 3 pontos da Laguna da Jansen, dois pontos próximos a áreas urbanizadas (ponto 3 e 4) e um ponto localizado na região central. Aproximadamente, 500 gramas de sedimento foram coletadas usando uma draga metálica e transferidos para recipientes de plástico. Foram analisados dois peixes de espécies distintas entre 4 e 5 horas da manhã por coleta, conforme descrito na tabela 2.

Tabela 2. Descrição das espécies de peixe coletados na Laguna da Jansen.

Registro fotográfico	Coleta	Família	Espécie*	Nome comum
	Abr./Set.	Mugilidae	<i>Mugil incilis</i>	Taíinha
	Fev.	Albulidae	<i>Albula vulpes</i>	Urubarana
	Abr./Jul./Dez.	Cichilidae	<i>Oreochromis urolepis</i>	Tilápia
	Fev./Jul./Dez.	Megalopodidae	<i>Megalops atlanticus</i>	Pirapema

Fonte: Arquivo pessoal.

Nota: * Fishbase (www.fishbase.in), 2018.

4.2 Aspectos Éticos da pesquisa

A autorização para coleta de amostras de água e pescado da Laguna da Jansen foi solicitada no site do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais- IBAMA, Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade-SISBIO, nos serviços de Licenciamento Ambiental Federal, gerando o seguinte número de autorização por parte do órgão: 65972-1.

4.3 Parâmetros físico-químicos da água

Os parâmetros físico-químicos da água foram determinados *in loco* utilizando o multiparâmetro HANNA (HI-98280), tais como, pH, sólidos solúveis dissolvidos, condutividade, temperatura e salinidade.

4.4 Análises Microbiológicas

4.4.1 Preparo das amostras

Para a realização das análises microbiológicas pertinentes foi realizado uma diluição na proporção de 1:10 das amostras de sedimento e peixe em solução salina a 0,85% de cloreto de sódio- NaCl, sendo retirados assepticamente 10 gramas da amostra e transferidos para 90 mL do diluente. Os peixes foram descamados, eviscerados e filetados com auxílio de uma faca esteril para análise. As amostras de água foram inoculadas diretamente nos meios de cultura devidamente esterilizados.

4.4.2 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes

Para a determinação de coliformes termotolerantes, pela técnica de tubos múltiplos foram inoculadas 10, 1 e 0,1mL das amostras utilizando-se três séries de cinco tubos contendo Caldo Lactosado (concentração simples e dupla) e tubos de Durham invertidos. Após a incubação por 24-48 horas a 35°C, os tubos que apresentaram turvação e gás nos tubos de Durham foram considerados como positivos para a prova presuntiva. Para o teste confirmativo, transferiram-se alíquotas dos tubos positivos no Caldo Lactosado, com auxílio de uma alça de níquel-cromo para tubos contendo Caldo *Escherichia coli* (Caldo EC). Os tubos foram incubados em banho-maria a 45°C, por um intervalo de 24 a 48 horas. Após a incubação, foram considerados positivos para a presença de coliformes termotolerantes, os tubos que apresentaram turvação e gás nos tubos de Durhan. O NMP de coliformes termotolerantes/100mL, foi determinado pela tabela de Hoskins.

4.4.3 Isolamento e identificação bioquímica de enterobactérias

A partir dos tubos positivos do caldo EC, foram inoculadas alíquotas com auxílio de alça de níquel-cromo no Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), utilizando-se a técnica de estrias por esgotamento. As placas inoculadas foram invertidas e incubadas a 35° C por 24 horas em estufa. Decorrido o período de incubação, as colônias suspeitas (colônias negras e com

brilho metálico esverdeado) foram repicadas em tubos contendo Ágar Triptona de Soja (TSA) e incubados em estufa a 37° C, por 24 horas, para posterior identificação de espécies de enterobactérias. A identificação das cepas suspeitas foi realizada através de testes bioquímicos convencionais e utilizando o sistema Bactray para bacilos Gram-negativos (Laborclin, Paraná, Brasil). Os testes convencionais incluíram o teste IMVIC (Indol, caldo Vermelho de Metila e Citrato), motilidade, descarboxilação de aminoácido (lisina), malonato, produção de H₂S e utilização de carboidratos (arabinose, sacarose, xilose e rafinose), segundo metodologia descrita no *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (BERGEY; KRIEG; HOLT, 1994). Posteriormente, cepas não identificadas pelos testes convencionais foram submetidas a sistema Bactray. Para isso, foi preparado uma suspensão bacteriana em água estéril com culturas ativas da bactéria em 24 horas e distribuídas nos conjuntos do Bactray I e II. Cada conjunto apresenta 10 provas bioquímicas, totalizando 20 provas, incluindo: ONPG (o-nitrofenol-beta-d-galactopiranoside), Arginina desidrolase, Lisina descarboxilase, Ornitina descarboxilase, H₂S (gás sulfídrico), indol, uréia, Voges-Proskauer, adonitol, sorbitol, citrato de simmons, salicina, sacarose, malonato, arabinose, manitol, fenilalanina desaminação, inositol, ramnose e rafinose.

4.4.4 Isolamento e identificação bioquímica de *Pseudomonas aeruginosa*

A quantificação foi realizada pela técnica dos tubos múltiplos. Para isso, foram inoculadas alíquotas de 10, 1 e 0,1mL das amostras, em três séries de três tubos contendo Caldo Asparagina (concentração simples e dupla). Após a incubação por 24-48 horas a 35°C em estufa, os tubos que apresentaram fluorescência com coloração esverdeada na presença de luz ultravioleta foram considerados como positivos.

Desses tubos foram retiradas alíquotas com uma alça de platina e inoculados em tubos contendo caldo acetamida. Os tubos foram incubados novamente em estufa a 35°C por 24-48 horas. Após o período de incubação os tubos que apresentaram coloração rosa foram considerados positivos, comprovando a presença de *Pseudomonas*.

4.4.5 Identificação de *Clostridium perfringens*

Para identificação de *Clostridium perfringens* utilizou-se as metodologias segundo APHA (2005) através da técnica de inoculação em profundidade. Foram retirados, assepticamente, alíquotas 0,1 mL da amostra coletada e transferidas placas Petri estéril, em seguida adicionou-se o Ágar seletivo para *Clostridium perfringens* (SPS) e homogenizou-se a amostra com o meio de cultura através de movimentos circulares. Após a solidificação do ágar, adicionou-se outra camada de 5 a 10 mL do ágar e após a solidificação do meio, as placas foram

transferidas para uma jarra de anaerobiose. A incubação das placas foi realizada em estufa a 46° C por 24-48 horas. As colônias com coloração negra foram consideradas positivas para *Clostridium perfringens*.

4.5 Testes de sensibilidade de bactérias a antibióticos comerciais

As cepas testes de bactérias identificadas foram ativadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI). Após o período de incubação de 24 horas em estufa bacteriológica a 37°C, com auxílio de um swab, uma alíquota de 0,1mL de cada cepa, foi semeada sobre a superfície das placas contendo ágar Mueller-Hinton. Em seguida, sobre este, foram aderidos pequenos discos de papel de filtro contendo o antimicrobiano comercial, com o auxílio de uma pinça previamente flambada. As placas foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas e posteriormente foram realizadas as leituras dos halos de inibição com auxílio de uma régua milimetrada.

Os antibióticos comerciais (Laborclin, Brasil) testados foram: Tetraciclina (30 µg); Cefalotina (30 µg), Cloranfenicol (30 µg), Gentamicina (30 µg) e Sulfazotrin (25 µg). As cepas foram classificadas de acordo com o tamanho do halo de inibição em resistente (R), intermediário (I) e sensível (S), com base nas referências estabelecidas pelo fabricante (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros de halos de inibição esperados para enterobactérias e *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibióticos	Classe	Halos de inibição (mm)		
		Resistente	Intermediário	Sensível
Cefalotina	Cefalosporinas	≤14	15-17	≥18
Cloranfenicol	Fenicóis	≤12	13-17	≥18
Tetraciclina	Tetraciclina	≤11	12-14	≥15
Gentamicina	Aminoglicosídeos	12	13-14	15
Sulfazotrim	Sulfamidas	10	11-15	16

Fonte: Laborclin, 2011.

4.6 Análises estatísticas

Para análise estatística descritiva foram utilizados os programas excel 2017 (Microsoft Office 365, versão 1710), Past (HAMMER, HARPER, RYAN, 2001). O teste de Shapiro-Wilk foi aplicado para verificar a normalidade das variáveis. Devido a não normalidade das variáveis, foi utilizado o teste de correlação de Spearman para estabelecer correlações entre os parâmetros físico-químicos e o número de bactérias detectadas (Coliformes termotolerantes e *P. aeruginosa*). Para comparação de médias foi utilizado ANOVA um fator, seguido de teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Análises microbiológicas da água, peixe e sedimento da Laguna da Jansen

5.1.1 Quantificação de coliformes termotolerantes

Os dados de quantificação de coliformes termotolerantes na água, sedimento e peixe da Laguna da Jansen estão representados na tabela 4. Os valores médios de coliformes termotolerantes detectados nas amostras de água variaram de 360,6 a 1.600 NMP/ 100 mL, com diferenças significativas entre os meses de coleta. Uma fraca correlação positiva ($r=0,03$) foi verificada entre o número de coliformes e a pluviosidade.

Tabela 4. Quantificação de coliformes termotolerantes na água, sedimento e peixe da Laguna da Jansen.

Amostras	Coliformes termotolerantes (NMP/100 mL)						
	Nº	Período chuvoso		Período seco			
		Fev	Abr	Jul	Set	Nov	
Água	Ponto 1	5	30	1600	300	30	1600
	Ponto 2	5	13	1600	170	13	1600
	Ponto 3	5	80	1600	1600	80	1600
	Ponto 4	5	1600	1600	240	1600	540
	Ponto 5	5	80	1600	90	80	240
	Média		360,6	1600	480	360,6	1116
Sedimento	Ponto 1	3	1600	150	9,1	1100	1100
	Ponto 2	3	1600	1100	1100	1100	2400
	Ponto 3	3	1600	2400	2400	150	2400
	Média		1600	1216,7	1169,7	783,3	1966,7
Peixe	Espécie 1	5	23	93	93	0	93
	Espécie 2	5	43	93	2400	9.1	21
	Média		33	93	1246,5	0	57

Legenda. Ponto 1: Próximo ao Shopping Galeria-Av. Coronel Colares Moreira; Ponto 2: Meio da Laguna; Ponto 3: Próximo a restaurantes- Av. Prof. Mário Meireles; Ponto 4: Próximo a comporta - Av. dos Holandeses; Ponto 5: Próximo ao bairro São Francisco. Nº: Número de amostras.

De acordo com o CONAMA (BRASIL, 2005), para águas salobras ou salinas de classe 1 o limite estabelecido é de 1000 NMP/100 mL em 80% ou mais das amostras coletadas durante um período de um ano, bimestralmente. Neste estudo, apenas 44% das amostras coletadas excederam o valor de 1.000 NMP/ 100 mL, estando essas águas dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente. Para águas salobras ou salinas de classe 2 o limite estabelecido é de 2.500 NMP/100 mL, dessa forma, a água da Laguna da Jansen encontra-se dentro dos padrões microbiológicos.

Trindade et al. (2011) verificaram altas concentrações de coliformes termotolerantes (acima de 1.000 NMP/100mL) nos meses de dezembro e março nas praias da Ponta da Areia e São Marcos, assim como, altas concentrações de nitrito e fosfato. Segundo os autores esses dados estão relacionados com aumento na descarga de nutrientes através do escoamento do esgoto doméstico, aumento no fluxo de banhistas nas praias e as deficiências no sistema sanitário público.

Um comportamento similar ao deste estudo foi observado na quantificação de coliformes termotolerantes na água da Laguna da Jansen. As amostras que apresentaram altas concentrações de coliformes termotolerantes foram coletadas nos meses de abril e novembro, no qual as amostras apresentaram valores médios de 1600 e 1116 NMP/ 100 mL, respectivamente.

A entrada de água na Laguna da Jansen ocorre através de um canal que permite a sua conexão com a Praia da Ponta da Areia que é aberto periodicamente, o que sugere que os contaminantes detectados nessa praia são transferidos para a Laguna da Jansen. É importante destacar, que existe uma influência do período chuvoso sobre a população de coliformes termotolerantes e a lixiviação de matéria orgânica águas ambientais, assim como outros fatores como a menor incidência de radiação ultravioleta e a salinidade.

Abreu e Cunha (2017) verificaram que 75% das amostras de águas coletadas no rio estavam contaminadas por coliformes termotolerantes e mostraram uma correlação positiva com a precipitação, indicando a existência de despejos de esgotos domésticos sem tratamento ou elevadas taxas de lixiviação da matéria orgânica difusa de origem florestal.

Costa et al. (2014) verificaram que os números de coliformes totais foram quatro vezes maiores no período chuvoso em relação ao período de estiagem em águas portuárias de São Luís-MA. Além disso, verificaram uma correlação negativa entre a salinidade e o número de coliformes.

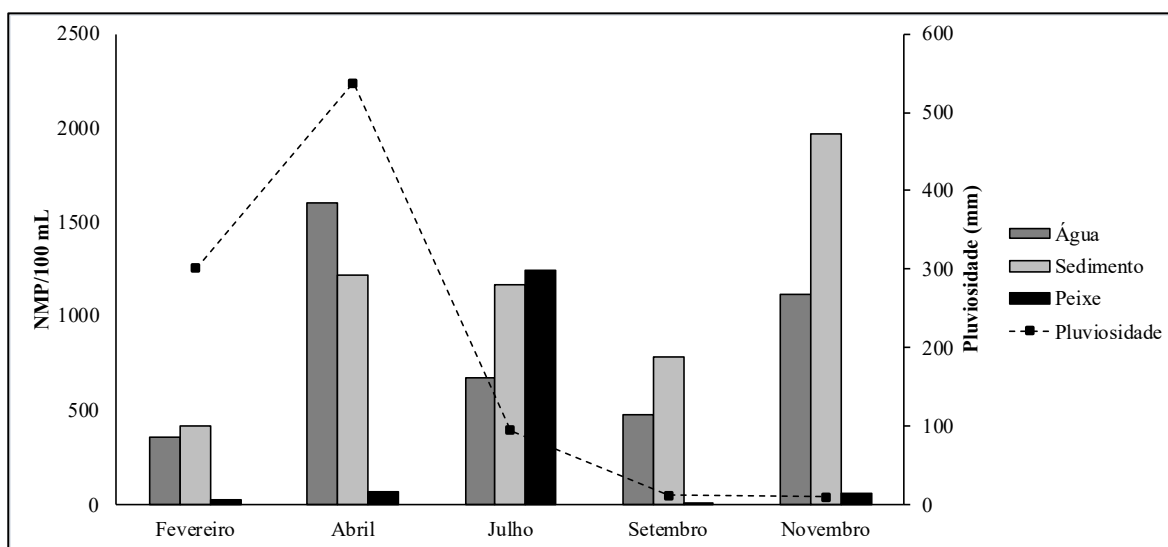
A sensibilidade de microrganismos de origem fecal isolados da água do mar, principalmente a *E. coli* a luz solar já foi relatado na literatura. A radiação UV-B (280-320

nm) é a parte do espectro solar com maior ação bactericida que causa danos diretos ao DNA e tem efeitos tóxicos as células (ROZEN; BELKIN, 2001).

Nossos dados sugerem que o aumento das chuvas no mês de abril e as condições climáticas favoráveis para atividades recreativas no período de estiagem na praia da Ponta da Areia influenciaram no aumento da contaminação por bactérias, sendo, portanto, necessário um maior monitoramento microbiológico nesses períodos pelos órgãos competentes.

No sedimento, foram detectadas altas contagens de coliformes termotolerantes, com valores médios variando de 783,3 a 1.966,7 NMP/ 100 mL. Não houve diferenças significativas entre os valores médios das amostras por mês de coleta, indicando que a sazonalidade não influenciou na contaminação do sedimento. Os maiores índices de contaminação por esse grupo de bactérias foram detectados nos meses de novembro e fevereiro, com valores acima de 1.500 NMP/mL. As contagens de coliformes nos sedimentos foram maiores em comparação a água e o peixe (Figura 3), com exceção do mês de abril, no qual a contaminação na água foi superior.

Figura 3. Comparação entre os valores médios de coliformes termotolerantes encontrados na água, sedimento e peixe da Laguna da Jansen.



Karbasdehi et al. (2017) detectaram valores médios de $9,28 \times 10^3$ a $18,33 \times 10^3$ NMP/100 mL de coliformes termotolerantes em sedimentos do golfo do Pérsio. Esses autores verificaram que a medida que aumenta a profundidade o número de bactérias

diminuiu em até 50%. O fato foi associado a característica natural de filtração dos sedimentos que retém substâncias orgânicas e microrganismos.

O sedimento é considerado um ambiente favorável para a sobrevivência das bactérias. Santos et al. (2008) destacam que os fatores limitantes para o crescimento de bactérias em sedimentos podem estar relacionados com o tamanho do grão, em uma relação inversa com o número de bactérias, a baixa energia do ambiente e o acúmulo de matéria orgânica.

Os sedimentos da Laguna da Jansen são granulometricamente siltes, de coloração cinza-escuro e homogêneos. No período chuvoso o silte apresenta-se mais grosso devido o maior escoamento de material orgânico para a laguna e revolvimento mecânico do sedimento pela ação das chuvas (ROJAS et al., 2013a).

As maiores contagens de coliformes no sedimento foi detectada no mês de novembro e apenas no mês de abril o número de coliformes no sedimento foi menor do que na água. Esses dados indicam que no mês de novembro, período de estiagem, com maior incidência de raios solares, ocorre uma precipitação dos sedimentos e microrganismos, aumentando a concentração de coliformes no sedimento. Enquanto que, no período chuvoso com o maior escoamento de matéria orgânica, sólidos em suspensão e revolvimento mecânico do sedimento que passa a migrar para água, influenciou no aumento de coliformes na água.

No peixe, foram detectadas contagens de coliformes termotolerantes, com valores médios variando de 0 a 1.246,5 NMP/ 100 mL e não houve diferenças significativas entre esses valores. A RDC nº12 não utiliza os coliformes termotolerantes como microrganismo indicador para produtos de pesca “in natura” apenas para os produtos secos ou salgados com um limite máximo de 100 NMP/25 g (BRASIL, 2001).

Do ponto de vista geral, as amostras de peixe apresentaram baixos índices de contaminação com valores inferiores a 100 NMP/g, com exceção do indivíduo 2 (*Urubarana-Albula vulpes*) coletado no mês julho, em que foi detectado 2.400 NMP/g de coliformes termotolerantes. Essa contaminação pode estar associada ao seu hábito alimentar carnívoro.

Lopes (1999) avaliaram o conteúdo gastrointestinal de 85 indivíduos *A. vulpes* capturados na praia de Jaguaribe, Pernambuco e verificaram que os principais itens alimentares dessa espécie eram matéria orgânica digerida, sedimentos e crustáceos. A pirapema (*M. atlanticus*) também possui hábito alimentar similar urubarana, enquanto que, a tainha (*Mugil* sp.) alimenta-se apenas de detritos e plânctons. A tilápia (*O. niloticus*) possui um hábito alimentar onívoro e apresentam dieta ampla incluindo diferentes itens, incluindo, fitoplânctons (BARBOZA, BARBOZA, PEZZUTI, 2014).

5.1.2 Quantificação de *Pseudomonas aeruginosa*

A tabela 5 apresenta os dados de quantificação de *P. aeruginosa* na água, sedimento e peixe da Laguna da Jansen. Na água, as contagens variaram de 7,3 a 2.400 NMP/100 mL, com diferenças significativas. Altas contagens de *P. aeruginosa* foram encontradas nos meses de abril a agosto, com valores máximos de 2400 NMP/100 mL. No mês de fevereiro, em todos os pontos foram observadas baixas contagens dessa bactéria, variando de <3 a 16 NMP/ 100 mL. Uma fraca correlação negativa foi verificada entre o número de *P. aeruginosa* e a pluviosidade ($r=-0,10$).

Tabela 5. Quantificação de *Pseudomonas aeruginosa* na água, sedimento e peixe da Laguna da Jansen.

Amostra	<i>P. aeruginosa</i> (NMP/100 mL)						
	Nº	Período chuvoso		Período seco			
		Fev	Abr	Jul	Set	Nov	
Água	Ponto 1	5	3	2400	15	1100	2400
	Ponto 2	5	<3	2400	240	2400	240
	Ponto 3	5	6,2	2400	1100	2400	240
	Ponto 4	5	16	2400	28	460	2400
	Ponto 5	5	3	2400	1100	2400	2400
	Média	7,3	2400	496,6	1752	1536	
Sedimento	Ponto 1	3	0	2400	0	2400	93
	Ponto 2	3	0	0	0	2400	21
	Ponto 3	3	3,6	2400	0	2400	6,2
	Média	1,2	1600,0	0,0	2400,0	40,1	
Peixe	Ponto 1	5	2400	2400	2400	2400	6,2
	Ponto 2	5	2400	2400	2400	2400	23
	Média	2400	2400	2400	2400	23	

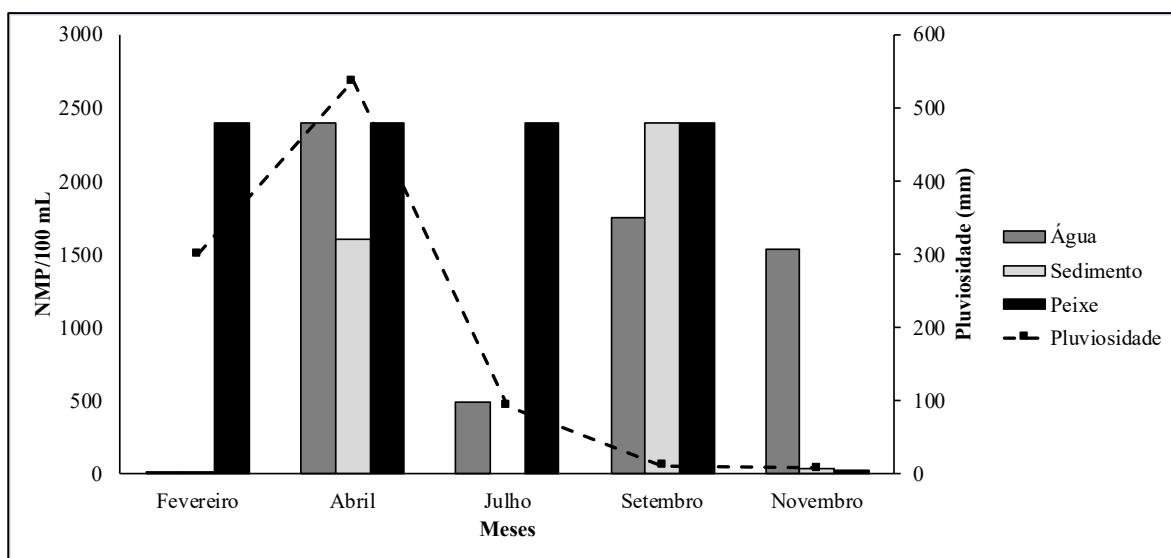
Legenda. Ponto 1: Próximo ao Shopping Galeria-Av. Coronel Colares Moreira; Ponto 2: Meio da Laguna; Ponto 3: Próximo a restaurantes- Av. Prof. Mário Meireles; Ponto 4: Próximo a comporta – Av. dos Holandeses; Ponto 5: Próximo ao bairro São Francisco.

No sedimento, as contagens de *P. aeruginosa* variaram de 0 a 2.400 NMP/10g, com diferenças significativas. Nos meses de setembro e abril foram detectados os maiores índices

de contaminação por essa bactéria. Enquanto que, no peixe, as contagens variaram de 23 a 2.400 NMP/100 mL. Altas contagens da *P. aeruginosa* foram verificadas durante na maioria das coletas de peixe da Laguna da Jansen, com valores de 2.400 NMP/25g.

Uma comparação estabelecida entre os valores médios de *Pseudomonas aeruginosa* encontrados na água, sedimento e peixe da laguna da Jansen mostram que o peixe durante 80% das campanhas realizadas apresentou os maiores índices de contaminação por essa bactéria (figura 4). Adicionalmente, a pluviosidade não interferiu no seu crescimento.

Figura 4. Comparação entre os valores médios de *Pseudomonas aeruginosa* encontrados na água, sedimento e peixe da Laguna da Jansen nas campanhas de 2018.



A bactéria *P. aeruginosa* possui grande versatilidade para se adaptar em diferentes ambientes, e tem sido encontrada em águas salinas de praias e sedimento (KARBASDEHI et al. 2017; RODRIGUEZ et al., 2015). De acordo com Rodriguez et al. (2015) a salinidade não parece ter um efeito limitante na presença das populações de *P. aeruginosa*, que é um organismo ubíquo em águas costeiras, tendo em vista, que eles detectaram essa bactéria em valores máximos de 4.600 NMP/100 mL em águas com salinidade variando de 30 a 40%.

A presença de *Pseudomonas* halotolerantes em sedimentos de manguezais tem demonstrado um grande potencial agrícola, industrial e biotecnológico. Avila (2012) mostrou que linhagens de *Pseudomonas* isoladas de manguezais produzem NH_3 , solubilizam

o fosfato e fixam nitrogênio. Além disso, promoveram o crescimento de milho sob condições de estresse salino.

A incidência da *Pseudomonas* em diversas espécies de peixes carnívoros, onívoros e zoo-planctívoros tem sido relatada ao longo de todo o ciclo de vida desses animais, desde os ovos que originam as larvas até a microbiota do intestino. Isso demonstra que essa bactéria é bem adaptada ao organismo de peixes e compõem a sua microbiota natural (EGERTON et al., 2018).

5.1.3 Incidência de *Clostridium perfringens*

A tabela 6 apresenta os dados de identificação de *C. perfringens* na água, sedimento e peixe da Laguna da Jansen. Na água, a presença de *C. perfringens* foi detectada apenas no período de estiagem, nos meses de julho a novembro, em 80% das amostras coletadas. Uma forte correlação positiva ($r=-0.697$) foi verificada entre o percentual de incidência de *C. perfringens* e a pluviosidade. Um perfil similar foi verificado para o sedimento durante o período de estiagem, no entanto a presença dessa bactéria foi detectada em 33,3 a 66,6% das amostras. Em contraste, no peixe foi verificado ausência em todas as amostras coletadas (Figura 5).

O *Clostridium* sp. é uma bactéria anaeróbica que cresce em baixas concentrações de oxigênio. Recentemente, Cutrim et al. (2018) ao avaliarem parâmetros físico-químicos da água da Laguna da Jansen, observaram no período de estiagem os níveis de oxigênio dissolvidos foram menores do que no período chuvoso, variando de 3,73 para 7,05 mg. L⁻¹, respectivamente. ROJAS et al. (2013b) também verificaram baixas concentrações de oxigênio dissolvido na água laguna da Jansen no período de estiagem e relatam que essa redução se deve as altas temperaturas que reduzem a solubilidade do oxigênio na água, baixa frequência de renovação das águas, baixa profundidade do leito da água e entrada de esgotos.

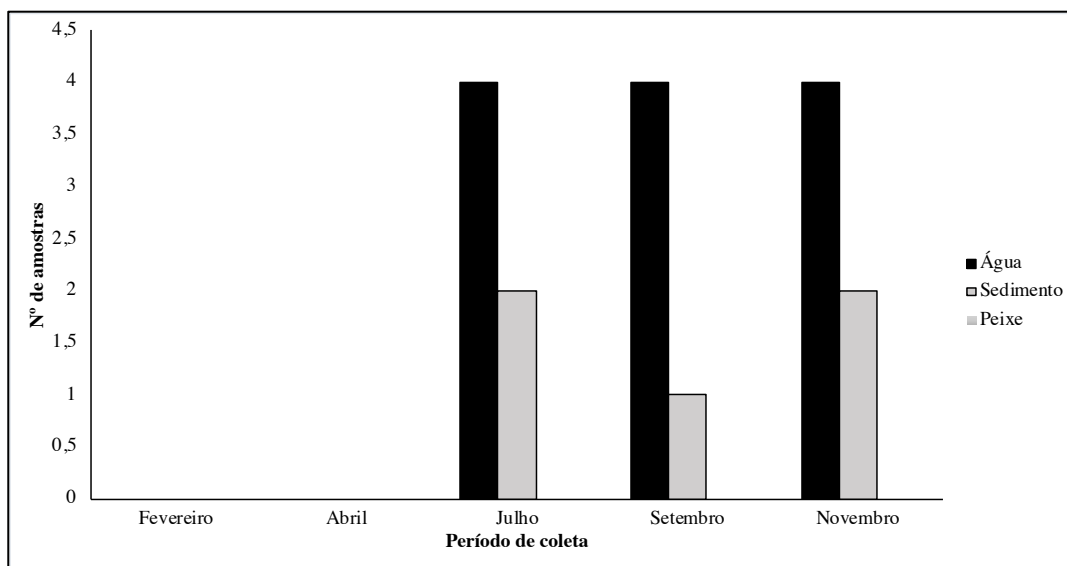
Tabela 6. Identificação de *C. perfringens* na água, sedimento e peixe da Laguna da Jansen.

Amostra	<i>C. perfringens</i>						
	Nº	Período chuvoso		Período seco			
		Fev	Abr	Jul	Set	Nov	
Água	Ponto 1	5	Ausência	Ausência	Ausência	Presença	Presença
	Ponto 2	5	Ausência	Ausência	Presença	Presença	Presença
	Ponto 3	5	Ausência	Ausência	Presença	Presença	Presença
	Ponto 4	5	Ausência	Ausência	Presença	Presença	Presença
	Ponto 5	5	Ausência	Ausência	Presença	Ausência	Ausência
	Percentual (%)		0	0	80	80	80
Sedimento	Ponto 1	3	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	Ponto 2	3	Ausência	Ausência	Presença	Presença	Presença
	Ponto 3	3	Ausência	Ausência	Presença	Ausência	Presença
	Percentual (%)		0	0	66,6	33,3	66,6
Peixe	Ponto 1	5	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	Ponto 2	5	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	Percentual (%)		0	0	0	0	0

Legenda. Ponto 1: Próximo ao Shopping Galeria-Av. Coronel Colares Moreira; Ponto 2: Meio da Laguna; Ponto 3: Próximo a restaurantes- Av. Prof. Mário Meireles; Ponto 4: Próximo a comporta – Av. dos Holandeses; Ponto 5: Próximo ao bairro São Francisco. * Percentual: Dados referentes as amostras acima dos limites estabelecidos pela legislação vigente para coliformes termotolerantes e amostras positivas para *Clostridium* sp.

A presença de *C. perfringens* foi limitada ao período de estiagem, o que deve estar associado a redução dos níveis de oxigênio. De acordo com CESTEB (2015) são considerados importantes indicadores biológicos e a sua presença pode ser natural ou causada por descargas de origem antrópica. A sua resistência a condições adversas, como altas temperaturas, ocorre por serem microrganismos produtores de esporos que são capazes de permanecer por muito mais tempo no ambiente em comparação aos coliformes termotolerantes.

Figura 5. Comparação entre os valores médios de *C. perfringens* encontrados na água, sedimento e peixe da Laguna da Jansen nas campanhas de 2018.



5.1.4 Identificação de enterobactérias

Das 130 cepas de isoladas foram identificadas 19 espécies de bactérias gram-negativas distribuídas entre oito gêneros: *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Providencia*, *Hafnia*, *Enterobacter*, *Kluyvera* e *Stenatrosphomonas*. A *E. coli* foi a espécie mais abundante, sendo 65 cepas identificadas nas amostras de água (26,9%), sedimento (11,5%) e peixe (11,5%). Esse microrganismo é um dos principais indicadores de contaminação fecal em águas ambientais, e a sua presença reflete a emissão de efluentes domésticos nesse ambiente (Tabela 7).

Outras quatro espécies de enterobactérias também foram identificadas na água, sedimento e peixe, entre elas encontram-se *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii* e *Salmonella choleraesuis*. As demais espécies foram encontradas em percentuais inferiores a 4%, entre elas estão: *Citrobacter kosei*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia fergusonii*, *Hafnia alvei*, *Klebsiella ornithinolytica*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozanae*, *Klebsiella pneumoniae*,

Kluyvera cryocrescens, *Providencia spp.*, *Salmonella cholerasius*, *Salmonella sp.* e *Stenatrophomonas maltophilia*.

Tabela 7. Espécies de enterobactérias identificadas na água da Laguna da Jansen.

Enterobactérias	Percentual (%)		
	Água	Sedimento	Peixe
<i>Escherichia fergusonii</i>	3,8	0,0	0,8
<i>Escherichia coli</i>	26,9	11,5	11,5
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1,5	0,8	1,5
<i>Citrobacter diversus</i>	6,9	3,1	2,3
<i>Citrobacter freundii</i>	1,5	4,6	1,5
<i>Citrobacter kosei</i>	0,0	1,5	0,0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0,8	0,0	0,0
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0,0	0,8	0,0
<i>Enterobacter cloacae</i>	0,8	0,0	0,0
<i>Hafnia alvei</i>	0,8	0,0	0,0
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	0,8	0,0	0,0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0,8	1,5	0,0
<i>Klebsiella ozanae</i>	3,1	1,5	0,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,8	0,0	0,0
<i>Kluyvera cryocrescens</i>	0,0	0,0	0,8
<i>Providencia spp</i>	0,8	0,0	0,0
<i>Salmonella</i>	0,8	0,0	0,0
<i>Salmonella cholerasius</i>	0,8	0,8	1,5
<i>Stenatrophomonas maltophilia</i>	0,8	0,0	0,0
Não identificados	1,5	0,0	0,8

Legenda. Cor vermelha indica percentuais de 27 a 3%; cor branca indica percentuais de 2 a 0,8% e a cor azul indica ausência.

A prevalência de bactérias gram-negativas em águas ambientais é bem relatada na literatura, com maior incidência de *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Proteus* (NASCIMENTO et al., 2016). Costa et al. (2014) identificaram espécies enterobactérias em águas do Complexo Portuário do Maranhão, na baía de São Marcos, entre elas encontram-se *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Morganella morganii*, *Enterobacter*

cloacae e *Edwardsiella tarda*. Das 98 cepas isoladas, 51 foram identificadas como *E.coli* enterotoxigênicas e enteroagregativas.

Silva (2006) identificou *E. coli*, *K. oxytoca* e *E. aerogenes* em águas das praias de São Luís e a Praia da Ponta da areia apresentou o maior índice de contaminação por coliformes termotolerantes (valores máximos de 1.600 NMP/100 mL) em comparação as praias do Calhau, Olho d'água e Araçagy.

Paiva (2016) identificaram 12 espécies de bactérias da família Enterobacteriaceae na água e peixe do rio da cidade de Bacabal, Maranhão. Os maiores números de espécies foram detectados no período chuvoso e as espécies mais frequentes na água e no peixe foram a *E. coli*, *C. diversus*, *C. freundii*, *Serratia liquefaciens* e *S. odorífera*.

Parente et al. (2011) identificaram *E.coli* em 68% das cepas de bactérias isoladas de águas de cultivo de camarões de duas fazendas do litoral cearense e outras enterobactérias, como *Citrobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.* e *Salmonella sp.*

A sobrevivência de bactérias gram-negativas, como as enterobactérias na água do mar por longos períodos, deve-se ao fato de entrarem em um estado de latência e permanecerem viáveis e virulentas (GRIMES et al., 1986). Vieira et al. (2001) verificaram que cepas de *E. coli* inoculadas em água do mar tem o potencial de crescimento em temperaturas de 37°C e 44,5°C por 48 horas. Isso demonstra as condições de salinidade não causa efeitos deletérios a bactéria, mas que fatores físicos, como incidência de raios UV e presença de matéria orgânica são fatores limitantes para sobrevivência desses microrganismos.

Espécies de bacilos gram-negativos são patógenos oportunistas, principalmente em pacientes imunocomprometidos, com alta morbidade e mortalidade, responsáveis por vários tipos de infecções hospitalares e multirresistentes a antibióticos. Os gêneros *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Proteus* estão frequentemente associados a infecções do trato respiratório e infecções urinárias. *Citrobacter freundii* é capaz de causar meningite, abscesso no cérebro e infecções urinárias (BADGER et al., 1999; RANJAN; RANJAN, 2013). *Stenotrophomonas maltophilia* é um patógeno emergente bastante associado a infecções respiratórias, principalmente pneumonia. Essa bactéria já foi isolada de diferentes fontes água, solo, plantas, hospitais e animais, como crocodilos (BROOKE, 2012).

5.2 Susceptibilidade de bactérias Gram-negativas a antibióticos comerciais

A atividade antibacteriana de três antibióticos comerciais frente a cepas de bactérias gram-negativas isoladas da Laguna da Jansen está descrita na tabela 8. As cepas

apresentaram os maiores percentuais de resistência a cefalotina (70%), seguida de tetraciclina (41%) e cloranfenicol (9%). O cloranfenicol foi o antibiótico que apresentou maior sensibilidade (73%) sobre as cepas testadas (**APÊNDICE B**).

Tabela 8. Sensibilidade dos antibióticos frente as bactérias gram-negativas isoladas da Laguna da Jansen.

Espécie	Nº	Percentual (%)								
		Tetraciclina			Cefalotina			Cloranfenicol		
		R	I	S	R	I	S	R	I	S
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	5	60	20	20	100	0	0	0	40	60
<i>Citrobacter diversus</i>	16	38	13	50	94	6	0	0	19	81
<i>Citrobacter freundii</i>	10	40	0	60	100	0	0	0	0	100
<i>Citrobacter kosei</i>	2	50	50	0	100	0	0	0	50	50
<i>E. coli</i>	65	43	8	49	51	35	14	12	6	78
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	0	0	100	100	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	0	100	0	100	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	100	0	0	100	0	0	0	0	0
<i>Escherichia fergusonii</i>	6	17	33	50	83	17	0	17	17	67
<i>Hafnia alvei</i>	1	0	100	0	100	0	0	0	0	100
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	1	100	0	0	100	0	0	100	0	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3	67	0	33	100	0	0	0	0	100
<i>Klebsiella ozanae</i>	6	33	0	67	83	0	17	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0	0	100	100	0	0	0	0	100
<i>Kluyvera cryocrescens</i>	1	100	0	0	0	100	0	100	0	0
<i>Providencia spp</i>	1	100	0	0	100	0	0	100	0	0
<i>Salmonella sp.</i>	1	0	0	100	100	0	0	0	0	100
<i>Salmonella choleraesuis</i>	4	25	0	75	50	25	25	0	0	100
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0	0	100	100	0	0	0	0	100
TOTAL	127	41	10	49	70	21	9	9	9	73

Legenda. Nº (número de isolados); R (resistente); I (Intermediário); S (Sensível).

Um microrganismo é considerado multirresistente a antimicrobianos comerciais quando apresenta resistência a 3 ou mais classes de antibióticos (LICHTENFELS et al.; 2008; STANGE et al., 2016). Neste estudo, as espécies que apresentaram multirresistência as três classes de antibióticos testadas foram a *E. coli*, *E. fergusonii*, *Klebsiella ornithinolytica*, *Kluyvera cryocrescens* e *Providencia* spp.

Em 2017, a Organização Mundial da Saúde publicou uma lista de bactérias consideradas agentes patogênicos prioritários, devido a multiresistência a drogas, entre elas encontram-se *Pseudomonas aeruginosa* e membros da família Enterobacteriaceae, incluindo *E. coli* e *Klebsiella* sp. classificados como prioridade crítica, dados preocupantes, tendo em vista que as cepas de enterobactérias isoladas neste estudo apresentaram multiresistência a antibióticos comerciais.

O uso indiscriminado de antibióticos comerciais e a emissão de efluentes domésticos em águas ambientais exercem uma pressão seletiva sobre as bactérias presentes em ambientes aquáticos que geram a resistência a antibióticos, principalmente de bactérias gram-negativas, que possuem um maior potencial de adaptação a condições ambientais adversas (VASCONCELOS et al., 2010; FUENTEFRÍA et al., 2008).

Yang et al. (2018) realizaram uma meta-análise dos estudos já publicados sobre antibióticos e genes de resistência em águas de lagos ao longo do mundo. Eles verificaram que antibióticos de várias classes já foram identificados em lagos, como, sulfonamidas, tetraciclina e fenicóis avaliados neste estudo. Adicionalmente, também relataram que há forte adsorção dos antibióticos na água e no sedimento, principalmente de tetraciclina, fluoroquinonas e macrolídeos.

Recentemente, Hernández et al. (2019) que cepas de *E. coli* isoladas da água do mar na Antártica mostraram maior frequência de resistência a ampicilina, seguida de tetraciclina, trimetopim, sulfonamida, cefoxitina, estreptomicina, ácido naxílico e cefotaxima. Uma preocupação relatada pelos autores é a possibilidade de transferência horizontal de genes de resistência dessa bactéria para bactérias autóctones da Antártica.

Oliveira; Gomes e Moraes (2012) detectaram uma elevada frequência de resistência de cepas de *E. coli* isoladas de águas da praia do reservatório de Lajeado, Tocantins, a Tetraciclina (69%), Sulfametaxazol/trimetoprim (44 %) e Ampicilina (21%).

Vasconcelos et al. (2010) verificaram a multirresistência de 21% (n=9) cepas de *E. coli* a antibióticos comerciais isoladas de águas do açude Santo Anastácio (Fortaleza, CE), incluindo tetraciclina, sulfazotrin, ácido nalidixico e ciprofloxacina, sendo essas cepas sensíveis a betalactâmicos.

Figueredo et al. (2015) verificaram uma alta sensibilidade de cepas de *Salmonella* (n=90) isoladas de águas dos rios Acaraú e Jaguaribe do Ceará, apenas 13 cepas apresentaram resistência a mais de um antimicrobiano, em particular, a tetraciclina. Os autores destacam que a resistência a tetraciclina se deve ao uso de oxitetraciclina em pisciculturas comerciais na profilaxia de doenças bacterianas, uma preocupação é o fato desse antibiótico ser utilizado em casos de cólera, o que pode comprometer o tratamento.

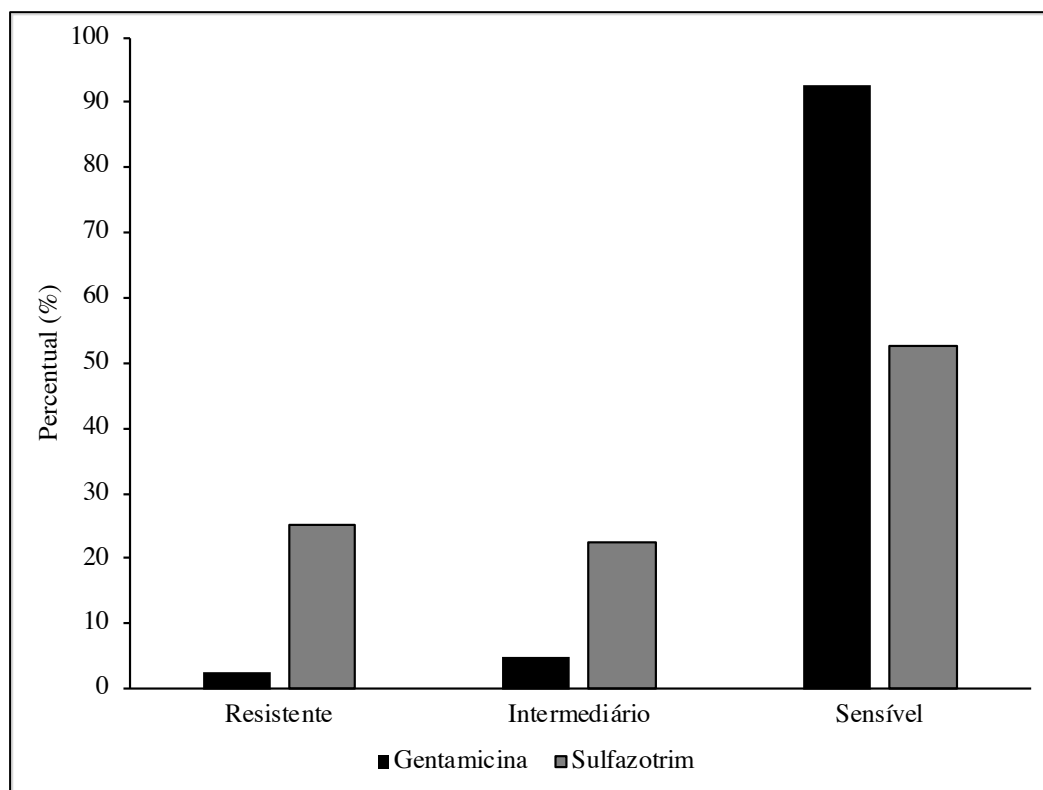
Rodrigues, Di Gioia e Rossi (2011) detectaram a resistência de 54% das cepas de *S. maltophilia* de origem hospitalar a ceftazidima e 23% a ticarcilina/clavulanato. Essa resistência é associada a baixa sensibilidade aos betalactâmicos, devido a membrana externa de bactérias gram-negativas ser impermeável a essa classe de antibióticos.

Dutra et al. (2010) verificaram uma alta sensibilidade a antibióticos comerciais de enterobactérias isoladas de pescados capturados no estuário do Bacanga. Todos os isolados apresentaram sensibilidade a azeotram. Entre as espécies que apresentaram resistência a antibióticos, como ampicilina, gentamicina, cefotaxima, trimetropim/sulfametoxazol e tetraciclina, estão a *E. coli*, *E. hermani*, *E. blatae*, *P. mirabilis* e *C. freundii*.

Em relação a atividade antibacteriana de antibióticos comerciais frente a *P. aeruginosa*, observa-se que a maioria das cepas apresentaram sensibilidade frente a gentamicina (92,5%). Apenas 25% das cepas apresentaram resistência a sulfazotrim (Figura 6).

Lamari, Chakrouna, Rtimi (2017) também verificaram 100% de sensibilidade das cepas de *P. aeruginosa* isoladas de peixe a gentamicina, o que demonstra que esse antibiótico pode ser uma boa opção para tratamento de infecções causadas por essas cepas. Fuentesfria et al. (2008) avaliaram a sensibilidade de 198 cepas de *P. aeruginosa* isolados de efluentes de um hospital de Passo Fundo, Rio Grande do Sul e de águas superficiais do rio Passo Fundo. Eles verificaram a resistência a carbapenêmicos dessa bactéria presente em amostras de água do Rio Passo Fundo, contudo, constataram que essa resistência está associada a emissão de efluentes domésticos e industrial, tendo em vista que os pontos que essa bactéria foi isolada não recebiam efluentes do hospital.

Figura 6. Atividade antibacteriana de antibióticos comerciais frente a cepas de *P. aeruginosa* isoladas da Laguna da Jansen.



Uma preocupação iminente é a emissão efluentes hospitalares sem tratamento em águas ambientais com resíduos de antibióticos que podem levar a uma seleção das bactérias desse ambiente e a resistência a antimicrobianos. A Laguna da Jansen encontra-se em uma região urbana em expansão e tem crescido o número de clínicas em seu entorno o que desperta uma grande preocupação devido aos índices de resistência apresentados nesse estudo que indicam que essas bactérias já tiveram contato com resíduos de antibióticos e exige um maior monitoramento não somente das águas, como no sedimento e peixes.

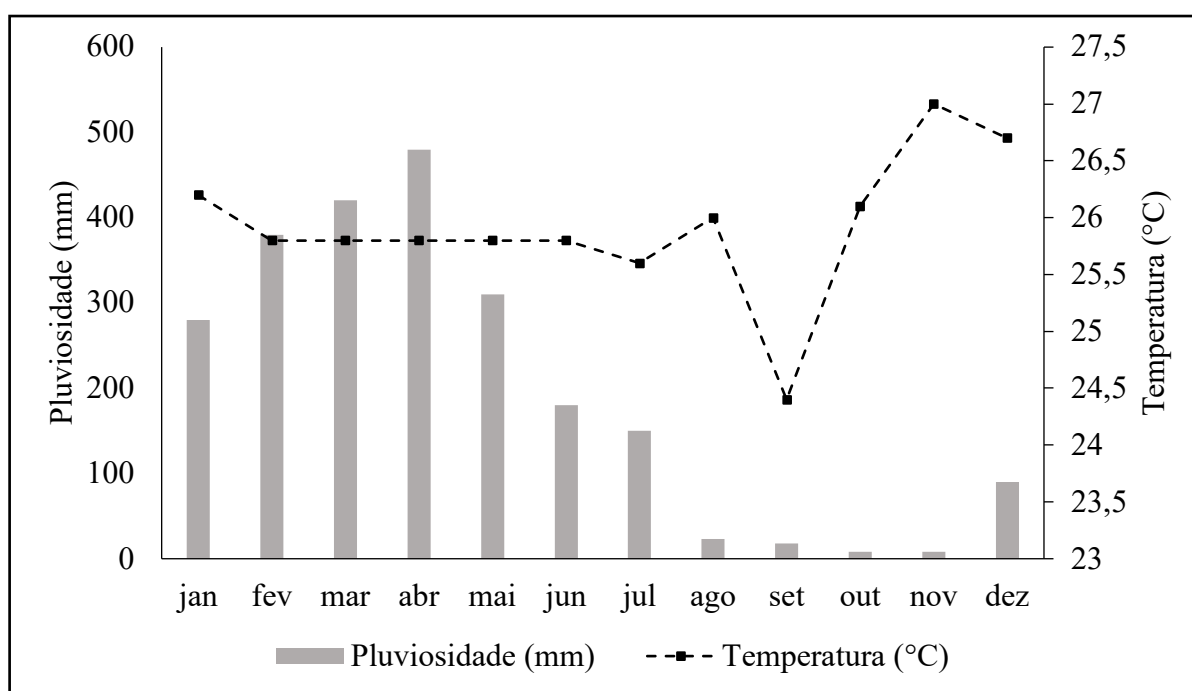
5.3 Avaliação dos parâmetros físico-químicos da água da Laguna da Jansen

A figura 7 apresenta dados de precipitação pluviométrica e temperatura do ar durante o período de coleta, compreendido entre janeiro a dezembro de 2018. O regime de chuvas

mais intenso nesse período concentrou-se nos meses de fevereiro a abril, com precipitações médias variando de 280 a 490 mm, respectivamente.

No mês de abril houveram os maiores índices de precipitações pluviométricas registrados no ano de 2018 para a cidade de São Luís-MA. No período de julho a novembro foram registrados baixos índices de precipitações, compreendidos entre 94 e 9 mm. A temperatura do ar variou de 24,8 a 27°C, sendo verificado as maiores temperaturas nos meses de agosto a dezembro e as menores temperaturas de fevereiro a julho. Com base nesses dados, esse estudo classificou os meses de fevereiro e abril como período chuvoso e de julho a novembro como período de estiagem.

Figura 7. Dados climatológicos de precipitação pluviométrica e temperatura do ar da Laguna da Jansen.

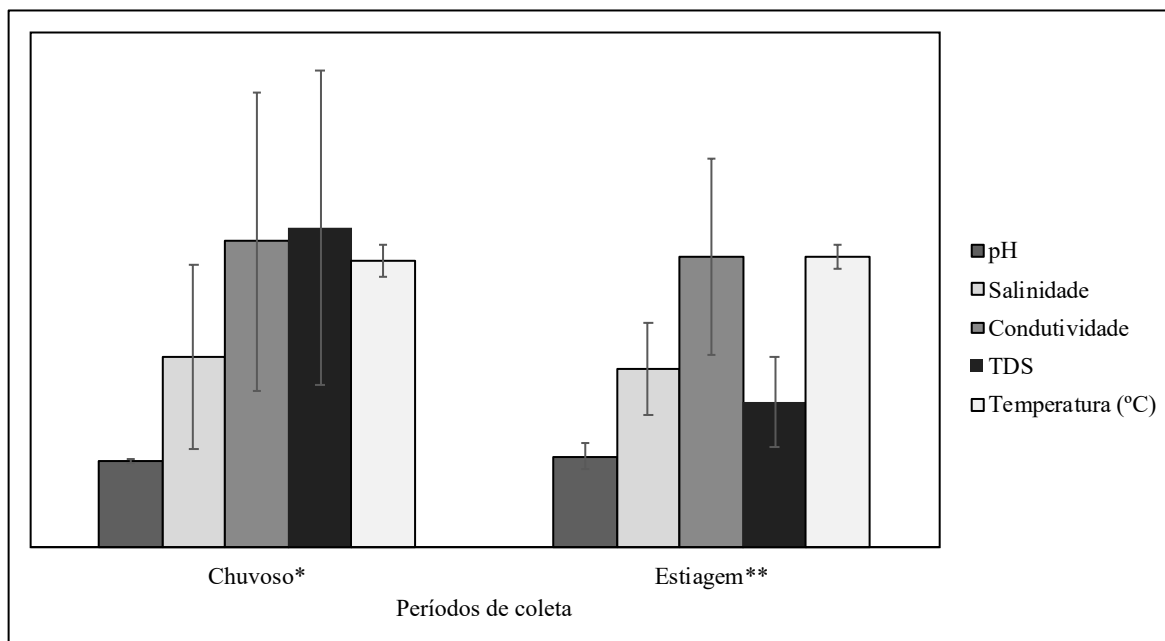


Fonte. Dados disponíveis no site do INPE (<http://clima1.cptec.inpe.br>), 2018.

A figura 8 apresenta os dados dos parâmetros físico-químicos analisados (pH, salinidade, sólidos solúveis, condutividade e temperatura da água) na água da Laguna da Jansen em cinco pontos de coleta durante os meses de fevereiro a dezembro de 2018, para avaliar a influência da estação chuvosa e seca sobre esses parâmetros. Os valores médios

dos parâmetros físico-químicos foram analisados usando o teste de correlação de Spearman para avaliar a influência da sazonalidade sobre as variáveis (APÊNDICE C).

Figura 8. Parâmetros físico-químicos obtidos na água da Laguna da Jansen.



Legenda. *Período chuvoso: meses de fevereiro e abril; **Período de estiagem: meses de julho, setembro e novembro.

O pH apresentou características alcalinas, tanto no período de estiagem como no período chuvoso, com valores médios variando de 8,4 (período chuvoso) a 8,7 (período de estiagem). O teste de correlação de Spearman indica uma fraca correlação ($r = 0,077$) com a pluviosidade, tendo em vista a baixa variação entre os valores médios. Não houve diferenças significativas entre os valores médios de pH. Segundo o CONAMA (BRASIL, 2005) águas salobras de classe I e II destinadas a preservação da vida aquática devem ter um pH em torno de 6,5 a 8,5. O pH médio encontrado nas águas da Laguna se encontra acima dos padrões estabelecidos pela legislação vigente, sendo considerado inadequado para a vida aquática.

O perfil alcalino da água da Laguna da Jansen também foi verificado por outros autores nos períodos de estiagem e chuvoso (CUTRIM et al., 2018; FERREIRA, 2013; CANTANHEDE et al., 2014). O pH alcalino de águas superficiais está associado a presença de bicarbonato e carbonatos. Em lagoas salinas com grande população de algas, nos dias ensolarados, o pH pode ser elevado, atingindo valores de 9 ou mais (MALONE et al., 2012). Cantanhede et al. (2014) argumentam que a prevalência de um pH alcalino em águas

ambientais aumenta a perda de nitrogênio para o meio, pois há uma maior transformação do íon amônio (NH_4^+) em amônia livre e gasosa (NH_3), o que pode influenciar no desenvolvimento da biota aquática.

Lima et al. (2014) ao analisarem as variações de pH em águas do estuário do rio Curuçá constataram que os valores de pH são influenciados pelo ciclo das marés. Os maiores valores de pH ocorreram na maré de sizígia uma maré de menor salinidade nesse estudo, com oscilações de 8,37 a 9,16. A acentuada elevação do pH da água pode ocasionar impactos negativos sobre o crescimento da maioria das bactérias sensíveis a variações de pH entre 6 a 9 podendo reduzir a fotossíntese e gerar impactos sobre a vida aquática (PEREIRA, 2006). Neste estudo, as coletas foram realizadas preferencialmente nas marés de sizígia, o que justifica a maior alcalinidade da água.

O parâmetro salinidade apresentou variabilidade sazonal, com correlação negativa ($r=-0,388$) com a pluviosidade. A medida que aumentou o índice de chuvas reduziu a salinidade. Os valores médios de salinidade variaram de 18,5 a 17,4 ‰, no período chuvoso e de estiagem, respectivamente, indicando um ambiente de águas salobras. Não houve diferenças significativas entre os valores de salinidade.

A salinidade é um parâmetro importante para definir o uso de uma água, sendo relacionado a clorinidade, ou seja, a quantidade de cloreto em gramas por quilo de água (OLIVEIRA; CAMPOS; MEDEIROS, 2010). Segundo CONAMA (BRASIL, 2005) as águas podem ser classificadas com base na sua salinidade em águas salobras (águas com salinidade superior a 0,5 ‰ e inferior a 30 ‰) e águas salinas (águas com salinidade igual ou superior a 30 ‰).

A água da Laguna da Jansen tem sido caracterizada como águas salobras em estudos anteriores. Cutrim et al. (2018) detectaram valores médios de salinidade inferiores a 30 g. kg^{-1} na água da Laguna da Jansen, sendo observado maiores valores de salinidade no período de estiagem. Ferreira (2013) também verificou variações de salinidade nas águas da Laguna da Jansen analisadas nas campanhas de 2011 e 2012, de 16,81 a 37,05 ‰. Essas variações foram associadas com o balanço hídrico ocasionado pela entrada de água doce na Laguna pela ação das chuvas, sendo observado que período chuvoso menor salinidade nos pontos analisados, devido a diluição dos sais presentes na água.

A condutividade é um parâmetro adequado para correlacionar com a salinidade, pela quantidade de sais na água. Conforme observado na salinidade as variações sazonais também apresentou uma baixa correlação negativa ($r=-0,137$) sobre os valores de condutividade. Os

valores médios de condutividade no período chuvoso e de estiagem foram de 29,6 mS.cm⁻¹ e 28,23 mS.cm⁻¹, não havendo diferenças significativas entre eles.

O parâmetro de sólidos solúveis totais (TDS) também apresentou variação sazonal, com correlação positiva ($r=0,764$) entre o período chuvoso e de estiagem, variando de 30,9 a 14,1 mg.L⁻¹, respectivamente, com diferenças significativas. Ferreira (2013) verificou uma instabilidade nos valores detectados de TDS que oscilaram de 13,95 mg.L⁻¹ a 27,97 mg.L⁻¹ e destaca que a ocorrência desses sólidos deve-se ao mangue proveniente do igarapé Ana Jansen e a ressuspensão do sedimento na coluna d'água. A elevada presença de sólidos solúveis dissolvidos também pode estar associada a níveis mais altos de matéria orgânica ou inorgânica, influenciados pelos maiores índices pluviométricos.

A temperatura média da água da Laguna da Jansen durante as coletas variou de 27,2±1,6 a 29,3°C±1,2, para o período chuvoso e de estiagem, respectivamente. Não houve diferenças significativas entre os valores médios de temperatura. A temperatura apresentou uma fraca correlação negativa ($r=-0,225$) em relação a pluviosidade. A medida que aumenta a pluviosidade ocorre uma redução na temperatura da água e o contrário também é observado para o período de estiagem. Outro fator que também pode influenciar na temperatura da água é a incidência de raios solares que são menores no período chuvoso.

Variações na temperatura da água de lagoas de regiões tropicais pode afetar o metabolismo bacteriano. De fato, Scofield et al. (2015) demonstraram que o aumento de 1°C na temperatura da água de lagoas de regiões tropicais diminui em 4% a eficiência do crescimento de bactérias. Além disso, também foi verificado que baixas concentrações de oxigênio dissolvido na água exerce uma influência negativa sobre o metabolismo de bactérias, principalmente, quando existe um aumento de N (nitrogênio) e P (fósforo). Na Laguna da Jansen foi observado variações sazonais na temperatura da água de 1,2 a 1,6°C, que podem influenciar no crescimento de bactérias.

De acordo com Lima et al. (2014) os parâmetros físico-químicos, como condutividade, salinidade e sólidos solúveis dissolvidos são influenciados pela sazonalidade e os efeitos da maré. Neste estudo, a sazonalidade foi um fator que influenciou diretamente nessas variáveis, especialmente na estação chuvosa que ocasionou maiores valores.

6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que:

- Altas concentrações do NMP de coliformes termotolerantes na água foram encontradas apenas no mês de abril, no entanto, para águas salobras de classe II a água da Laguna da Jansen encontra-se dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente. Entretanto, como os maiores índices de contaminação foram encontrados no sedimento, há um problema constante de re-contaminação dessas águas agravados nos meses de maior pluviosidade, principalmente, devido aos fenômenos de ressuspensão, que tornam o seu uso um risco para atividades recreativas. Os peixes analisados estavam dentro dos padrões microbiológicos, com exceção da Urubarana, que pode estar relacionado com seu hábito alimentar;
- A presença de *E. coli* foi detectada na água, sedimento e peixe, além disso, também foram identificadas dezoito espécies de enterobactérias, o que demonstra que a Laguna da Jansen ainda apresenta índices de contaminação por patógenos de origem fecal. Os números de *Pseudomonas aeruginosa* foram superiores nos peixes, em comparação a água e o sedimento, o que demonstra que essa bactéria está melhor adaptada a este substrato;
- O *Clostridium perfringens* foi encontrado apenas no período de estiagem, tanto na água como no sedimento, não sendo detectado no peixe,
- Em relação a resistência a antibióticos comerciais, as enterobactérias mostraram uma boa sensibilidade ao cloranfenicol, o que demonstra que esse antibiótico é uma boa opção para o tratamento de infecções causadas por esses patógenos. Em contrapartida, a cefalotina e tetraciclina apresentaram os maiores índices de resistência. Ainda, cinco espécies de enterobactérias apresentaram multirresistência aos antibióticos comerciais testados, incluindo a *E. coli*, sendo considerado um risco crítico para a saúde pública;
- A maioria dos parâmetros físico-químicos analisados na água da Laguna da Jansen não variaram entre o período chuvoso e de estiagem, apenas os sólidos solúveis totais que aumentaram com o aumento da pluviosidade. Das bactérias analisadas, apenas o crescimento de *Clostridium perfringens* foi influenciado pelos baixos índices de pluviosidade.

REFERÊNCIAS

- ABREU, C. H. M.; CUNHA, A. C. Qualidade da água e índice trófico em rio de ecossistema tropical sob impacto ambiental. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v.22, n.1, jan/fev., p. 45-56, 2017.
- ALTHERTHUM, F. **Mecanismo de ação dos antibacterianos e Mecanismos de resistência**. In: TRABULSI, L.R; ALTERTHUM, F.(Orgs). Microbiologia. 4.ed. São Paulo: Atheneu, p.175-188, 2004.
- APHA: American Public Health Association, AWWA: American Water Works Association, WPCF: Water Pollution Control Federation. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 19ed. Washington, DC, USA: ed. APHA, 2005.
- ARAÚJO S. A.T.; SILVA, I; TACÃO, M. et al. Characterization of antibiotic resistant and pathogenic *Escherichia coli* in irrigation water and vegetables in household farms. **International Journal Food Microbiology**, v. 257, p. 192–200, 2017.
- AVILA, L.A. **Diversidade e potencial biotecnológico de *Pseudomonas* spp. de sedimentos de manguezais**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia, USP/Instituto Butantan/ IPT.31 p., São Paulo, 2012.
- BADGER, J. L.; STINS, M. F.; KIM, K. S. *Citrobacter freundii* invades and replicates in human brain microvascular endothelial cells. **Infection and Immunity**, v. 67, n. 8, p. 4208-15, Aug., 1999.
- BARBOZA, R.S.L.; BARBOZA, M.S.L.; PEZZUTI, J.C.B. Aspectos Culturais da Zooterapia e Dieta Alimentar de Pescadores Artesanais do Litoral Paraense. **Fragmentos de Cultura**, v. 24, n. 2, p. 267-284, 2014.
- BASSO, E.R. **Monitoramento e avaliação da qualidade da água de duas represas e uma lagoa no município de Ilha Solteira (SP)**. Ilha Solteira. 2006. 127f (Mestrado em Engenharia Civil). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira-SP, 2006.
- BEHERA, P.; MAHAPATRA, S.; MOHAPATRA, M.; KIM, J.Y. et al. Salinity and macrophyte drive the biogeography of the sedimentar bacterial communities in a brackish water tropical coastal lagoon. **Science of the Total Environment**, n. 595, p. 472–485, 2017.
- BERGEY, D.H., KRIEG, N.R., HOLT, J.G. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore, MD: Williams & Wilkins, 1994.
- BRANCO, C.C.; KOBAYASHI, A.; SADOYAMA, G.; VIEIRA, J.D.G. Determinação da resistência antimicrobiana associada em isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* em um hospital público de Goiânia, Estado de Goiás. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 42(4):404-410, jul-ago, 2009.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA. **Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n. 12, de 02 de janeiro de 2001**. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 10 de janeiro,

2001. Seção 1, p.45-53.

BRASIL. Ministério da Saúde. 2011. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. **Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.** Diário Oficial da União.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de procedimentos de vigilância em saúde ambiental relacionada á qualidade de água para consumo humano.** Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 284p.

BRIQUAIRE, R. et al. Application of a paper based device containing a new culture medium to detect *Vibrio cholerae* in water samples collected in Haiti. **Journal of Microbiological Methods**, v. 133, p. 23–31, 2017.

BROOKE, J. S. “*Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen” **Clinical microbiology reviews**, v. 25, n. 1, p. 2-41, 2012.

BURKHARDT III, W.; CALCI, K.R.; WATKINS, W.D.; RIPPEY, S.R.; CHIRTEL, S.J. Inactivation of indicator microorganisms in estuarine waters. **Water Research**. Vol. 34, No. 8, pp. 2207-2214, 2000.

CALDORIN, M.; DE ALMEIDA, I.A.Z. C.; PERESI, J.T.M.; ALVES, E.C. Ocorrência de *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) no Brasil e sua importância em saúde pública. **BEPA**, v. 10, 2013.

CANTANHÊDE, S.M.; MEDEIROS, A.M.; FERREIRA, F.S.; FERREIRA, J.R.C.; ALVES, L.M.C.; CUTRIM, M.V.J.; SANTOS, D.M.S. Uso de biomarcador histopatológico em brânquias de *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1972) na avaliação da qualidade da água do Parque Ecológico Laguna da Jansen, São Luís – MA. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.2, p.593-601, 2014.

CARS, O.; JASOVSKY, D. **Antibiotic resistance (ABR) - no sustainability without antibiotics.** Brief for GSDR 2015. ReAct – Action on Antibiotic Resistance, 2015.

CETESB (São Paulo). **Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2014.** CETESB. São Paulo: CETESB, 2015.

CHEN, J. et al. Epidemiology of foodborne disease outbreaks caused by *Vibrio parahaemolyticus* during 2010 and 2014 in Zhejiang Province, China. **Food Control**, v. 77, p. 110-115, 2017.

CHUKWU, E.E.; NWAOKORIE, F.O.; COKER, A.O.; AVILA-CAMPOS, M. J.; SOLIS, R.L.; LLANCO, L.A.; OGUNSOLA, F.T. Detection of toxigenic *Clostridium perfringens* and *Clostridium botulinum* from food sold in Lagos, Nigeria. **Anaerobe**, v. 42, p. 176 - 181, 2016.

CLSI. **Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition.** Replaces M02-A10. Vol. 29 No. 1. Jan. 2012.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA Nº 357, de 17 de março de 2005. Classificação das águas doces, salobras e salinas do território nacional.

Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 17 de março de 2005. Secção 1, p.11356-11361.

COSTA, C.F.M. et al. Enterobacteria identification and detection of diarrheagenic *Escherichia coli* in a Port Complex. **Brazilian Journal of Microbiology**, vol.45, n.3, p.945-952, 2014.

CUTRIM, M.V.J. et al. Trophic state of an urban coastal lagoon (northern Brazil), seasonal variation of the phytoplankton community and environmental variables. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 2018.

D'AGUILA, P.S.; ROQUE, O.C.C.; MIRANDA, C.A.S.; FERREIRA, A.P. Avaliação da qualidade de água para abastecimento público do Município de Nova Iguaçu. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 16(3), p.791-798, jul-set, 2000.

DOI, S.A.; OLIVEIRA, A. J.F.C.; BARBIERI, E. Determinação de coliformes na água e no tecido mole das ostras extraídas em Cananéia, São Paulo, Brasil. **Eng Sanit Ambient**, v.20, n.1, P. 111-118, jan/mar 2015.

DUTRA, D. R. **Condições higiênico-sanitárias e perfil da sensibilidade antimicrobiana de enterobactérias isoladas de pescados frescos do estuário do Bacanga**. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente). Universidade Federal do Maranhão. 2009.

EGERTON, S.; CULLOTY, S.; WHOOLEY, J.; STANTON, C.; ROSS, R. P. The Gut Microbiota of Marine Fish. **Frontiers in microbiology**, n. 9, v. 873, 2018. doi:10.3389/fmicb.2018.00873

FARIAS, K.L.; TRINDADE, R.C.; ALCÂNTARA, A.V. Ocorrência de *E. coli* (EPEC e EIEC) no sururu, *Mytella guayanensis* Lamarck, e na água do estuário do rio vaza barris (Sergipe, Brasil). **Arquivos Ciências do Mar**, Fortaleza, 43(2): 66 – 70, 2010.

FENT, K; WESTON, A.A; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. **Aquatic Toxicology**, n. 76, p.122–159, 2006.

FERGUSON, C.; COOTE, B.; ASHBOLT, N.; STEVENSON, I. Relationships between indicators, pathogens and water quality in an estuarine system. **Water Research**, v. 30, p. 2045–2054, 1996.

FERRAREZE, M.V.G.; LEOPOLDO, V.C.; ANDRADE, D.; SILVA, M.F.I.; HAAS, V.J. *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente em unidade de cuidados intensivos: desafios que procedem?. **Acta Paul Enferm**, v. 20(1), p. 7-11, 2007.

FIGUEREDO, F.V.; CARVALHO, F.C.T.; FALAVINA, E.M.; HOFER, E.; SOUSA, O. V.; VIEIRA, R.H.S. F. Isolamento de salmonella resistente a antimicrobianos em duas regiões estuarinas do estado do ceará, brasil. **Arq. Ciên. Mar**, Fortaleza, 48(2): 49 – 56, 2015.

FUENTEFRIA, D. B.; FERREIRA, A. E.; GRÄF, T.; CORÇÃO, G. *Pseudomonas aeruginosa*: disseminação de resistência antimicrobiana em efluente hospitalar e água superficial. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 5, p. 470-473, set-out., 2008.

GAO, F. et al. *Vibrio ishigakensis* sp. nov., in *Haliotocoli* clade isolated from seawater in Okinawa coral reef area, Japan. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 39, p. 330–335, 2016.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Sistema de Gestão: Qualidade e Segurança dos Alimentos**. São Paulo: Manole, 2013.

GIL, E.S.; MATHIAS, R.O. Classificação e riscos associados aos resíduos químicos – Farmacêuticos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, p. 87-93, 2005.

GONZALEZ, A.M.; PARANHOS, R.; LUTTERBACH, M.S. Relationships between fecal indicators and pathogenic microorganisms in a tropical lagoon in Rio de Janeiro, Brazil. **Environ Monit Assess** (2010) 164:207–219.

GRIMES, D. J.; ATWELL, R. W., BRAYTON, P. R.; ROLLINS, D. M.; ROSZAK, D. B.; SINGLETON, F. L.; TRAMPLIN, M. L.; COLWELL, R. R. The fate of enteric pathogenic bacteria in estuarine and marine environments. **Microbial Sciences**, v. 3, n. 11, p. 324 – 329, 1986.

GUERRA, N.M.M.; OTENIO, N.H.; SILVA, M.E.Z.; GUILHERMETTI, M.; NAKAMURA, C.V.; UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS FILHO, B.P. Ocorrência de *Pseudomonas aeruginosa* em água potável. *Acta Sci. Biol. Sci. Maringá*, v. 28, n. 1, p. 13-18, jan/mar, 2006.

HAMMER, O.; HARPER, D. A. T. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. **Palaeontologia Electronica**, n. 4, v. 1, p. 1–9, 2001. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.05.025>.

HENRY, R.; SCHANG, C.; KOLOTELO, P.; COLEMAN, R.; ROONEY, G.;

HERNÁNDEZ, F., CALISTO-ULLOA, N., GÓMEZ-FUENTES, C., GÓMEZ, M., FERRER, J., GONZÁLEZ-ROCHA, G., MONTORY, M. Occurrence of antibiotics and bacterial resistance in wastewater and sea water from the Antarctic. *Journal of Hazardous Materials*, n. 363, p. 447–456, 2019.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.027>

IOC/UNESCO, IMO, FAO, UNDP. **A Blueprint for Ocean and Coastal Sustainability**. IOC/UNESCO, Paris, 2011.

ISA - Instituto Socioambiental. **Área de Proteção Ambiental: Lagoa da Jansen**. Disponível em: < <https://uc.socioambiental.org/uc/581452> >. Acesso em: 27/11/2018.

JACKSON, L.C.; REYES, L.A.M.; CORDIES, M.L.H. Principios generales de la terapêutica antimicrobiana. **Acta Medica**, v. 8, n.1, p. 13-27, 1998.

JAKSIC, S.; UHITIL, S.; PETRAK, T.; BAZULIC, D.; KAROLYI, L. G. Occurrence of *Vibrio* spp. In sea fish, shrimps and bivalve molluscs harvested from Adriatic sea. **Food Control**, v. 13, p. 491-493, 2002.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artemed, 2005.

JED, A.F.; CRAM, J.A.; NEEDHAM, D. M. Marine microbial community dynamics and

their ecological interpretation. **Nature Reviews: Microbiology**. v.13. 2015.

JORCIN, A. Physical and chemical characteristics of the sediment in the estuarine region of Cananéia (SP), Brazil. **Hydrobiologia**, p. 431: 459, 2000.

KARBASDEHI, V. N.; DOBARADARAN, S.; NABIPOUR, I.; OSTOVAR, A. et al. Indicator bacteria community in seawater and coastal sediment: the Persian Gulf as a case. **Journal of Environmental Health Science & Engineering**, p. 15:6, 2017.

KATUPOTHA, K.N.J. Mangroves in lagoon ecosystems: a neglected Habitat in sri lanka. **Wildlanka**, Vol.4, No.3, pp. 079 - 105, 2016.

KHAN, N.H.; AHSAN, M.; TAYLOR, W.; KAZUHIRO KOGURE, D. Culturability and Survival of Marine, Freshwater and Clinical *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbes and Environments**, v. 25, 2010.

KJERFVE, B. **Coastal Lagoon Process**. Elsevier Oceanography Series. 1994. 599p.

LABORCLIN. **Manual para antibiograma: método de difusão de discos**. n.04, 2011.

LAMARIA, F.; CHAKROUNA, I.; RTIMI, S. Assessment of the correlation among antibiotic resistance, adherence to abiotic and biotic surfaces, invasion and cytotoxicity of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from diseased gilthead sea bream. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 158, p. 229–236, 2017.

LEFEBVRE, A.; LUCET, J.C.; BERTRAND, X.; CHAVANET, P.; ASTRUC, K.; QUANTIN, C.; VANHEMS, P.; AHO-GLÉLÉ, L.S. Detection of temporal clusters of health care–associated infections or colonizations with *Pseudomonas aeruginosa*. **American Journal of Infection Control**, v. 45, p. 72-4, 2017.

LICHTENFELS, E.; FRANKINI, A. D.; PALUDO, J.; d'AZEVEDO, P. A. Prevalência de resistência bacteriana nas infecções de ferida operatória em cirurgia arterial periférica . **J Vasc Bras**, v. 7, n. 3, p. 239-247, 2008.

LOPES, M.J.S. **Levantamento prévio do zooplâncton da Lagoa da Jansen, São Luís, Maranhão (Brasil)**. Relatório do projeto de Levantamento e Monitoramento Ecológico da Lagoa da Jansen, São Luís-MA. 1988.

LOPES, P. R. D. Nota sobre a alimentação de *Albula vulpes* (Linnaeus, 1758) (Actinopterygii: Albulidae) na praia de Jaguaribe (Ilha de Itamaracá), Pernambuco. **Sitientibus: Feira de Santana**, n. 20, p. 15-22, jan./jun. 1999.

MALA, W. et al. Antimicrobial resistance and genetic diversity of the SXT element in *Vibrio cholerae* from clinical and environmental water samples in northeastern Thailand. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 52, p. 89–95, 2017.

MALONE, C.F.S.; SANTOS, K.R.S.; SANT'ANNA, C.L. Algas e cianobactérias de ambientes extremos do pantanal brasileiro. **Oecologia Australis**. 16(4): 745-755, dezembro 2012.

MANAFI, M.; WALDHERR, K.; KUNDI, M. Evaluation of CP Chromo Select Agar for the enumeration of *Clostridium perfringens* from water. **International Journal of Food Microbiology** 167 (2013) 92–95.

MARANHÃO. **Decreto municipal nº 28.690, de 14 de novembro de 2012.** 2012.

MARANHÃO. **Decreto municipal nº 4.878 de 23 de junho de 1988.** 1988.

MARTINS, A.G.L.A.; NASCIMENTO, A.R.; VIEIRA, R.H.S.F.; SERRA, J. L.; ROCHA, M.M.R.M. Quantificação e identificação de *Aeromonas spp.* em águas de superfícies do Estuário do Rio Bacanga em São Luís-MA. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba v. 27, n. 1, p. 107-118 jan./jun. 2009

MASULLO, Y.A.G.; FERREIRA, A.R.F.; SANTOS, A.F.; SOARES, A.B.C.; FERREIRA, A. P. Análise multitemporal do uso da ocupação do solo da Lagoa da Jansen-MA. In: **Anais do Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**. 2014.

MCLELLAN, S.L.; FISHER, J.C. ; NEWTON, R.J. The microbiome of urban waters. **Int Microbiol.** v. 18, n. 3, p. 141-149, 2015.

MMA. Gerência de Biodiversidade Aquática e Recursos Pesqueiros. **Panorama da conservação dos ecossistemas costeiros e marinhos no Brasil**. Brasília: MMA/SBF/GBA, 2010. 148 p.

MONTEIRO, D.T.L.; CATTER, K.M.; ROCHA, R.S.; FONTELES-FILHO, A. A.; VIEIRA, R.H.S.F. Qualidade bacteriológica da areia e água de duas praias do litoral cearense. **Arq. Ciên. Mar**, Fortaleza, 2015, 48(2): 41 – 48.

MORESCO, V.; VIANCELLI, A.; NASCIMENTO, M. A.; SOUZA, D.S.M.; RAMOS, A.P.D.; GARCIA, L.A.T.; SIMÕES, C.M.O.; BARARDI, C.R.M. Microbiological and physicochemical analysis of the coastal Waters of southern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, p. 40–48, 2012.

MOTA, R.A.; SILVA, K.P. C.; FREITAS, M.F.L., PORTO, W.J.N.; SILVA, L.B.G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Braz J vet Res anim Sci**, São Paulo, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.

NASCIMENTO, A.R. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais frente a bactérias isoladas de sururu (*Mytella falcata*)**. Lavras. 2004, 91f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG, 2004.

NASCIMENTO, E.D.; MAIA, C.M.M.; ARAÚJO, M.M.F. Contaminação da água de reservatórios do semiárido potiguar por bactérias de importância médica. **Rev. Ambient. Água**, vol. 11, n. 2, Taubaté – Apr./Jun., 2016.

OLIVEIRA, C.N.; CAMPOS, V.P.; MEDEIROS, Y.D.P. Avaliação e identificação de parâmetros importantes para a qualidade de corpos d'água no semiárido baiano. estudo de caso: bacia hidrográfica do Rio Salitre. **Química. Nova**, v. 33, n. 5, p. 1059-1066, 2010.

OLIVEIRA, K.W.; GOMES, F.C.O.; MORAIS, P.B. Ocorrência de *Escherichia coli* multirresistentes a antimicrobianos nas principais praias do reservatório de lajeado - TO. **Engenharia Ambiental** - Espírito Santo do Pinhal, v. 9, n. 3, p. 338-351, jul /set . 2012.

OMS – Organização Mundial de Saúde. **Cholera**, 2013. Weekly Epidemiological Record 89, p. 345–355, 2014.

OMS - Organização Mundial de Saúde. **Interim Practical Manual supporting national implementation of the WHO Guidelines on Core Components of Infection Prevention and Control Programmes**. Geneva: World Health Organization; 2017.

OMS- Organização Mundial de Saúde. **OMS publica lista de bactérias para as quais se necessitam novos antibióticos urgentemente**. Publicado em: 27/02/2017. Disponível em: <https://www.paho.org/bra>. Acesso em: 08/02/2019.

PAIVA, T. V. **Avaliação das condições microbiológicas da água e peixes do Rio Mearim, no município de Bacabal-MA**. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente). Universidade Federal do Maranhão. 2016.

PANDEY A.; JOSHI, V. K.; NIGAM, P.; SOCCOL, C.R. Enterobacteriaceae, Coliforms and E. coli. **Encyclopedia of Food Microbiology**, volume 1, pp 604–610, 2014.

PARENTE, L. S.; COSTA, R. A.; VIEIRA, G. H. F.; REIS, E. M. F. et al. Bactérias entéricas presentes em amostras de água e camarão marinho *Litopenaeus vannamei* oriundos de fazendas de cultivo no Estado do Ceará, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 48, n. 1, p. 46-53, 2011.

PECK, M.W. Clostridium botulinum. **Encyclopedia of Food Microbiology**, volume 1, pp 604–610, 2014.

PEIX, A.; BAHENAC, M.H.R.; VELÁZQUEZ, E. The current status on the taxonomy of *Pseudomonas* revisited: An update. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 57, p.106–116, 2018.

PEREIRA, C.T.C.; **Caracterização Hidrogeoquímica do Estuário do Rio Curuçá** (Município de Curuçá – NE do Pará). 123f. 2006. Dissertação de mestrado. Centro de Geociências. Programa de Pós-Graduação em Geologia e Geoquímica. Universidade Federal do Pará. 2006.

PERILLO, G.M.E.; PICCOLO, M.C.; PINO-QUIVIRA, M. **Estuaries of South America: their geomorphology and dynamics**. Springer. 1999. 236p.

PINTO, A. B.; OLIVEIRA, A.J.F.C. Diversidade de microrganismos indicadores utilizados na avaliação da contaminação fecal de areias de praias recreacionais marinhas: estado atual do conhecimento e perspectivas. **O Mundo da Saúde**, São Paulo: 2011;35(1):105-114.

PINTO, A.B.; PEREIRA, C.R.; OLIVEIRA, A.J.F.C. Densidade de Enterococcus sp em águas recreacionais e areias de praias do município de São Vicente-SP, Brasil e sua relação com parâmetros abióticos. **O Mundo da Saúde**, São Paulo - 2012;36(4):587-593.

RANJAN, K. P.; RANJAN, N. Citrobacter: An emerging health care associated urinary pathogen. **Urology Annal**, v. 13, n. 5, p. 313-4, 2013.

RAPINI, L.S.; TEIXEIRA, J.P.; MARTINS, N.E.; CERQUEIRA, M.M.O.P. et al. Perfil da resistência antimicrobiana de cepas de Staphylococcus sp. isoladas de queijo tipo coalho. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v.56, n.1, p.130-133, 2004.

REVIEW ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE, 2014. **Review on Antimicrobial**

Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations.

RODRIGUES, L. S.; DI GIOIA, T. S. R.; ROSSI, F. *Stenotrophomonas maltophilia*: resistência emergente ao SMX-TMP em isolados brasileiros. Uma realidade?. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 5, p. 511-517, out., 2011.

RODRIGUEZ, M.T.T.; OLIVEIRA, A.E.Q.; SOUSA, O.V.; VIEIRA, R.S.F. Presença de pseudomonas e enterococcus em galerias pluviais e em águas marinhas receptoras na cidade de fortaleza, ceará. **Arq. Ciên. Mar**, Fortaleza, 2015, 48(1): 49 – 56.

ROJAS, M.A.O. I.; COSTA NETO, J.J.G.; BARBIERE, R.; SIQUEIRA, L.F.S. Avaliação físico-química da água da Laguna da Jansen, São Luís, Maranhão. **Acta tecnológica**, v. 8, n. 2, p. 19-24, 2013b.

ROJAS, M.A.O.I.; COSTA NETO, J.J.G.; SIQUEIRA, L.F.S.; CAVALCANTE, P.R.S. Caracterização físico-química do sedimento da Laguna da Jansen, São Luís, Maranhão. **Acta tecnológica**, v. 8, n. 2, p. 25-29 2013a.

ROZEN, Y.; BELKIN, S. Survival of enteric bacteria in seawater. **FEMS-Microbiology Reviews**, v. 25, p. 513-529, 2001.

SANTOS, P.R.N. M.; KOLM, H.E.; SAUTTER, K.D. Bactérias em sedimentos da região entre-marés da Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 12, n. 1, p. 9-17, 2008.

SCHAECHTER, M; ENGLEBERG, N.C; EISENSTEIN, B.I; MEDOFF, G. **Microbiologia**. Mecanismos das doenças infecciosas. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

SCHMIDT, J.; DELETIC, A.; MCCARTHY, D.T. Effect of environmental parameters on pathogen and faecal indicator organism concentrations within an urban estuary. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 174, p.18 e 26, 2016.

SCOFIELD, V.; JACQUES, S.M.S.; GUIMARÃES, J.R.D.; FARJALLA, V. F. Potential changes in bacterial metabolism associated with increased water temperature and nutrient inputs in tropical humic lagoons. **Frontier Microbiology**, v. 6, p. 310, 2015. doi: 10.3389/fmicb.2015.00310

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3.ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007.

SILVA, N.; SILVEIRA, N.F.A.; YOKOYA, F.; OKAZAKI, M.M. Ocorrência de *Escherichia coli* O157:H7 em vegetais e resistência aos agentes de desinfecção de verduras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 2, v. 23, p. 167-173, mai-ago., 2003.

SILVA, V.C. **Avaliação das condições higiênico-sanitárias da água das praias do município de São Luís-MA**. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente). Universidade Federal do Maranhão. 2006.

STANGE, C.; SIDHU, J. P. S.; TIEHMA, A.; TOZE, S. Antibiotic resistance and virulence genes in coliform water isolates. **International Journal of Hygiene and**

Environmental Health, v. 219, p. 823–831, 2016.

STEWART, J.R.; GAST, R.J.; FUJIOKA, R.S.; SOLO-GABRIELE, H.M. et al. The coastal environment and human health: microbial indicators, pathogens, sentinels and reservoirs. **Environmental Health**, v. 7, 2008. doi:10.1186/1476-069X-7-S2-S3

TAVARES, W. **Antibióticos e quimioterápicos para o clínico**. São Paulo: Editora Atheneu, 2007.

TRABULSI, L.R & ORDENEZ, J.G. *Escherichia coli* enteropatogênicas. In: TRABULSI, L.R; ALTERTHUM, F.(Orgs). Microbiologia. 4.ed. São Paulo: Atheneu, p.175-188, 2004.

TRINDADE, W. N.; PEREIRA, L.C.C.; GUIMARÃES, D.O.; SILVA, I.R.; COSTA, R.M. The effects of sewage discharge on the water quality of the beaches of São Luís (Maranhão, Brazil). **Journal of Coastal Research, Special Issue**, v. 64, 2011.

VASCONCELOS, F.C.S.; IGANCI, J.R.V.; RIBEIRO, G.A. Qualidade Microbiológica da água do Rio São Lourenço, São Lourenço do Sul, Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v.73, n.2, p.177-181, abr./jun., 2006.

VASCONCELOS, F.R.; REBOUÇAS, R.H.; EVANGELISTA-BARRETO, N.S.; VIEIRA, R.H.S.F. Perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas do açude Santo Anastácio, Ceará, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico** (São Paulo), v.77, 2010.

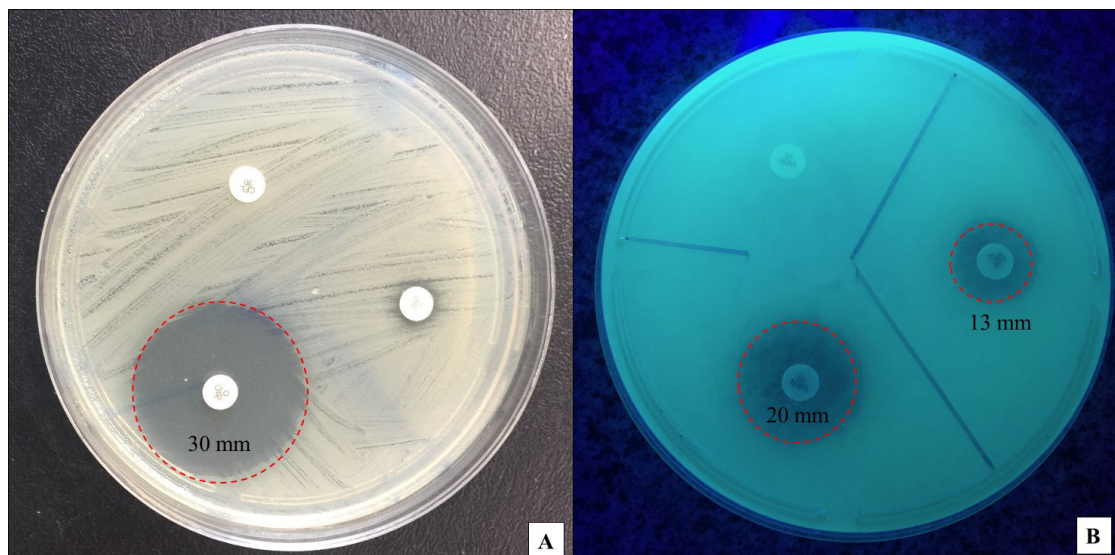
VIEIRA, R.H.S.F.; SILVA, A. I. M.; SOUSA, O.V.; HOFER, E.; VIEIRA, G.H.F.; SAMPAIO, S. S.; LIMA, E. A. Análise experimental sobre a viabilidade de *Escherichia coli* em água do mar. **Arquivos Ciência do Mar**, Fortaleza, v. 34, p. 43 – 48, 2001.
YANG, Y.; SONG, W.; LIND, H.; WANG, W.; DUE, L.; XING, W. Antibiotics and antibiotic resistance genes in global lakes: A review and meta-analysis. **Environment International**, v. 116, p. 60–73, 2018.

APÊNDICES

APÊNDICE A. Correlações entre sazonalidade (período chuvoso e de estiagem) e os parâmetros físico-químicos da água. O teste de correlação de Spearman foi aplicado para avaliar a possibilidade de correlação entre esses parâmetros e a influência da sazonalidade.

	Colif. Termot.	Pseudomonas	Clostridium	pH	Salinidade	Condutividade	TDS	Temperatura	Pluviosidade
Colif. Termot.		0.52247	0.2002	-0.30375	-0.56488	-0.47649	0.12239	-0.27228	0.037443
Pseudomonas	0.52247		0.093014	0.0078599	-0.69042	-0.62267	0.069275	-0.54429	-0.098577
Clostridium	0.2002	0.093014		0.2389	-0.070799	0,000	-0.66617	0.37184	-0.67937
pH	-0.30375	0.0078599	0.2389		0.069225	0.2117	-0.069669	0.26797	0.076544
Salinidade	-0.56488	-0.69042	-0.070799	0.069225		0.98647	-0.12782	0.38285	-0.38778
Condutividade	-0.47649	-0.62267	0,000	0.2117	0.98647		0.11538	0.3836	-0.13728
TDS	0.12239	0.069275	-0.66617	-0.069669	-0.12782	0.11538		-0.5047	0.76485
Temperatura	-0.27228	-0.54429	0.37184	0.26797	0.38285	0.3836	-0.5047		-0.225
Pluviosidade	0.037443	-0.098577	-0.67937	0.076544	-0.38778	-0.13728	0.76485	-0.225	

APÊNDICE B. Halos de inibição (mm) em testes de sensibilidade a antibióticos comerciais.
Escherichia coli (A) e *Pseudomonas aeruginosa* (B).



APÊNDICE C. Parâmetros físico-químicos da água da Laguna da Jansen.

Parâmetro	Unidade	Período	
		Chuvoso	Estiagem
pH	-	8,42 ^a	8,86 ^a
Salinidade	g. kg ⁻¹	18,499 ^a	17,386 ^a
Condutividade	mS.cm ⁻¹	29,647 ^a	28,226 ^a
TDS	mg.L ⁻¹	30,975 ^a	14,097 ^b
Temperatura	°C	27,81 ^a	28,22 ^a
Pluviosidade	mm	419 ^a	53 ^b