



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
AMBIENTAL**

NAYARA HALIMY MARAN

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ÁGUAS
SUBTERRÂNEAS UTILIZADAS PARA O
CONSUMO HUMANO E PERFIL DE
SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DOS
MICRORGANISMOS ISOLADOS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
AMBIENTAL**

**DOURADOS/MS
MAIO/2015**

NAYARA HALIMY MARAN

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ÁGUAS
SUBTERRÂNEAS UTILIZADAS PARA O
CONSUMO HUMANO E PERFIL DE
SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DOS
MICRORGANISMOS ISOLADOS**

**ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. KELLY MARI PIRES DE
OLIVEIRA**

Dissertação de mestrado submetida ao programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, como um dos requisitos necessários para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia na área de concentração Ciência Ambiental.

**DOURADOS/MS
MAIO/2015**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central - UFGD

M311q Maran, Nayara Halimy.
Qualidade microbiológica de águas subterrâneas utilizadas para o consumo humano e perfil de susceptibilidade antimicrobiana dos microrganismos isolados. / Nayara Halimy Maran. – Dourados, MS : UFGD, 2015.
62p.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Kelly Mari Pires de Oliveira.
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal da Grande Dourados.

1. Água subterrânea – Qualidade. 2. Poços- Água - Análise Microbiológica - Consumo. I. Título.

CDD – 628.1



Termo de Aprovação

Após apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora, foi emitido o parecer APROVADO, para a dissertação intitulada: **“Qualidade microbiológica de águas subterrâneas utilizadas para o consumo humano e perfil de susceptibilidade antimicrobiana dos microrganismos isolados”**, de autoria de **Nayara Halimy Maran**, apresentada ao Programa de Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados.

Prof.ª Dr.ª Kelly Mari Pires de Oliveira
Presidente da banca examinadora

Dr. Joelson Gonçalves Pereira
Membro Examinador (UFGD)
Prof.ª Dr.ª Liliam Silva Cândido
Membro Examinador (UFGD)

Dourados/MS, 28 de Maio de 2015

À Deus, por sempre me conceder sabedoria nas escolhas dos melhores caminhos, coragem para acreditar, força para não desistir e proteção para me amparar.

À minha família pelo amor, apoio, confiança e motivação incondicional. Que sempre me impulsiona em direção às vitórias dos meus desafios.

AGRADECIMENTO

Ao Ser Supremo, pela vida e a possibilidade de progredir nesse caminho evolutivo, por propiciar tantas oportunidades de estudos e por colocar em meu caminho pessoas amigas e preciosas.

À minha amada FAMÍLIA, especialmente aos meus pais e ao meu irmão, pelo exemplo de vida e superação, pelo amor incondicional e toda força, incentivo e apoio em minhas decisões, por serem sempre meu porto seguro, sem eles nada disto seria possível.

À minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Kelly Mari Pires de Oliveira, pela oportunidade, por ter compartilhado os saberes acumulados ao longo de sua brilhante carreira, pela orientação, a amizade, conselhos e confiança durante esta jornada.

Ao Anselmo Milhorança Neto, por todo amor, amizade, incentivo e por se manter incansável em suas manifestações de apoio, carinho e compreensão aos meus momentos de ausência, amo você!

À Stephanie Iahnn, pela colaboração, paciência e cada minuto de atenção dedicado, sem poupar esforços para tal auxílio.

À Prof^ª. Dr^ª. Alexéia Barufatti Grisolia, por todo apoio, disposição e dedicação.

Ao Bruno Crispim, pela parceria, auxílio e por compartilhar seus conhecimentos.

À toda equipe do Laboratório de Microbiologia aplicada, ao grupo de pesquisa FUNASA e a equipe do Laboratório de Microbiologia do Hospital Universitário/UFGD, que colaboraram para a elaboração e contribuíram para a execução deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação Ciência e Tecnologia Ambiental, a equipe de extensão UFGD/PROEX, as agentes de saúde e as secretarias de saúde de Itaporã e Caarapó.

À todos aqueles que colaboraram com a concretização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Muito obrigada!

Lista de Tabelas

Tabela 1. Parâmetros adotados pelo Brasil e Organização Mundial da Saúde para avaliação de qualidade de água para consumo humano.....	18
Artigo	
Tabela 1. Parâmetros físico-químicos das águas subterrâneas dos poços das cidades de Caarapó e Itaporã	36
Tabela 2. Quantidade de poços positivos para a presença de Coliformes Totais e <i>E. coli</i> , na cidade de Caarapó e Itaporã.....	37
Tabela 3. Relação entre profundidade dos poços e a contaminação por Coliformes Totais e <i>E. coli</i> , bactérias heterotróficas e leveduras.....	37
Tabela 4. Bactérias heterotróficas Gram negativas e Gram positivas isoladas dos poços.....	38

Lista de Figuras

Figura 1. Ilustração de três tipos de aquíferos quanto a sua porosidade.....	11
Figura 2. Representação dos aquíferos segundo sua pressão.....	12
Figura 3. Localização dos principais aquíferos	13
Figura 4. Localização das cidades de Caarapó e Itaporã, MS, Brasil.....	20
Artigo	
Figura 1. Poço Cavado.....	34
Figura 2. Poço Tubular.....	34

Resumo

Informações específicas sobre as condições das águas de poços fazem parte das políticas públicas nacionais e internacionais de saneamento básico, que visa garantir a qualidade da saúde de seus consumidores e monitorar as condições do ambiente. Em virtude do sabor residual do cloro nas águas tratadas da rede distribuição, alguns moradores optam pelo consumo da água de poços particulares como acontece com as cidades de Caarapó e Itaporã. O presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade das águas dos poços e o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das bactérias isoladas nas amostras de água. Os resultados físico-químicos apresentaram valores de pH ácido, turbidez abaixo de 5,0 NTU, cloro residual livre e flúor presente somente em 10,5% e 25,5%, respectivamente nas amostras. Das 66 amostras analisadas 33,33% foram positivas para a *Escherichia coli*, os poços cavados apresentaram contaminação em 66,66% das amostras para *E. coli* e os poços tubulares apresentaram apenas 10,25% de contaminação para a *E. coli* e foi possível o isolamento de bactérias resistentes e multirresistentes à Ampicilina, Ceftazidime, Ceftriaxone, Ciprofloxacina, Colistina, Eritromicina, Gentamicina, Imipenem, Oxacilina, Penicilina, Piperacilina, Sulbactam e Tazobactam. As condições das águas dos poços analisados podem colocar em risco a saúde dos consumidores, uma vez que a contaminação por *E. coli* está em desacordo com os padrões de potabilidade de leis vigentes, ainda que, a presença de bactérias resistentes no meio ambiente pode contribuir para uma crise global de resistência.

Palavras-chaves: Contaminação, Água Subterrânea, Poços, Bactérias Resistentes.

Abstract

*Specific information about the well water conditions are part of national and international public policies of sanitation, which aims to ensure the quality of the health of their end user and monitor environmental conditions. Because of the residual chlorine taste in the water treated in the distribution network, some residents opt for the consumption of water of private wells as with the towns of Caarapó and Itaporã. This present study objective to evaluate the quality of water from wells and the profile of antimicrobial susceptibility of the isolated bacteria in the water samples. The physicochemical results showed acidic pH values below 5.0 NTU turbidity, free residual chlorine and present only in 10.5% and 25.5% fluorine, respectively in the samples. Of the 66 samples analyzed 33.33% were positive for *Escherichia coli*, the dug wells contaminated in 66.66% of the samples for *E. coli* and wells showed only 10.25% of contamination for *E. coli* and was possible isolation of resistant and multidrug-resistant bacteria to Ampicillin, Cefazidime, Ceftriaxone, Ciprofloxacin, Colistin, Erythromycin, Gentamicin, Imipenem, Oxacillin, Penicillin, Piperacillin, Sulbactam and Tazobactam. The conditions of the waters of analyzed wells can endanger the health of consumers, since the *E. coli* contamination is at odds with the potability standards of applicable laws, though, the presence of resistant bacteria in the environment can contribute to a global crisis resistance.*

Keywords: Contamination, Groundwater, Wells, Resistant bacteria.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas.....	vii
Lista de Figuras.....	viii
Resumo.....	ix
<i>Abstract</i>	x
1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1. Águas subterrâneas	14
2.2. Poços	17
2.2.1. Poço cavado.....	17
2.2.2. Poço tubular.....	17
2.3. Doenças por veiculação hídrica.....	18
2.4. Contaminação de águas subterrânea.....	18
2.5. Resistência bacteriana.....	20
2.6. Legislações de monitoramento para água de consumo.....	21
2.7. Caracterização dos locais de estudo.....	22
2.7.1. Caarapó.....	22
2.7.2. Itaporã.....	23
3. OBJETIVOS	25
3.1. Objetivo Geral	25
3.2. Objetivos Específicos	25
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
ARTIGO.....	33
ANEXO I.....	52

1. INTRODUÇÃO

A água compõe 3/4 da superfície do planeta, sendo que 97% referem-se à água dos mares, 2,2% das geleiras e 0,8% a água doce. Desta porcentagem de água doce, 97% se encontram na forma de águas subterrâneas e 3% como águas superficiais. Esses dados ressaltam a grande importância de preservar os recursos hídricos disponíveis, pois apenas uma pequena parcela de 0,8% pode ser disponibilizada ao abastecimento público (SEMADS, 2001; SPERLING, 1996).

No Brasil a distribuição de água disponível para a utilização humana é desigual. Apesar de possuir 15% de toda água doce do planeta, o equivalente a 17 trilhões de m³ de água de acordo com Zampieron & Vieira, (2013) e Pontes & Schramm, (2004), uma considerável parte dos brasileiros ainda não tem acesso a água de boa qualidade.

A utilização das águas subterrâneas tem evoluído ao longo dos tempos, devido ao avanço das técnicas de construção de poços e dos métodos de bombeamento, aumentando a extração de água em volumes e em profundidades cada vez maiores, suprimindo as necessidades de água em cidades, indústrias e projetos de irrigação (ABAS, 2014).

O desenvolvimento de tecnologias como bombas elétricas de sucção de água, aumenta a capacidade de extrair água dos aquíferos, com maior rapidez que a reposição pela chuva (CETESB, 2014a). A extração da água dos grandes reservatórios, agregado a aspectos construtivos e péssima utilização dos poços, podem alterar a qualidade das águas subterrâneas (MOTTA & FRINHANI, 2012).

Processos humanos e/ou naturais, como a deposição de resíduos no solo provenientes dos depósitos de lixo ao céu aberto, cemitérios, fossas, construção inadequada de poços ou o abandono do mesmo, podem levar a contaminação dos recursos hídricos subterrâneos utilizados para consumo, que quando ingeridas pode causar infecções bacterianas, surtos ou sérios danos à saúde, além de custos sociais e econômicos (BREITENMOSER et al., 2011; EMMANUEL et al., 2009; MMA, 2007; PELCZAR et al., 2005).

Água potável é aquela destinada ao consumo humano cujos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos atendam os padrões estabelecido de potabilidade e não ofereça risco à saúde humana ou desequilíbrio ecológico aquático (CONAMA, 2008; BRASIL, 2004).

Contaminações microbiológicas da água é considerado pela Organização Mundial da Saúde, a principal preocupação quando relacionada às doenças vinculadas pela água e ao saneamento, sendo o acesso seguro de água potável um direito humano e essencial para qualidade da saúde (BAIN et al., 2014; WHO, 2011).

A presença de micro-organismos como coliformes totais e *Escherichia coli*, indicam à presença de patógenos nocivos à saúde humana, sendo que a presença ou ausência da *E. coli* é utilizada como critério de potabilidade (BOUBETRA et al., 2011; WHO, 2006).

Águas destinadas ao consumo humano proveniente de qualquer fonte de abastecimento estão sujeitas à vigilância de qualidade com análise microbiológica, corroborando com a investigação epidemiológica e a identificação sempre que possível, do gênero ou espécie do micro-organismo encontrado (BRASIL, 2011). A respeito disto, bactérias com perfil resistente a antimicrobianos já foram encontradas em água (WAHOME et al., 2014; MACHADO & BORDALO, 2014; RAMÍREZ CASTILLO et al., 2013; DIAS, et al., 2012; MUKHOPADHYAY et al., 2012) favorecendo a transmissão de genes de resistência para a população. Análises e informações específicas sobre as fontes de água locais são importantes para melhoria da condição ambiental e da comunidade (ARNOLD et al., 2013).

A resistência dos consumidores ao tratamento com o cloro, devido ao sabor residual, gera uma preferência de consumo de água *in natura* do poço, como ocorre nas cidades de Caarapó e Itaporã. No Brasil, o monitoramento das águas de poços particulares é de responsabilidade do proprietário. A água do poço pode estar contaminada proveniente de atividades antrópicas ou por estrutura inadequada. Devido ao uso excessivo de antimicrobianos, bactérias resistentes podem ser encontradas nas águas subterrâneas, causa considerável de disseminação de resistência no ambiente. Epidemias provenientes destas bactérias em águas são particularmente um problema para saúde pública, e a presença de bactérias resistentes no meio ambiente pode contribuir para uma crise global de resistência, dificultando o tratamento de infecções futuramente. Estudo como este convém para o conhecimento das condições microbiológicas atuais das águas subterrâneas locais.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Água subterrânea

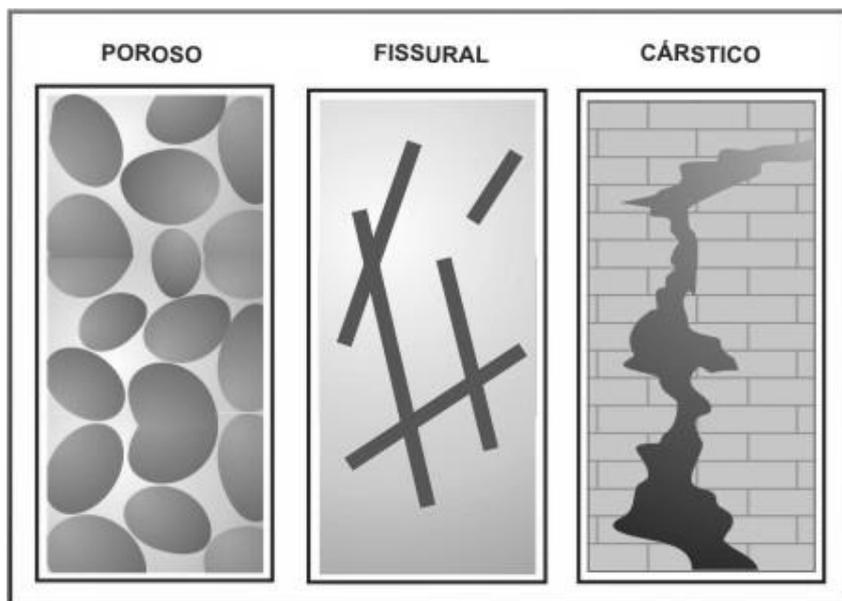
Água subterrânea é a água que se escoia ao subsolo se alojando nos poros, fissuras ou falhas das rochas, através da força da adesão e da gravidade, exercendo a função essencial na manutenção dos rios, lagos e na umidade do solo. A área mais próxima ao solo é nomeada de zona não saturada e a região mais profunda de zona saturada, onde a água não consegue ultrapassar as rochas formando um tipo de manancial subterrâneo (ABAS, 2014).

Aquífero é um reservatório subterrâneo capaz de armazenar e distribuir água, podendo ser classificado como aquífero livre quando permeável e parcialmente saturado por água. Nesta condição a água se mantém na mesma pressão da atmosfera e não sobe, sendo designada por nível freático. Já o aquífero confinado é permeável e completamente saturado por água e à pressão da mesma é superior a pressão atmosférica, pressão esta que causa emersão da água até a superfície do terreno, designando o furo artesiano como jorrante (MIDÕES et al., 2001).

De acordo com ABAS (2014) aquíferos são classificados quanto à sua constituição geológica (Figura 1):

- O aquífero poroso ou sedimentar é formado por rochas sedimentares consolidadas e inconsolidadas ou solos arenosos, com circulação de água homogênea nos poros entre os grãos de areia, constituem os mais importantes devido ao grande volume de água que armazena e ocorrências em grandes áreas;
- Aquífero fraturado ou fissural é formado por rochas ígneas, metamórficas ou cristalinas, duras e maciças, com circulação de água nas fraturas e fendas, aberto devido ao movimento tectônico, fornecendo poucos metros cúbicos de água por hora, onde a água só flui nos locais em que houver fraturas;
- Aquífero cártico (Karst) constituído de rochas calcáreas ou carbonáticas, a água circula nas fraturas e outras descontinuidades e possui grandes dimensões.

Figura 1. Ilustração dos três tipos de aquíferos quanto a sua porosidade.



Fonte: Borghetti et al., (2004).

Quanto à pressão da água os aquíferos podem ser classificados em aquífero livre, aquífero confinado e aquífero semi-confinado (Figura 2).

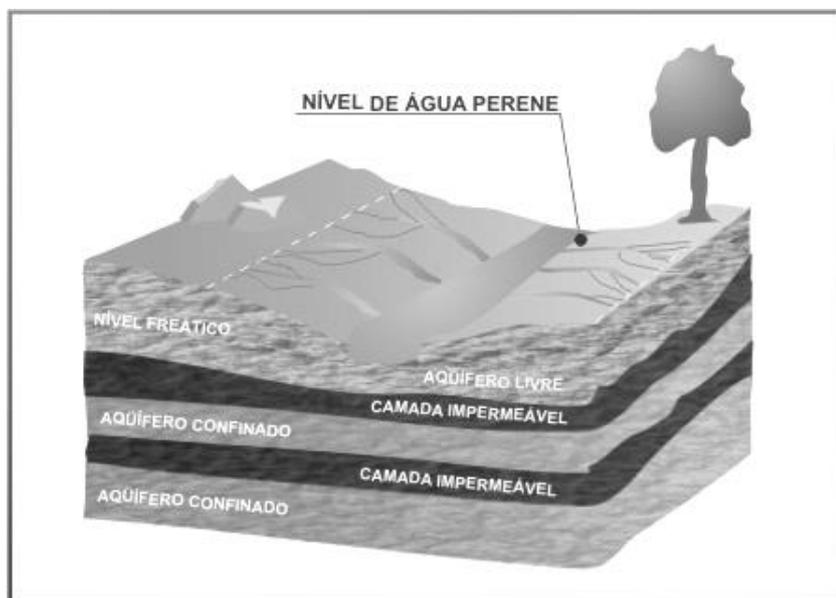
- Aquífero livre ou freático, com formação geológica permeável e superficial, emergente e limitado na base por uma camada impermeável, sua superfície superior da zona saturada está em equilíbrio com a pressão atmosférica, com recarga direta, o nível da água varia conforme as quantidades de chuva, são normalmente mais exploradas pela população com maiores problemas de contaminação (ABAS, 2014; BORGHETTI et al., 2004).

- Aquífero confinado ou artesianos tem formação geológica permeável, confinada entre duas camadas impermeáveis ou semipermeáveis, a pressão da água no topo da zona saturada é maior do que a pressão atmosférica naquele ponto possui reabastecimento através das chuvas, comum nos locais onde aflora à superfície, o nível da água encontra-se sob pressão, podendo causar artesianismo nos poços, possuem recarga indireta e ocorrem nas rochas sedimentares profundas (ABAS, 2014; BORGHETTI et al., 2004).

- O aquífero semi-confinado está restrito por camadas cuja permeabilidade é menor do que a do aquífero em si, com fluxo ao longo da camada aquífera, através das camadas semi-confinantes, camada aquífera e as camadas subjacentes ou sobrejacentes. Em certas circunstâncias, um aquífero livre poderá ser abastecido por água provida de

camadas semi-confinadas subjacentes, ou vice-versa. Zonas de fraturas ou falhas geológicas poderão, também, constituir-se em pontos de fuga ou recarga da água da camada confinada (ABAS, 2014; BORGHETTI et al., 2004).

Figura 2. Representação dos aquíferos segundo sua pressão

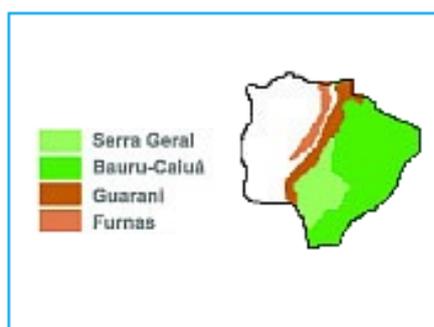


Fonte: Borghetti et al. (2004)

O estado do Mato Grosso do Sul, abrange os principais aquíferos: Serra-Geral, Bauru-Caiuá, Furnas. Mais profundamente aos aquíferos Bauru-Caiuá e Serra-Geral encontra-se confinado o Aquífero Guaraní (ABAS, 2014) (Figura 3).

Segundo o Ministério do Meio Ambiente (MMA) (2012), o Mato Grosso do Sul está entre os oito estados que abrangem a área de 1.087.000 km² do Aquífero Guaraní, com volume de 37.000 km³ do seu corpo hídrico subterrâneo. O aquífero chama a atenção devido ao grande volume de água, sendo considerado um dos maiores recursos de água doce do mundo (RABELO & WENDLAND, 2009).

Figura 3. Localização dos principais aquíferos



Fonte: Borghetti et al., (2004)
Alterado por Maranhão N. H., (2015)

2.2. Poços

O poço é uma abertura feita no solo, com o intuito de captar a água do subsolo. Deve ser localizado na área mais alta do terreno, o mais distante possível e em direção contrária a escoamentos subterrâneos derivados de outros poços, fossas ou outras fontes de contaminação (FEITOSA & FILHO, 2014).

Segundo o Sistema de informação de águas subterrâneas – SIAGAS (2015), até maio de 2015 foram registrados 260.066 poços em todo o Brasil e 1.909 no Mato Grosso do Sul, no entanto vale ressaltar que tais dados podem apresentar valores subestimados, uma vez que algumas perfurações ocorrem sem o devido licenciamento e conhecimento por parte dos órgãos ambientais. Os poços podem atingir aquíferos livres e confinados ou não dependendo da sua profundidade. Podemos classificá-los de acordo com o tipo de abertura em:

2.2.1. Poço Cavado

São conhecidos como cacimba, poço raso, cisterna ou poço amazonas. Escavados manualmente que podem ou não serem revestidos com tijolos ou anéis de concreto e captando água do subsolo. Quando se deseja retirar a água deste tipo de poço, são utilizados baldes ou através de bomba de água motora (FEITOSA & FILHO, 2014). Segundo ABAS (2014), não é necessária licença ou autorização governamental dos órgãos gestores e são construídos manualmente.

2.2.2. Poço Tubular

Os poços podem ser definidos como poço tubular profundo, perfurado por sonda mediante perfuração vertical com profundidade de até 2000 metros, podendo ser jorrante ou não, conforme a pressão e rocha em que se encontra (ABAS, 2014), onde são utilizadas bombas motoras para a retirada a água (FEITOSA & FILHO, 2014).

2.3. Doenças de veiculação hídrica

Sistemas de água privada não são monitorados com frequência para a determinação da sua qualidade microbiológica, sendo assim não se tem conhecimento de agentes patogênicos presentes nesses sistemas (Richards et al., 2015). Supõe-se que a água subterrânea seja limpa e livre de contaminações, porém a propagação de efluentes industriais, esgotos domésticos e despejo de resíduos sólidos, ocasiona a contaminação das águas subterrâneas e cria problemas de saúde e doenças transmitidas pela água (Roy et al., 2014).

Os contaminantes causadores de doenças são mais comumente transmitidos por fonte de água através de materiais fecais de animais e/ou humanos, sendo as três categorias de contaminantes microbianos na água potável: protozoários, bactérias e vírus, visto que, protozoários e bactérias são contaminantes com impacto mais significativo (Dore, 2015). Entre as doenças relacionadas com a água estão inclusas: a ingestão de água contendo micro-organismos e produtos químicos; doenças como a esquistossomose (que tem parte de seu ciclo de vida na água); doenças como a malária com vetores relacionados a água; e outros, tais como *Legionella* transmitida por aerossóis de água contendo certos micro-organismos (WHOc, 2014).

A doença mais comum associada a água contaminada é a diarreia. Cerca de 600 mil crianças morrem por diarreia, fortemente associada a falta de água, saneamento e higiene (WHOb, 2014). A diarreia normalmente é causada pela ingestão de patógenos principalmente através da via oral-fecal, como a ingestão de água contaminada (WHOc, 2014).

2.4. Contaminação de águas subterrâneas.

A contaminação da água subterrânea é a transmissão de quaisquer substâncias de forma planejada, acidental ou até mesmo natural, podendo alterar as características naturais da qualidade de águas subterrâneas e causar impactos negativos e risco no local ou em seus arredores (CETESB, 2014b). As fontes de contaminação e doenças relacionadas com a água intensificam os riscos à saúde além de deteriorar o ecossistema aquático (WHOa, 2014; FLORKE et al., 2013).

Desta forma, a avaliação da concentração de poluentes garante o abastecimento de água potável de forma a reduzir ameaças para a saúde humana (SABO & CHRISTOPHER, 2014). Água contaminada é influenciada por resíduos agrícolas, efluentes domésticos, industriais, assim como construções mal planejadas e manutenção inadequada de poços que degradam a qualidade hídrica, tornando a água inadequada para o consumo (WHOa, 2014; FLORKE et al., 2013).

As contaminações das águas subterrâneas podem estar ligadas a processos humanos e/ou naturais, como a deposição de resíduos no solo provenientes dos depósitos de lixo a céu aberto, cemitérios, fossas, construção inadequada de poços ou o abandono do mesmo, podendo levar a relevante via de contaminação dos recursos hídricos subterrâneos utilizados para consumo, que quando ingerida pode causar infecções bacterianas, surtos ou sérios danos à saúde, além de custos sociais e econômicos (BREITENMOSER et al., 2011; EMMANUEL & PERRONDIN, 2009; MMA, 2007; PELCZAR et al., 2005).

Devido a contaminação, as bactérias presentes na água de poço podem adquirir resistência a drogas transferindo sua resistência para outras bactérias patogênicas, podendo atuar como fonte de colonização assintomática e infecções adquiridas na comunidade (MUKHOPADHYAY et al., 2012).

Outras fontes de contaminação são as bombas motoras utilizadas para extração de água, decorrente da adesão microbiana na superfície interna da bomba, quanto também ao seu escoamento periódico quando desligado, retornando ao poço às bactérias antes aderidas à bomba, além disso, a corrosão do metal pode ser, um potencializador dessa aderência de células bacterianas (FERGUSON et al., 2011; SCHOLL et al., 1990).

Além da contaminação microbiológica, a água subterrânea pode ser contaminada quimicamente, fisicamente ou microbiologicamente (MOSTAFA et al., 2014). Dessa forma, as análises microbiológicas e outros testes devem ser realizados com diferentes parâmetros físico-químicos para determinar a qualidade e pureza, tais como temperatura, pH, turbidez entre outros (PATIL et al., 2012).

Os recursos hídricos subterrâneos profundos são menos propícios à contaminação em relação aos corpos d'água superficiais, contudo os contaminantes dispersos ao solo, valas ou poços, ao longo dos anos degradam as águas subterrâneas que devido à porosidade do solo, o agente poluidor tem a capacidade de se infiltrar e atingir o primeiro e mais vulnerável aquífero ou aquífero livre superior, conseqüentemente migrando para

o aquífero maior formando uma pluma de contaminação dissolvida (ABAS, 2014; KEMERICH et al., 2013; MIRLEAN et al., 2005).

Quanto ao estado do Mato Grosso do Sul, KEMERICH et al. (2013), indicaram que devido a vulnerabilidade extrema do solo e formações geológicas com alta permeabilidade próximo a superfície, na formação do aquífero Serra Geral, localizado neste estado, deve-se restringir atividades antrópicas de caráter poluidor.

2.5. Resistência Bacteriana

As bactérias atualmente apresentam algum tipo de resistência à antimicrobianos conhecidos. Quando essas bactérias expressam resistência a mais de dois tipos de antimicrobianos são denominadas como bactérias multirresistentes (MAR), resultado de diversas mutações da cepa (AMIN et al., 2014). Para a eliminação destes micro-organismos, os antimicrobianos são utilizados para o tratamento de infecções, subsequentemente os dejetos são eliminados no ambiente aquático através dos efluentes, corroborando para que patógenos bacterianos se tornem cada vez mais resistentes a uma variedade de antibióticos (HUANG et al., 2011; SALYERS & AMABILE-CUEVAS, 1997; MCKEON et al., 1995).

Os antibióticos foram amplamente utilizados para combater as infecções bacterianas durante a Segunda Guerra Mundial. Desde então, a sua utilização tem aumentado gradativamente e ao invés de ocasionar o desaparecimento das bactérias, está ocorrendo a difusão de bactérias multirresistentes em hospitais e no meio ambiente, podendo contribuir para uma crise global de resistência (WELLINGTON et al., 2013; SALYERS & AMABILE-CUEVAS, 1997; MCKEON et al., 1995).

O influxo de poluentes, tais como agentes antimicrobianos, detergentes, desinfetantes, metais pesados e resíduos de animais, nas bacias hidrográficas podem contribuir para o surgimento de bactérias resistentes aos antibióticos bem como sua disseminação na água (RAMIREZ CASTILLO et al., 2013).

Micro-organismos potencialmente patogênicos na água de consumo, quando em contato com consumidores com baixa imunidade, pode apresentar um risco a saúde (ZINEBA et al., 2015; WINGENDER & FLEMMING, 2011; MORITZ et al., 2010). A contaminação da água por micro-organismos, particularmente multirresistentes, é uma

fonte considerável de disseminação de resistência bacteriana (WELLINGTON et al., 2013).

2.6. Legislações de monitoramento de água de consumo.

A extração de água, falta de manejo e uso dos recursos naturais faz com que a escassez de água se torne cada vez mais perceptível desde a última metade do século XXI (CETESB, 2014b).

O código das águas (Lei nº 24.643/34), foi o primeiro documento legal brasileiro a abordar o domínio das águas. Em 1997, foi decretada a Política Nacional dos Recursos Hídricos – PNRH, e em 2000, foi criada a Agência Nacional de Águas – ANA com função de executar a PNRH (AVANZI et al., 2009).

O Conselho Nacional do Meio Ambiente estabelece diretrizes ambientais para proteção, prevenção e controle da poluição das águas subterrâneas (CONAMA, 2008). No Brasil, em termo jurídico a água subterrânea é considerada de posse do estado, competindo ao sistema único de saúde fiscalizar e inspecionar as águas de consumo humano, porém poucos estados possuem leis de proteção para suas águas subterrâneas (BRASIL, 1988; TOSCANO et al., 2008).

O Estado do Mato Grosso do Sul, dispõe da Lei Estadual nº 3.183/06, que visa a proteção e conservação, com uso racional, controle de poluição e manutenção do equilíbrio biológico e físico-químico, estabelecendo que poços tubulares com profundidade superior a 50 metros a partir de 4” é obrigatório obtenção da licença da Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Recursos Hídricos (SEMA), e para poços com profundidade inferior a 50 metros e diâmetro de 6 polegadas é obrigatório o cadastro na SEMA, pelo Sistema de Informações de Águas Subterrâneas (SIAGAS), e também decreta que poços abandonados ou que emitem riscos aos aquíferos serão tamponados conforme normas técnicas.

Anteriormente a Portaria MS nº 518/04 (BRASIL, 2004), padronizava a eficiência do processo de tratamento ou desinfecção da água na ausência de coliformes totais. Com o estabelecimento da Portaria MS nº 2914/11 (BRASIL, 2011), o critério de ausência de *Escherichia coli* (*E. coli*) foi incorporado aos padrões de tratamento de água no sistema de distribuição, na qual sua presença significa falha no tratamento ou recontaminação no sistema de distribuição (BASTOS et al., 2004; PINTO et al., 2012). Em conjunto com as

análises microbiológicas no tratamento de água, parâmetros físico-químicos, como cloro e turbidez devem acompanhar os testes realizados (BRASIL, 2011).

Segundo Bastos et al. (2004), a legislação brasileira segue bases internacionais para estabelecer os padrões de potabilidade, utilizando o termo de ausência de coliformes totais e *Escherichia coli* como parâmetros microbiológicos (WHO, 2006; WHO, 2011). Desta forma, para todas as águas utilizadas para o consumo humano, incluindo fontes individuais como poços, minas, nascentes, tanto a Portaria MS nº 518/04, quanto a Portaria MS nº 2914/11, regulamenta como padrão para potabilidade a ausência de *E. coli*, conforme demonstrado na Tabela 1 (BRASIL, 2004; BRASIL, 2011).

Tabela1- Parâmetros adotados pelo Brasil e pela Organização Mundial da Saúde para a avaliação de qualidade de água para consumo humano

Parâmetros	Valores de referência *
<i>Escherichia coli</i>	Ausência em 100 mL
Contagem de heterotróficos	≥ 500 UFC/mL

* BRASIL, 2011; WHO 2011; BRASIL, 2004; WHO 2006

2.7. Caracterização dos locais de estudo

2.7.1. Caarapó

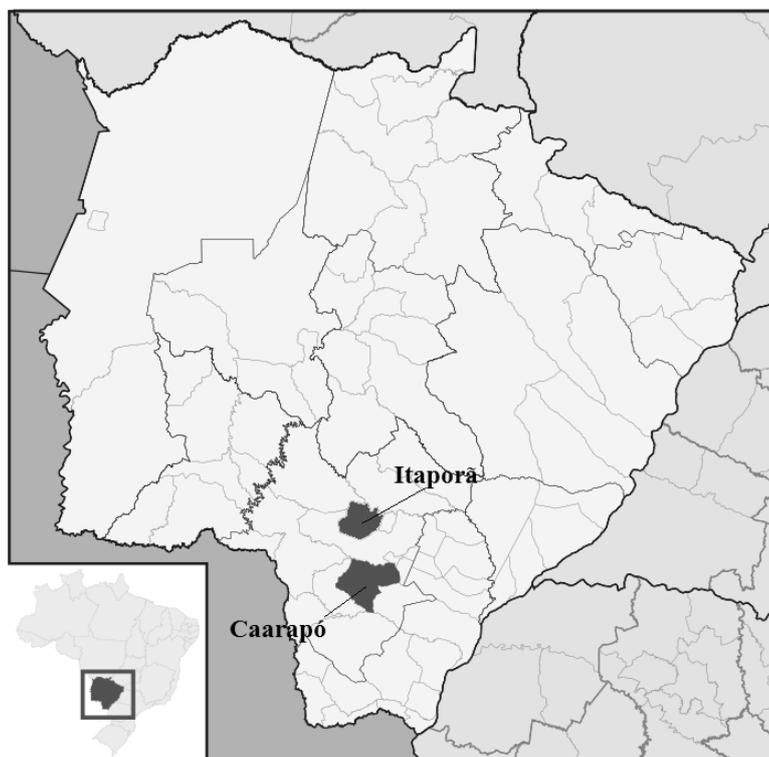
A cidade de Caarapó (Figura 4), está localizada na latitude de 22°38'02" Sul e longitude de 54°49'19" Oeste, a 471 m de altitude pertencendo a microrregião de Dourados, e possui uma área de 2.089,600 km² e população estimada para o ano de 2014, de 28.001 habitantes (IBGE, 2011; IBGE, 2014).

Este município se encontra na bacia hidrográfica do Paraná, sob o rio Amambai e inserção parcial no rio Ivinhema, sob o aquífero Serra Geral e o aquífero Guarani (IMASUL, 2010). Caarapó predomina o Latossolos com elevado teor de alumínio, de textura argilosa e média, apresenta rochas do período Jurássico, Grupo São Bento (Formação Serra Geral - domínio de basalto, constituídos por rochas de cores verde e cinza-escuro. A presença de arenitos intertrapeados, sugerindo origem eólica, às vezes subaquosas, são evidenciados com certa frequência ao longo da faixa de domínio do

basalto), e período Cretáceo, Grupo Bauru (Formação Caiuá - representada por uma característica uniformidade litológica, com espessura não superior a 150m, visualizam-se arenitos bastante porosos e facilmente desagregáveis) (SEMAC, 2011).

De acordo com o Censo demográfico de 2010, 5.608 domicílios particulares possuem abastecimento de água por rede geral e 1.124 domicílios por poço ou nascente na propriedade. Em 2008, em uma pesquisa realizada pelo Programa Nacional de Saneamento Básico, foi verificado que o volume total de água tratada e distribuída por dia foi de 3.190 m³ e abasteceu 7.219 domicílios. No entanto, somente 859 domicílios possuíam rede de esgoto, 786 fossas sépticas e 4.807 domicílios possuíam fossas rudimentares (IBGE, 2010; IBGE, 2008).

Figura 4. Localização das cidades de Caarapó e Itaporã, MS, Brasil.



Fonte: http://pt.wikipedia.org/wiki/Caarap%C3%B3#/media/File:MatoGrossodoSul_Municip_Caarapo.svg. Fonte: Adaptado por MARAN N. H., (2015).

2.7.2. Itaporã

A cidade de Itaporã (Figura 4) está situada no sul da região Centro-Oeste do Brasil, no Sudoeste de Mato Grosso do Sul (Microrregião de Dourados), latitude

22°04'44" sul e longitude 54°47'22" oeste. Possui uma área de 1.321,811 km² e tem uma população estimada de 22.568 habitantes (IBGE, 2011; IBGE, 2014).

O município se encontra na bacia hidrográfica do Paraná, sob o rio Ivinhema e assim como Caarapó, sob o aquífero Serra Geral e o aquífero Guarani (IMASUL, 2010). O solo predominante é o Latossolo com textura argilosa e caráter álico, portanto, baixa fertilidade natural e gleissolos com baixa fertilidade, apresenta rochas do período Jurássico, Grupo São Bento (formação Serra Geral - domínio de basalto, constituídos por rochas de cores verde e cinza-escuro. Presença de arenitos intertrapeados, sugerindo origem eólica, às vezes subaquosas, são evidenciados com certa frequência ao longo da faixa de domínio do basalto) (SEMAC, 2011).

De acordo com o Censo demográfico (IBGE, 2010), 4.951 domicílios particulares possuem sistema de abastecimento de água por rede de distribuição e 1.565 domicílios utilizam o poço ou nascente na propriedade. A Pesquisa Nacional de Saneamento Básico (IBGE, 2008), encontrou 5.128 domicílios com abastecimento de água ativas, sendo o volume de água total tratada de 2.486 m³ distribuída por dia com. Dos domicílios particulares que possuíam esgotamento sanitário, 688 dispunham de rede de esgoto, 3.971 possuíam fossas rudimentares e 720 fossas sépticas (IBGE, 2010; IBGE, 2008).

A resistência dos proprietários de poços das cidades de Caarapó e Itaporã, ao consumo de água tratada é devido ao sabor residual do cloro gerado pelo tratamento químico realizado pelas empresas de autarquia, acarretando uma preferência de consumo de água *in natura* do poço. Visto que, não havendo um monitoramento dos poços particulares pelas autoridades públicas, não é possível ter controle da qualidade da água de consumo.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a qualidade microbiológica das águas subterrâneas de poços utilizadas para o consumo humano, nas cidades de Caarapó e Itaporã, MS, Brasil.

3.2. Objetivos Específicos

- Pesquisa de Coliformes Totais e presença de *E. coli*;
- Realizar contagem de heterotróficos;
- Avaliar a presença de leveduras nos poços;
- Identificar bactérias heterotróficas e verificar seu perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAS- Associação Brasileira de Águas Subterrâneas. Contaminação e Remediação de Águas Subterrâneas. Disponível em: <http://www.abas.org/educacao_contaminacao.php>. Acesso em: 20 out 2014.

AMIN, S; ABDULLA, F. E; USMAN, G. Bacterial Analysis and Antimicrobial Susceptibility of Bacteria Found in Different Water Sources in Karachi. **Pakistan Journal of Medicine and Dentistry**, v.3, n.3, p.62-67, 2014.

ARNOLD, M.; VANDERSLICE, J. A., TAYLOR, B.; BENSON, S., ALLEN, S.; JOHNSON, M.; ANSONG, D. Drinking water quality and source reliability in rural Ashanti region, Ghana. **Journal of Water and Health**, v.11, n.1, p.161-172, 2013.

AVANZI, J. C.; BORGES, L. A. C.; CARVALHO, R. Proteção legal do solo e dos recursos hídricos no Brasil. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.2, n.2, 2009.

BAIN, R.; CRONK, R.; WRIGHT, J.; YANG, H., SLAYMAKER, T.; BARTRAM, J. Fecal contamination of drinking-water in low-and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. **PLoS medicine**, v.5, n.11, p.e1001644, 2014.

BASTOS, R. K.; HELLER, L.; BEVILACQUA, P. D.; PÁDUA, V. L. D.; BRANDÃO, C. Legislação sobre controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano. A experiência brasileira comparada a panamericana, **Aidis**, p.1-20, 2004.

BORGHETTI, N.R.; BORGHETTI, J.; ROSA FILHO, E. F. Aquífero Guarani- A verdadeira integração dos países do Mercosul. **Editora dos autores**, Curitiba: p.214, 2004.

BOUBETRA, A.; LE NESTOUR, F.; ALLAERT, C.; FEINBERG, M., Validation of Alternative Methods for the Analysis of Drinking Water and Their Application to *Escherichia coli*, **Applied and Environmental Microbiology**, v.10, n.77, p.3360-3367, 2011.

BRASIL. Constituição de República Federativa do Brasil, Brasília, DF: Senado, 1988.

BRASIL. Decreto-Lei nº 24.643 de 10 de julho de 1934. Código de Águas. **Diário Oficial da União**, Rio de Janeiro: 1934.

BRASIL. Decreto-Lei nº 9.433, de 08 de janeiro de 1997. Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF: 1997. Disponível em: Acesso em: 12 mai 2014.

BRASIL. Decreto-Lei nº 9.984, de 17 de julho de 2000. Dispõe sobre a criação da Agência Nacional de Águas – ANA. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF: 17 jul 2000. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/19984.htm>. Acesso em: 12 mai 2014.

BRASIL. Portaria, MS. nº 518/2004. Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em saúde. Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. Editora do Ministério da Saúde, Brasília: 2004.

BRASIL. Portaria, MS. nº 2914 de 12/12/2011. Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em saúde. Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. Editora do Ministério da Saúde, Brasília: 2011.

BREITENMOSER A.; FRETZ, R.; SCHIMID, J.; BESL, A.; ETTER, R. Outbreak of acute gastroenteritis due to a wash water-contaminated water supply, Switzerland, 2008. **Journal Water Health**, v.3, n.9, p.569-576, 2011.

CETESBa. Águas superficiais: O problema de escassez da água no Mundo. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/%C3%81guas-Superficiais/37-O-Problema-da-Escassez-de-%C3%81gua--no-Mundo>>. Acesso em: 01 nov 2014.

CETESBb. Áreas Contaminadas. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/areas-contaminadas/O-que-s%EF%BF%BD-%EF%BF%BDreas-Contaminadas/1-O-que-s%EF%BF%BD-%C3%81reas-Contaminadas>>. Acesso em: 01 nov 2014.

CONAMA- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 396, de 3 de abril de 2008. Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF; 2008.

DIAS, M. F. F.; MOREIA, I. V.; MANAIA, C. M. Bottled mineral water as a potential source of antibiotic resistant bacteria. **Water Research**, v.46, p.3612-3622, 2012.

DORE, M. H. Waterborne Disease Outbreaks and the Multi-barrier Approach to Protecting Drinking Water. In: Global Drinking Water Management and Conservation. Springer International Publishing, p. 13-31, 2015.

EMMANUEL, E; PIERRE, M. G; PERRODIN, Y. Groundwater contamination by microbiological and chemical substances released from hospital wastewater: Health risk assessment for drinking water consumers. **Environment international**, v.4, n.35, p.718-726, 2009.

FEITOSA, N. B.; FILHO, C. F. M. Abastecimento de água no meio rural. Disponível em: <<http://www.dec.ufcg.edu.br/saneamento/A0.html?submit=Voltar+ao+%20CDndice>>. Acesso em: 28 out 2014.

FERGUSON, A. S.; MAILLOUX, B. J.; AHMED, K. M.; VAN GEEN, A.; MCKAY, L. D.; CULLIGAN, P. J. Hand-pumps as reservoirs for microbial contamination of well water. **Journal of Water and Health**, v.9, n.4, p. 708-717, 2011.

FLÖRKE, M.; KYNAST, E.; BÄRLUND, I., EISNER, S.; WIMMER, F.; ALCAMO, J. Domestic and industrial water uses of the past 60 years as a mirror of socio-economic development: A global simulation study. **Global Environmental Change**, v.23, n.1, p.144-156, 2013.

HUAN, C. H; RENEW, J. E; SMEBY, K. L; PINKSTON, K; SEDLAK, D. L. Assessment of potential antibiotic contaminants in water and preliminary occurrence analysis. **Journal of Contemporary Water Research and Education**, v.1, n.120, p.4, 2011.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Cidades*. 2010. Disponível em: <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php>>. Acesso em: 03 Mai 2015.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional de Saneamento Básico. Rio de Janeiro: 2008. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em 13 maio 2015.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia. 2011. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 17 set 2014.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Cidades*. 2014. Disponível em: <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php>>. Acesso em: 01 Mai 2015.

IMASUL- Instituto de meio ambiente de Mato Grosso do Sul. Secretaria de estado de meio ambiente, do planejamento, da ciência. Plano estadual de recursos hídricos de Mato Grosso do Sul. **Editora UEMS**, Campo Grande, MS: 2010.

KEMERICH, P. D. D. C.; MARTINS, S. R.; KOBIYAMA, M.; DA SILVEIRA, R. L.; FILHO, L. D.; RIZZARDI, A.; DE BORBA, W. F. Vulnerabilidade natural à contaminação da água subterrânea na bacia hidrográfica do Rio Vacacaí-Mirim: uso da metodologia GOD. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, v.2, n.10, 2013.

Mato Grosso do Sul (estado). Lei Estadual nº 3.183/06. Dispõe sobre a administração, proteção e a conservação das Águas Subterrâneas de domínio do Estado de Mato Grosso do Sul e dá outras providências. Campo Grande, MS: 2006.

MACHADO, A.; BORDALO A. A. Prevalence of antibiotic resistance in bacteria isolated from drinking well water available in Guinea-Bissau (West Africa). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.106, p.188-194, 2014.

MCKEON, D. M; CALABRESE, J. P; BISSONNETTE, G. K. Antibiotic resistant gram-negative bacteria in rural groundwater supplies. **Water Research**, v.8, n.29, p.1902-1908, 1995.

MIDÕES, C.; JUDITE, F.; COSTA, C. G. Água subterrânea: conhecer para proteger e preservar. IGM, 2001. Disponível em:<<http://hdl.handle.net/10400.9/488>>. Acesso em: 22 out 2014.

MIRLEAN, N.; MACHADO, M. I.; OSINALDI, G. M; DEMOLINER, A.; BAISCH, P.O impacto industrial na composição química das águas subterrâneas com enfoque de Consumo humano. **Química Nova**, v.5, p.788-791, 2005.

MMA- Ministério do Meio Ambiente. Águas Subterrâneas: Um recurso a ser conhecido e protegido. Brasília: 2007.

MMA- Ministério Do Meio Ambiente. Recursos Hídricos: Aquífero Guarani. 2012. Disponível em: <<http://www.ministeriodomeioambiente.gov.br/component/k2/item/8617-aqu%C3%ADfero-guarani>>. Acesso em: 15 jul 2014.

MORITZ, M. M.; FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J. Integration of *Pseudomonas aeruginosa* and *Legionella pneumophila* in drinking water biofilms grown on domestic plumbing materials. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v.213 n.3, p.190-197, 2010.

MOSTAFA M, A. H.; AL-WASIFY, R. S.; SAYED, A. M.; BAKRY, M. H. Microbiological and physicochemical evaluation of groundwater in Egypt. **International Journal of Environment and Sustainability**, v.2, n.2, 2014.

MOTTA, E.; FRINHANI, E. M. D. Qualidade físico-química e microbiológica das águas subterrâneas dos municípios de Ibicaré. Ouro e Capinzal. **Evidência-Interdisciplinar-Biotecnologia Agroalimentar Ambiental e Saúde**, v.12, n.1, p.63-82, 2012.

MUKHOPADHYAY, C.; VISHWANATH, S.; ESHWARA, V. K.; SHANKARANARAYANA, S. A; SAGIR, A. Microbial quality of well water from rural and urban households in Karnataka, India: a cross-sectional study. **Journal of Infection and Public Health**, v.5, n.3, p.257-262, 2012.

PATIL, P. N.; SAWANT, D. V.; DESHMUKH, R. N. Physico-chemical parameters for testing of water—A review. **International Journal of Environmental Sciences**, v.3, n.3, p.1194-1207, 2012.

PELCZAR, J.; MICHAEL, J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. Microbiologia: conceitos e aplicações. São Paulo, SP: Pearson Makron Books, 2. Ed, 2005.

PINTO, V. G.; HELLER, L.; BASTOS, R. K. X. Drinking water standards in South American countries: convergences and divergences. **Journal of water and health**, v.10 n.2, p.295-310, 2012.

PONTES, C. A. A.; SCHRAMM, F. R. Bioética da proteção e papel do Estado: problemas morais no acesso desigual à água potável. **Caderno de Saúde Pública**, p. 1319-1327, 2004.

RABELO, J. L.; WENDLAND, E. Assessment of groundwater recharge and water fluxes of the Guarani Aquifer system, **Brazil Hydrogeology journal**, v.7, n.17, p.1733-1748, 2009.

RAMÍREZ CASTILLO, F. Y.; AVELAR GONZÁLEZ, F. J.; GARNEAU, P.; MÁRQUEZ DÍAZ, F.; GUERRERO BARRERA, A. L.; HAREL, J. Presence of multi-drug resistant pathogenic *Escherichia coli* in the San Pedro river located in the state of aguas calientes, México. **Frontiers of Microbiology**, v.4, n.147, 2013.

RICHARDS, C. L.; BROADAWAY, S. C.; EGGERS, M. J.; DOYLE, J.; PYLE, B. H.; CAMPER, A. K.; FORD, T. E. Detection of pathogenic and non-pathogenic bacteria in drinking water and associated biofilms on the Crow reservation, Montana, USA. *Microbial ecology*, p. 1-12, 2015.

ROY, M. P.; GUPTA, I. S.; PATRA, A. K. A preliminary bacteriological assessment of ground water with reference to coliforms at Jalpaiguri district town of West Bengal, India.

Proceedings of 5th International Conference on Environmental Aspects of Bangladesh ICEAB. p.88-89, 2014.

SABO, A; CHRISTOPHER, E. O. Physicochemical and Bacteriological Quality of Ground Water at AbubakarTatari Ali Polytechnic Bauchi, Nigeria, **European Scientific Journal**, v.10, n.18, p.1857-7881, 2014.

SALYERS, A.A; AMABILE-CUEVAS, C. F. Why are antibiotic resistance genes so resistant to elimination?. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.11, n.41, p.2321, 1997.

SCHOLL, M. A.; MILLS, A. L.; HERMAN, J. S.; HORNBERGER, G. M. The influence of mineralogy and solution chemistry on the attachment of bacteria to representative aquifer materials. **Journal of Contaminant Hydrology**, v.6, n.4, p. 321-336, 1990.

SEMAC – Secretaria de Estado de Meio Ambiente, do Planejamento, da Ciência e Tecnologia do Mato Grosso do Sul. Caderno geoambiental das regiões de planejamento do Mato Grosso do Sul. Campo Grande:2011. Disponível em: http://www.semade.ms.gov.br/wp-content/uploads/sites/20/2015/03/regiao_da_grande_dourados_caderno_geoambiental.pdf>. Acesso em: 08 jun 2015.

SEMADS - Secretária de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável. Poços tubulares e outras captações de águas subterrâneas: orientação aos usuários. Rio de Janeiro: 2001.

SIAGAS- Sistema de Informação de Águas Subterrâneas. Disponível em: <<http://siagasweb.cprm.gov.br/layout/index.php>>. Acesso em: 12 mai 2015.

SPERLING, V. M.; Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgoto**, 1996.

TOSCANO, G. L. G.; DOS SANTOS, K. M.; DAS NEVES, A. C.; DA SILVA, T. C. Uma análise sintética sobre a legislação de proteção das águas subterrâneas no Brasil, IX Simpósio de Recursos Hídricos do Nordeste, 2008.

WAHOME, C. N; OKEMO, P. O; NYAMACHE, A. K. Microbial quality and antibiotic resistant bacterial pathogens isolated from groundwater used by residents of OngataRongai, Kajiado North County, Kenya. **International Journal of Biological and Chemical Sciences**, v.8, n.1, p.134-143, 2014.

WELLINGTON, E. M; BOXALL, A. B; CROSS, P; FEIL, E. J; GAZE, W. H; HAWKEY, P. M; WILLIAMS, A. P; The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. **The Lancet Infectious Diseases**, v.2, n.13, p.155-165, 2013.

WHO- World Health Organization. Guías para la calidad del agua potable. Geneva: v.1, 3ed, 2006.

WHO- World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality, Geneva: v.1, 4 ed, p.541, 2011.

WHOa - World Health Organization. Public health Association. <http://www.who.int/water_sanitation_health/en/>. Acesso em: 21 jul 2014.

WHOb - World Health Organization. Preventing diarrhoea through better water, sanitation and hygiene: exposures and impacts in low-and middle-income countries. World Health Organization, 2014.

WHOc - World Health Organization. Investing in water and sanitation: increasing access, reducing inequalities, special report for the Sanitation and Water for All (SWA), high level meeting (HLM), 2014.

WINGENDER, J.; FLEMMING, H. C. Biofilms in drinking water and their role as reservoir for pathogens. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v.214, n.6, p.417-423, 2011.

ZAMPIERON, S. L. M.; VIEIRA, J. L. A. Poluição das águas. Disponível em: <http://educar.sc.usp.br/biologia/textos/m_a_txt5.html>. Acesso em: 02 dez 2013.

ZINEBA, G.; HASSAN, L; MOSTAFA, M.; AB.DELLAH, H.; MOHAMMED, T.; EL MOSTAFA, M. Virulence phenotype, physicochemical properties, and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* on polyethylene used in drinking water distribution systems. **Water Resources**, v.42, n.1, p.98-107, 2015.

ARTIGO

Qualidade da água de poços utilizada para o consumo e perfil de susceptibilidade antimicrobiana das bactérias isoladas.

Artigo será submetido à revista Water Research, ISSN: 0043-1354

Índice de Impacto: 5.323 Qualis: A1 na área interdisciplinar

Qualidade da água de poços utilizada para o consumo e perfil de susceptibilidade antimicrobiana das bactérias isoladas.

XXXXXXXXXX^a, XXXXXXXXXXXX^b

^aFaculdade de Ciências Exatas e Tecnologia – Fundação Universidade Federal da Grande Dourados (Rodovia Dourados - Itahum, Km 12 - Cidade Universitária, Cx. Postal 533 - CEP 79804-970, Dourados – MS).

^b Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais – Fundação Universidade Federal da Grande Dourados (Rodovia Dourados - Itahum, Km 12 - Cidade Universitária, Cx. Postal 533 - CEP 79804-970, Dourados – MS).

RESUMO

A utilização de poços para a extração de águas subterrâneas tem aumentado nas últimas décadas devido às novas tecnologias desenvolvidas para a captação da água. A água pode ser um veículo de disseminação de doenças, sendo necessário o monitoramento para assegurar a sua integridade. O objetivo foi avaliar a qualidade das águas de poços utilizadas para o consumo e avaliar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das bactérias isoladas. As amostras foram coletadas em cidades que possuem populações inferiores a 30 mil habitantes que utilizam poços de água como fonte de consumo. As amostras apresentaram valores de pH ácido, turbidez abaixo de 5,0 NTU, cloro residual livre e flúor somente em 10,5% e 25,5%, respectivamente. Foi constatada a presença de *Escherichia coli* em 33,33% do total de 66 poços analisados. Poços cavados apresentaram 66,66% de contaminação por *E. coli* e poços tubulares apresentaram 10,25% de contaminação. Foram isoladas bactérias resistentes e multirresistentes à Ampicilina, Ceftazidime, Ceftriaxone, Ciprofloxacina, Colistina, Eritromicina, Gentamicina, Imipenem, Oxacilina, Penicilina, Piperacilina, Sulbactam e Tazobactam. As condições das águas dos poços analisados acarretam risco à saúde pública por apresentarem contaminação por *E. coli* em desacordo com os padrões de potabilidade das leis vigentes, além de ser uma possível fonte de transmissão de bactérias resistentes.

PALAVRAS CHAVES: Coliformes Totais, *Escherichia coli*, Poços, Resistência microbiana, Recursos Hídricos.

1. INTRODUÇÃO

A água é uma das maiores vias de disseminação de doenças, principalmente para crianças, idosos e pacientes imunocomprometidos (Freeman et al., 2012; Risebro et al., 2012). Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2014) cerca de 748 milhões de pessoas não tem acesso a água adequada para o consumo e por volta de 600 mil crianças morrem de diarreia associada a falta de água, saneamento e higiene.

Os recursos hídricos superficiais de abastecimento ficam cada vez mais vulneráveis aos longos períodos de estiagem e ao impacto das atividades antrópicas (Padovani, 2013; Pal et al., 2014; Walcher & Bormann, 2015). Em consequência as fontes alternativas de água como as águas subterrâneas, tornam se fontes de consumo para pessoas que residem em áreas urbanas ainda não planejadas, como também nas áreas rurais (Okotto-Okotto et al., 2015; Das et al., 2010; Jimmy et al., 2013).

O crescente consumo de águas subterrâneas e a perfuração de poços sem critérios aumentam a vulnerabilidade de contaminação, visto que estudos apontam que a degradação e contaminação das águas subterrâneas estão ligadas à atividade antrópica, profundidade de poços, tipos de poços, distância entre fossas e os poços (Odeleye et al., 2015; Hynds et al., 2014; Jimmy et al., 2013; Da Silva et al., 2013; Emmanuel et al., 2009; Azizullah 2011; Nabeela et al., 2014).

Características físicas, químicas e padrões microbiológicos determinam a segurança da água para o consumo humano (WHO, 2006). *Escherichia coli* é padrão de potabilidade em análise de água, conforme as normas nacionais e internacionais, a sua presença classifica a água como imprópria para o consumo. Bactérias heterotróficas atuam como um indicador indireto da segurança e da qualidade da água para o consumo humano (Freire & Lima, 2012; Brasil, 2011; WHO, 2006).

Explorações de fontes de águas subterrâneas deve ser monitorada constantemente, pois o influxo permanente de poluentes, tais como agentes antimicrobianos, desinfetantes, metais pesados, podem contribuir para o aparecimento de bactérias resistentes e diversos estudos alertam para o isolamento de bactérias resistentes em água de consumo (Wahome et al., 2014; Machado & Bordalo, 2014; Ramírez Castillo et al., 2013; Dias, et al., 2012; Mukhopadhyay et al., 2012).

Caarapó e Itaporã, MS, Brasil, possuem população inferior a 30 mil habitantes (IBGE, 2014), são abastecidas por sistema de tratamento de água por empresas de autarquia, porém residências optam por uso da água do poço, devido ao sabor residual do

sistema de tratamento. A preocupação com qualidade da água e da disseminação de bactérias resistentes a antibióticos motivou o presente estudo que tem como objetivo avaliar a qualidade microbiológica e físico-química das águas subterrâneas utilizadas para o consumo, bem como avaliar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das bactérias isoladas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Caracterização dos ambientes de estudo

As coletas das amostras de água foram realizadas na cidade de Caarapó (Lat: -22.6298; Long: -54.8253; 22° 37' 47'' Sul, 54° 49' 31'' Oeste) que possui uma população estimada para 2014 de 28.001 habitantes e Itaporã (Lat: -22.0821; Long: -54.7889; 22° 4' 56'' Sul, 54° 47' 20'' Oeste), com 22.568 habitantes estimados para o ano de 2014 (IBGE, 2014: IBGE, 2010), localizadas no estado do Mato Grosso do Sul, Brasil, com distância de aproximadamente 70 km entre elas.

A identificação das residências que utilizam poços para consumo de água foi realizada com o auxílio de agentes de saúde das duas cidades. Sendo assim, a amostragem é considerada intencional. Na cidade de Caarapó, 36 poços foram pesquisados e em Itaporã 30 poços, entre os meses de Julho a Outubro de 2014. A profundidade do poço e a sua distância da fossa foram verificadas.

2.2. Tipos de Poços e Procedimento de Coleta

Nos domicílios analisados os poços foram agrupados em dois grupos, poços tubulares e cavados.

Poço cavado: Conhecido popularmente como caipira, cacimba, rudimentar ou amazonas são escavados manualmente, com diâmetros grandes e com paredes que podem ser revestidas por tijolos, anéis de concreto ou não ter nenhum tipo de revestimento (Figura 1).

Poço tubular: Utilizam tubos galvanizados de revestimentos que se apresentam em forma de furo. Sua perfuração é realizada por máquinas ou ferramentas manuais para aberturas de furo. A água é retirada do subsolo através de bombas que a levam até a superfície. (Figura 2).



Fig. 1- Poço artesiano



Fig. 2- Poço tubular

Para coleta de amostra foram utilizados frascos de vidro estéreis de 500 mL contendo 0,5mL de Tiosulfato de sódio a 1,8% (Alfakit[®]). Nos poços tubulares, as saídas de água foram previamente desinfetadas com álcool a 70% (v/v), na qual a bomba de água foi ligada para escoamento da água por 5 minutos (APHA, 2005). Nos poços cavados, a coleta das amostras foi realizada através da submersão do frasco de vidro (Mukhopadhyay et al., 2012).

As amostras foram acondicionadas em caixas térmicas contendo gelo e transportadas sob refrigeração (4°C) ao laboratório de Microbiologia Aplicada da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). O tempo máximo entre a coleta da água e o início das análises microbiológicas foi de até 8 horas.

2.3. Análises físico-químicas

Todas as análises físico-químicas foram realizadas *in loco*. A temperatura e o pH foram mensurados através da Sonda Multiparâmetro (YSI Professional Plus[®]). Para os poços cavados a sonda foi inserida no poço até atingir a água sem nenhum contato com as bordas do poço; para os poços tubulares, a amostra foi coletada em um béquer.

Para a análise de turbidez foi utilizado um turbidímetro portátil (Policontrol[®]) e as análises físico-químicas de cloro e flúor foram realizadas pela técnica colorimétrica Alfakit[®] (APHA, 2005).

2.4. Análises microbiológicas

Os coliformes totais e *E. coli* foram determinados pela técnica de presença e ausência do substrato cromogênico e fluorogênico do Colilert® (IDEXX Laboratories, Inc, 2012), em que 100 ml de amostra são adicionados ao substrato no frasco de análise e incubados a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 horas. Para critérios de interpretação do Colilert®, a cor amarela indicou a presença de coliformes totais e a fluorescência sob luz ultravioleta de 360nm, indicou a presença de *E. coli*.

Para contagem de heterotróficos foi utilizada a metodologia de Spread Plate. A amostra pura e a diluição de 10^{-1} em duplicata foram semeadas em ágar PCA (Plate Count Agar; Himedia®), incubadas por $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 48 ± 2 horas (Silva et al., 2010).

Para pesquisa de leveduras, 100 mL das amostras de água foram filtradas em membrana de Ester de Celulose estéril (Millipore® 0,45 μm) e disposta na superfície de ágar Sabouraud (Himedia®) contendo 50mg/ml de Clorafenicol e incubadas à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$, examinadas diariamente durante 7 dias (Ishida et al., 2013).

2.5. Identificação das bactérias heterotróficas e teste susceptibilidade aos antimicrobianos

Três unidades formadoras de colônia (UFC) com características morfológicas diferentes em placas com meio de PCA foram selecionadas e semeadas em ágar sangue (Newprov®), incubados a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Após 24 ± 2 horas foi realizada a coloração de Gram e preparado uma suspensão bacteriana de acordo com a escala 0,5 de McFarland. Estas foram submetidas ao sistema automatizado VITEK® 2 COMPACT (BioMérieux®).

Para a identificação dos micro-organismos Gram positivos foi utilizado o cartão AST-105 e o AST-P585 para perfil de resistência. Já para a identificação dos Gram negativos foram utilizados os cartões AST-GN e o AST-N239 para perfil antimicrobiano. De acordo com a o CLSI (2014), o critério para identificação dos micro-organismos foi aqueles que apresentaram confirmação limiar acima de 97%.

Seguindo as diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2014), foi analisado o perfil de resistência de cada micro-organismo frente a 16 antimicrobianos utilizados na clínica médica.

Para isolados bacterianos Gram negativos foram utilizados os antimicrobianos: Amicacina, Ampicilina, Ampicilina/Sulbactam, Cefepime, Cefoxitin, Ceftazidime,

Ceftriaxone, Cefuroxima, Ciprofloxacina, Colistina, Estapenem, Gentamicina, Imipenem, Meropenem, Piperacilina/Tazobactam e Tigecyclina. Para os Gram positivos: Ampicilina, Benzilpenicilina, Ciprofloxacina, Clindamicina, Eritromicina, Ácido Fusídico, Gentamicina, Linezolide, Moxifloxacina, Norfloxacina, Oxacilina, Rifampicina, Teicoplanina, Tigecyclina, Trimetoprim/Sulfametoxazol, Vancomicina. As bactérias foram caracterizadas como multirresistentes se apresentassem resistência a mais de dois tipos de antimicrobianos.

3. RESULTADOS

De acordo com os parâmetros físico-químicos (Tabela 1), os valores de potencial de hidrogênio (pH) para 61 poços foram abaixo de 6,5, ou seja de características ácidas. Apenas dois poços apresentaram valores de turbidez acima de 5,0 NTU (Unidades Nefelométricas de Turbidez). O cloro residual livre e flúor foi detectado em 6 e 7 amostras respectivamente.

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos das águas subterrâneas dos poços das cidades de Caarapó e Itaporã									
Parâmetros físicos/químicos	Caarapó				Itaporã				Valores de referência WHO*
	Poço Cavado n=10		Poço Tubular n=26		Poço Cavado n=17		Poço Tubular n=13		
	n	%	n	%	N	%	n	%	
pH									
Abaixo 6,5	7	70	25	96	16	94	12	92	6,5 -8,5
6,5 – 8,5	3	30	1	4	1	6	1	8	
Temperatura (°C)									
15,1- 24°C	7	70	6	23	5	29	1	8	
Acima de 24°C	3	30	20	77	12	71	12	92	
Turbidez									
Até 5,0 NTU	10	100	26	100	16	94	12	92	Até 5,0 NTU
Acima de 5,0 NTU	0	0	0	0	1	6	1	8	
Cloro Residual Livre									
0,0 mg/L	8	80	24	92	16	94	12	92	Até 5,0 mg/L
0,1 – 1,25mg/l	2	20	2	8	1	6	1	8	
Flúor									
0,0mg/L	7	70	17	65	16	94	9	69	Até 1,5 mg/L
0,1-0,65 mg/L	3	30	9	35	1	6	4	31	

*WHO, 2011; WHO, 2006.

Do total de amostras, 61% apresentaram contaminação para coliformes totais e 33% para *E. coli*. Caarapó apresentou uma menor contaminação por *E. coli*, possivelmente devido a menor quantidade de poços cavados nesse local, haja visto que nesse tipo de poço foi verificado maior contaminação em comparação aos poços tubulares (Tabela 2).

Tabela 2- Quantidade de poços positivos para presença de Coliformes totais e <i>E. coli</i> , na cidade de Caarapó e Itaporã, Brasil.										
	Caarapó				Itaporã				Valores totais**	
	Cavado n=10		Tubular n=26		Cavado n=17		Tubular n=13		n	%
	n	%	n	%	n	%	n	%		
C.T*	10	100	7	27	16	94	7	54	40	61%
<i>E.coli</i>	6	60	1	4	12	71	3	23	22	33%

*Coliformes Totais; **Contaminação.

Entre a relação de profundidade dos poços e contaminação por Coliformes Totais e *E. coli*, os poços de até 5 metros apresentaram uma maior porcentagem de contaminação (90%) para Coliformes e 60% para *E. coli*. Poços de 5,5-10 metros, 79% estavam contaminados por Coliformes totais e 48% de *E. coli*. Os poços acima de 16 metros apresentou 28% de contaminação para coliformes totais e 5%, por *E. coli* (Tabela 3).

A contagem de bactérias heterotróficas superior a 500 UFC/mL, ocorreu em apenas 8% (5) amostras e foi isolado leveduras em 45% (30) amostras.

*Heterotróficos (>500 UFC/mL).

Tabela 3 – Relação entre profundidade dos poços e a contaminação por Coliformes Totais e <i>Escherichia coli</i> , bactérias heterotróficas e leveduras.										
Profundidade dos poços	n de poços por profundidade	Col. Totais		<i>E.coli</i>		Het*		Leveduras		
		n	%	n	%	n	%	n	%	
Até 5m	10	9	90	6	60	2	20	7	70	
5,5-10m	19	15	79	9	48	2	11	10	53	
10,5-15,5m	16	10	63	6	38	1	6	8	50	
Acima de 16m	21	6	28	1	5	-	-	5	24	
Total	66	40	60	22	33	5	8	30	45	

56 isolados foram identificados, porém não foi possível realizar o perfil de sensibilidade de 11 isolados por não haver padronização pelo CLSI. Das bactérias isoladas, 30,35% são Gram positivos e 69,55% Gram negativos. Os micro-organismos mais frequentes neste estudo foram a *Serratia marcescens*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosas* e *Acinetobacter*, conforme a Tabela 4.

Tabela 4. Bactérias heterotróficas Gram Negativas e Gram Positivas isoladas dos poços.

Microrganismos	n	%
Gram Positivas		
<i>Kocuria kristinae</i>	1	1,72
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> spp. <i>Cremonis</i>	1	1,72
<i>Micrococcus luteus</i>	9	15,51
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	1,72
<i>Staphylococcus hominis</i> spp.	2	3,44
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	1,72
<i>Staphylococcus warneri</i>	2	3,44
Gram Negativas		
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	4	6,89
<i>Acinetobacter</i> l <i>woffii</i> gt	1	1,72
<i>Aeromonas hydrophila</i>	2	3,44
<i>Chromobacterium violaceum</i>	1	1,72
<i>Citrobacter freundii</i>	2	3,44
<i>Citrobacter sedlakii</i>	1	1,72
<i>Enterobacter asburiae</i>	2	3,44
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	2	3,44
<i>Enterobacter gergoviae</i>	1	1,72
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	1,72
<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp.	1	1,72
<i>Kluyvera intermédia</i>	1	1,72
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	1	1,72
<i>Pantoea</i> spp.	1	1,72
<i>Pseudomonas aeruginosas</i>	5	8,62
<i>Pseudomonas putida</i>	1	1,72
<i>Ralstonia mannitolilytica</i>	1	1,72
<i>Serratia marcescens</i>	10	17,24
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	1,72

Apresentaram resistência a pelo menos um dos antimicrobianos testados *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus warneri*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Citrobacter sedlakii* e *Enterobacter cloacae* complex (Apêndice 1).

Quando os isolados apresentaram resistência a dois ou mais antimicrobianos, estes foram classificados como multirresistentes, como o *Acinetobacter haemolyticus*, *Ochrobactrum anthropi*, *Ralstonia mannitolilytica*, *Sphingomonas paucimobilis* e *Chromobacterium violaceum*.

O *Staphylococcus hominis* apresentou resistência a Penicilina e Eritromicina, o *Staphylococcus saprophyticus* apresentou resistência a Penicilina e Oxacilina e *Staphylococcus warneri*, a Penicilina e Eritromicina.

Um isolado de *Acinetobacter* spp. apresentou resistência a Ampicilina/Sulbactam, Ceftriaxone, Ciprofloxacina e Piperacilina/Tazobactam. *Aeromonas hydrophila*, *Chromobacterium violaceum*, *Kluyvera intermédia*, *Ochrobactrum anthropi*, *Pseudomonas putida*, *Ralstonia mannitolilytica* e *Sphingomonas paucimobilis*, e *Pantoea* spp., apresentaram resistência a Ceftazidime, Ceftriaxone, Ciprofloxacina, Piperacilina/Tazobactam, Gentamicina, Colistina, Imipenem. Quatro isolados de

Pseudomonas aeruginosas apresentaram resistência a Ampicilina/Sulbactam (Apêndice 2).

No grupo das enterobacterias, dois isolados de *Serratia marcescens* apresentaram resistência a Ampicilina/Sulbactam, *Citrobacter sedlakii* resistência a Cefoxitina e a *Enterobacter cloacae complex* resistência a Ampicilina/Sulbactam.

4. DISCUSSÃO

Os parâmetros físico-químicos são essenciais no monitoramento do tratamento da água potável da rede distribuição (WHO, 2011; WHO, 2006). Alguns desses parâmetros não são encontrados nas águas dos poços, apenas em caso de adição dos compostos, como o cloro. O baixo pH encontrado nas amostras pode ser uma característica do Latossolo, solo predominante dessas regiões com características ácidas e pH entre 4,0 e 5,5 (Spera et al., 2000; Pereira et al., 2012). Já que em outros estudos os valores são mais elevados (Sudheer et al., 2015; Jimmy et al., 2013; Chaves et al., 2012; Emmanuel et al., 2009), estas condições podem levar a corrosão dos tubos condutores de água em sistemas de uso domésticos (WHO, 2011). A elevada temperatura encontrada nas amostras pode aumentar os problemas relacionados a sabor, odor, cor e favorecer o crescimento de microorganismos (Ramírez Castillo et al., 2013; WHO, 2011) e valores aumentados de turbidez, podem ser causados pela presença de partículas em suspensão ou mesmo da própria natureza das rochas do solo (Scorsafava et al., 2010).

Não é comum a detecção de cloro residual em água proveniente de poços. No entanto neste trabalho, foi detectado possivelmente devido a tentativa de alguns proprietários realizarem o tratamento do poço, adicionando Hipoclorito de Sódio a 2,5% sem nenhum critério específico. A baixa concentração de flúor detectada neste trabalho e em outros como os desenvolvidos por Cazotti et al., (2012) e Ogbu et al., (2012) pode estar relacionada aos tipos de rochas, pois quando estas apresentam elevadas concentrações, elevam a concentração na água (Gwala et al., 2014).

Problemas de contaminação microbiológica na água podem levar a veiculação de doenças (WHO, 2011), a contaminação do total de poços por *E. coli*, não foi acentuada semelhante ao trabalho de Arnold et al., (2013). Porém, os poços cavados apresentaram dados alarmantes, onde praticamente todos os poços apresentaram contaminação por *E. coli*, tornando a água imprópria para o consumo conforme WHO (2006).

Fatores como diâmetro de abertura, contato direto com baldes, bombas motoras submersas e disposição direta às atividades antrópicas, podem ter favorecido a contaminação dos poços cavados por micro-organismos, fatores semelhantes a outros estudos (Hynds et al., 2014; Odeleye et al., 2015). Durante o estudo foi observado que alguns poços cavados são mais superficiais, não apresentaram tampa de proteção ou qualquer outro tipo de cobertura, construídos geralmente em contato direto ao solo, sem nenhuma área de concreto ou azulejo, sem qualquer área de proteção, expostos a chuva, poeira, conseqüentemente à maior disponibilidade de contaminação. A distância entre os poços e a fossa analisados, não demonstraram possível interferência nas contaminações das águas.

Águas subterrâneas superficiais podem ser mais contaminadas, por apresentarem alta porosidade e proximidade com o solo, possibilitando receber através da percolação, possíveis contaminantes (Da Silva et al., 2013). Neste estudo foi constatado que quanto menor a profundidade dos poços maior foi a presença de contaminação por coliformes totais, *E. coli*, heterotróficos e leveduras.

Vaz-Moreira et al., (2012), ressaltaram que a água pode propagar a resistência adquirida aos antimicrobianos por transmissão via oral. A microbiota da água de poços pode variar de acordo com os contaminantes e algumas bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Citrobacter spp*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter spp*. foram isolados em outros estudos (Odeleye & Idowo, 2015; Mukhopadhyay et al., 2012).

A obtenção de resistência através da contaminação pode levar a bactéria a ser um potencial patógeno de transmissão de infecções na comunidade (Mukhopadhyay et al., 2012). A presença de resistência antimicrobiana à penicilina de *Staphylococcus spp.*, semelhante a isolados de amostras clínicas de hemocultura (Voineagu et al., 2012; Abdalla et al., 2012) reitera a necessidade de investigação para esta problemática.

Um isolado de *Acinetobacter spp*. apresentou multirresistência a quatro tipos de antimicrobianos, com resistência a drogas de primeira e segunda escolha.

Serratia spp. são bactérias de comum isolamento em amostras clínicas (Montagnani et al., 2015; Liu & Liu, 2015; Gupta et al., 2014) e atualmente tem sido isolada também em água (Mukhopadhyay et al., 2012). *Enterobacter cloacae complex* e *as Pseudomonas spp.* são bactérias oportunistas que podem causar infecções em pessoas imunocomprometidas, apresentando risco a saúde (Zineba et al., 2015; Mezzatesta et al., 2012; Wingender & Flemming, 2011; Moritz et al., 2010). A *Pseudomonas spp.* possui a

capacidade de formar biofilme, comum em água e apresentam alta incidência em ambientes hospitalares (Santos-Medellín et al., 2014).

Isolados de *Ochrobactrum anthropi*, *Ralstonia mannitolilytica*, *Sphingomonas paucimobilis* também foram evidenciados em outros estudos para análise de água (Machado & Bordalo, 2014; Adesoji et al., 2014; Chen, 2013), porém no presente estudo os isolados apresentaram multirresistência aos antimicrobianos testados, com resistência para antibióticos de primeira e segunda escolha (CLSI, 2014).

Chromobacterium violaceum foi apresentada neste estudo com multirresistência, assemelhando-se à outras pesquisas (Yang & Li, 2011; Bottieau et al., 2015), com resistência a droga de segunda escolha (CLSI, 2014)

No Brasil, Menezes et al., (2015) constataram a presença desta bactéria em água e Dias et al., (2005) comprovaram óbitos através da contaminação direta desta bactéria, presente na água e no solo de praia brasileira.

Os perfis de resistências aos antimicrobianos dos isolados foram similares aos micro-organismos isolados de amostras clínicas, a disseminação ambiente-hospital-ambiente pode ser considerada.

Segundo Wellington et al., (2013), a atividade antrópica pode causar a disseminação de microrganismos resistentes no meio ambiente, e se não interrompida, pode evoluir para difusão de agentes multirresistentes no hospital, na comunidade e no meio ambiente, sendo importante problema de saúde pública.

5. CONCLUSÃO

O estado atual das águas subterrâneas revelou que as contaminações dos poços cavados estão diretamente relacionadas a profundidade. Por serem mais rasos, sofrem maiores influências dos fatores de contaminação e oferece sérios riscos à saúde dos consumidores, pois não são consideradas adequadas para o consumo humano.

As bactérias encontradas demonstram que as águas de poços podem ser um reservatório de microrganismos resistentes e multirresistentes, alertando para o perfil dos isolados das águas subterrâneas serem semelhante aos isolados clínicos. Desta forma, a população que depende de poços como fonte alternativa de água, fica exposta ao alto risco de contaminação, além do risco de dispersão de resistência dessas bactérias no ambiente.

6. REFERÊNCIAS

Abdalla, N.M., Haimour, W.O., Osman, A.A., Sarhan, M.A., Musaa, H.A., 2012. Antibiotics Sensitivity Profile Towards *Staphylococcus hominis* in Assir Region of Saudi Arabia. *Journal of Scientific Research* 5(1), 171-183.

Adesoji, A.T., Ogunjobi, A.A., Olatoye, I.O., 2014. Drinking water distribution systems of dams in Ondo State, Nigeria as reservoir of multi-drug resistant bacteria. *World Applied Sciences Journal* 32(3), 403-414.

Amin, S., 2014. Prevalence of bacteria in drinking water in Karachi and their antimicrobial susceptibility. *Journal of the Dow University of Health Sciences* 8(2), 49-53.

APHA, 2005. American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater, Washington. 21st ed.

Arnold, M., Vanderslice, J.A., Taylor, B., Benson, S., Allen, S., Johnson, M., Ansong, D., 2013. Drinking water quality and source reliability in rural Ashanti region, Ghana. *Journal of Water and Health* 11(1), 161-172.

Azizullah, A., Khattak, M.N.K., Richter, P., Häder, D.P., 2011. Water pollution in Pakistan and its impact on public health—a review. *Environment International* 37(2), 479-497.

Bottieau, E., Mukendi, D., Kalo, J.R., Mpanya, A., Lutumba, P., Barbé, B., Chappuis F., Boelaert M., Jacobs, J., 2015. Fatal *Chromobacterium violaceum* bacteraemia in rural Bandundu, Democratic Republic of the Congo. *New Microbes and New Infections* 3, 21-23.

BRASIL, 2011. Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde. Portaria, MS. nº 2914 de 12 de Dezembro de 2011. Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. Brasília: Ministério da Saúde.

Cazotti, C.A., Francisco, K.M.S., Gomes Filho, D.L., Presta A.A, Moimaz S.A.S., 2012. Fluoride content in water of shallow wells. *Bioscience Journal* 28(3), 494-499.

Chaves, N.P., Almeida, V.M., Ferreira, J.R.C., Costa Sobrinho, J.R.S., Alves L.M.C., Costa, F.N., Rocha, W.E., 2012. Qualidade bacteriológica e físico-química da água de

poços para o consumo humano no estado do maranhão. *Revista Higiene Alimentar* 26, 184-188.

Chen, H., Jogler, M., Tindall, B.J., Klenk, H.P., Rohde, M., Busse, H.J., Overmann, J., 2013. *Sphingomonas starnbergensis* sp. nov., isolated from a prealpine freshwater lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(Pt 3), 1017-1023.

CLSI, 2014. *Clinical and Laboratory, Standards Institute. M100-S24 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-fourth Informational Supplement.* Wayne, Clinical Laboratory Standards Institute.

Da Silva, C.A., Strapação, S., Yamanaka, E.H.U., Ballão, C., Monteiro, C. S., 2013. Diagnóstico da potabilidade da água de poços rasos de uma comunidade tradicional. *Revista Biociências* 19(2), 88-92.

Das, M., Kumar, A., Mohapatra, M., Muduli, S.D., 2010. Evaluation of drinking quality of groundwater through multivariate techniques in urban area. *Environmental Monitoring and Assessment*, 166(1-4), 149-157.

Dias, J.P., Silvany, C., Saraiva, M.M., Ruf, H.R., Guzmán, J.D., Carmo, E.H., 2005. Cromobacteriose em Ilhéus, Bahia: investigação epidemiológica clínica e laboratorial. *Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 38, 503-506.

Dias, M.F.F., Moreia, I.V., Manaia, C.M., 2012. Bottled mineral water as a potential source of antibiotic resistant bacteria. *Water Research* 46, 3612-3622.

Emmanuel, E., Pierre, M.G., Perrodin, Y., 2009. Groundwater contamination by microbiological and chemical substances released from hospital wastewater: health risk assessment for drinking water consumers. *Environment International* 35, 718-726.

Freeman, M.C., Trinies, V., Boisson, S., Mak, G., Clasen, T. 2012. Promoting Household Water Treatment through Women's Self Help Groups in Rural India: Assessing Impact on Drinking Water Quality and Equity. *Plos One* 7(9), e44068.

Freire, R.C., Lima, R.A., 2012. Heterotrophic bacteria in the distribution system of drinking water in the city of Olinda-PE and its importance to the public health. *Journal of Management and Primary Health Care* 3(2), 91-95.

Gupta, N., Hocevar, S.N., Moulton-Meissner, H.A., Stevens, K.M., McIntyre, M.G., Jensen, B., Kuhar D.T., Noble-Wang J.A., Schnatz R.G., Becker S.C., Kastango E.S., Shehab N., Kallen, A.J., 2014. Outbreak of *Serratia marcescens* blood stream infections

in patients receiving parenteral nutrition Prepared by a Compounding Pharmacy. *Clinical Infectious Diseases* 59(1), 1-8.

Gwala, P., Andey, S., Nagarnaik, P., Ghosh, S.P., Pal, P., Deshmukh, P., Labhasetwar, P., 2014. Design and development of sustainable remediation process for mitigation of fluoride contamination in ground water and field application for domestic use. *Science of the Total Environment* 488, 588-594.

Huang, C.H., Renew, J.E., Smeby, K.L., Pinkston, K., Sedlak, D. L., 2011. Assessment of potential antibiotic contaminants in water and preliminary occurrence analysis. *Journal of Contemporary Water Research and Education* 120(1), 4.

Hynds, P., Misstear, B.D., Gill, L.W., Murphy, H.M., 2014. Groundwater source contamination mechanisms: Physicochemical profile clustering, risk factor analysis and multivariate modelling. *Journal of Contaminant Hydrology*, 159, 47-56.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2010. Cidades. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php>>. Acesso em: 03 mai 2015.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades. 2014. Disponível em: <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php>>. Acesso em: 01 Mai 2015.

INDEXX Laboratories, Inc., 2012. Colilert Test Kit. Disponível em: <https://www.idexx.com/pubwebresources/pdf/en_us/water/colilert-18-pkg-insert.pdf>. Acesso em: 05 mar 2014.

Ishida, K., Ueda-Yamaguchi, M., Ueda-Nakamura, T., Dias Filho, B.P., Yamada-Ogatta, S.F., Nakamura, C.V., 2013. Performance of methods for identification of yeasts isolated from blotted water: High prevalence of *Candida parapsilosis*. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde* 34(2), 205-214.

Jimmy, D.H., Sundufu, A.J., Malanoski, A.P., Jacobsen, K.H., Ansumana, R., Leski, T. A., Bangura, U., Bockarie, A.S., Tejan, E., Lin, B., Stenger, D.A., 2013. Water quality associated public health risk in Bo, Sierra Leone. - *Environmental Monitoring Assessment* 185(1), 241-251.

Liu, C.F., Liu, J.W., 2015. Investigation and containment of an outbreak of healthcare-associated infections cause by *Serratia marcescens* in a liver surgical ward and a surgical intensive-care unit at a medical centre. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 48(2), S85.

Machado, A., Bordalo, A.A., 2014. Prevalence of antibiotic resistance in bacteria isolated from drinking well water available in Guinea-Bissau (West Africa). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 106, 188-194.

Menezes, C.B.A., Tonin, M.F., Corrêa, D.B.A., Parma, M., de Melo, I.S., Zucchi, T.D., Destéfano S.A.L., Fantinatti-Garboggini, F., 2015. *Chromobacterium amazonense* sp. nov. isolated from water samples from the Rio Negro, Amazon, Brazil. *Antonie Van Leeuwenhoek* 107(4), 1057-1063.

Mezzatesta, M.L., Gona, F., Stefani, S., 2012. *Enterobacter cloacae* complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance. *Future Microbiology* 7(7), 887-902.

Montagnani, C., Cocchi, P., Lega, L., Campana, S., Biermann, K.P., Braggion, C., Pecile P., Chiappini E., Martino M de., Galli, L., 2015. *Serratia marcescens* outbreak in a neonatal intensive care unit: crucial role of implementing hand hygiene among external consultants. *BMC Infectious Diseases* 15(1), 1-5.

Moritz, M.M., Flemming, H.C., Wingender, J., 2010. Integration of *Pseudomonas aeruginosa* and *Legionella pneumophila* in drinking water biofilms grown on domestic plumbing materials. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 213(3), 190-197.

Mukhopadhyay, C., Vishwanath, S., Eshwara, V.K., Shankaranarayana, S.A., Sagir, A., 2012. Microbial quality of well water from rural and urban households in Karnataka, India: a cross-sectional study. *Journal of Infection and Public Health* 5(3), 257-262.

Nabeela, F., Azizullah, A., Bibi, R., Uzma, S., Murad, W., Shakir, S. K., Ullah W., Qasim M., Häder, D.P., 2014. Microbial contamination of drinking water in Pakistan - a review. *Environmental Science and Pollution Research* 21(24), 13929-13942.

Odeleye, F.O., Idowu, A.O., 2015. Bacterial pathogens associated with hand-dugwells in Ibadan city. *African Journal of Microbiology Research* 9(10), 701-707.

Ogbu, I.S.I., Okoro, O.I.O., Ugwuja, E. I., 2012. Well Waters Fluoride in Enugu, Nigeria. *The International Journal of Occupational And Environmental Medicine* 3(2), 96-98.

Okotto-Okotto, J., Okotto, L., Price, H., Pedley, S., Wright, J., 2015. A longitudinal study of long-term change in contamination hazards and shallow well quality in two neighbourhoods of Kisumu, Kenya. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 12(4), 4275-4291.

Padovani, G., 2013. Uma Questão de Sobrevivência. Revista Água e Meio Ambiente Subterrâneo 5(33).

Pal, A., He, Y., Jekel, M., Reinhard, M., Gin, K.Y.H., 2014. Emerging contaminants of public health significance as water quality indicator compounds in the urban water cycle. Environment International 71, 46-62.

Pereira, J. G., Comar, V., Macedo, G. Z., 2012. Atlas dos recursos hídricos superficiais do território da grande Dourados. Dourados, MS, Editora da UFGD, 37.

Ramírez Castillo, F.Y., Avelar González, F.J., Garneau, P., Márquez Díaz, F., Guerrero Barrera, A.L., Harel, J., 2013. Presence of multi-drug resistant pathogenic *Escherichia Coli* in the San Pedro River located in The State of águas calientes, México. Frontiers of Microbiology 4, 1-16.

Risebro, H.L., Breton, L., Aird, H., Hooper, A., Hunter, P.R., 2012. Contaminated small drinking water supplies and risk of infectious intestinal disease: A prospective cohort study. Plos One 7(8), e42762.

Santos-Medellín, C., Grosso-Becerra, M.V., González-Valdez, A., Méndez, J.L., Delgado, G., Morales-Espinosa, R., Servín-González, L., Alcaraz, L.D., Soberón-Chávez, G., 2014. *Pseudomonas aeruginosa* clinical and environmental isolates constitute a single population with high phenotypic diversity. BMC Genomics 15(1), 1-14.

Scorsafava, M.A., Souza, A. de., Stofer M., Nunes, C.A., Milanez, T.V., 2010. Avaliação físico-química da qualidade de água de poços e minas destinada ao consumo humano. Revista Instituto Adolfo Lutz São Paulo 69(2), 229-232.

Shar, A.H., Kazi, Y.F., Zardari, M., Soomro, I. H., 2009. Bacteriological quality of drinking water of Sukkurcity. Pakistan Journal of Medical Research 48(4), 88-90.

Shehab, N., Kallen, A.J., 2014. Outbreak of *Serratia marcescens* blood stream infections in patients receiving parenteral nutrition Prepared by a Compounding Pharmacy. Clinical Infectious Diseases 59(1), 1-8.

Silva, N., Junqueira V.C.A., Silveira, N.F.A., Taniwaki, M.H., Santos, R.F.S., Gomes, R.A.R., 2010. Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos e água. Ed Varela 4, 624.

Spera, S. T., Reatto, A., Correia, J. R., & Silva, J. C. S., 2000. Características físicas de um Latossolo Vermelho-Escuro no cerrado de Planaltina, DF, submetido à ação do fogo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35(9), 1817-1824.

Sudheer, B.V., Sivaramaprasd, V., Sivaramakrishna, Y., 2015. Bacterial water quality in open wells at Kotapakonda village in Guntur District Andhra Pradesh during Mahasivrathri Festival. *International Journal of Science and Research* 4, 659-661.

Vaz-Moreira, I., Nunes, O.C., Manaia, C.M., 2012. Diversity and antibiotic resistance in *Pseudomonas spp.* from drinking water. *Science of the Total Environment* 4(26), 366-374.

Voineagu, L., Braga, V., Botnariuc, M., Barbu, A., Tataru, M., 2012. Emergence of *Staphylococcus hominis* Strains in General Infections. *ARS Medica Tomitana* 18(2), 80-82.

Wahome, C.N., Okemo, P.O., Nyamache, A.K., 2014. Microbial quality and antibiotic resistant bacterial pathogens isolated from groundwater used by residents of Ongata Rongai, Kajiado North County, Kenya. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 8(1), 134-143.

Walcher, M., Bormann, H., 2015. On the Transferability of the Concept of Drinking Water Protection Zones from EU to Latin American Countries. *Water Resources Management* 6(29), 1803-1822

Wellington, E.M., Boxall, A.B., Cross, P., Feil, E.J., Gaze, W.H., Hawkey, P.M., Jhonson-Rollings, A.S., Jones, D.L., Lee, N.M., Otten, W., Thomas C.M., Williams, A.P., 2013. The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *The Lancet Infectious Diseases* 13(2), 155-165.

WHO - World Health Organization, 2006. Guías para la calidad del agua potable 1(3), 1-398.

WHO - World Health Organization. 2011. Guidelines for Drinking-water Quality, 1-541.

WHO - World Health Organization. 2014. Investing in water and sanitation: increasing access, reducing inequalities, special report for the Sanitation and Water for All (SWA), high level meeting (HLM).

Wingender, J., Flemming, H.C., 2011. Biofilms in drinking water and their role as reservoir for pathogens. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 214(6), 417-423.

Yang, C.H., Li, Y.H., 2011. *Chromobacterium violaceum* infection: a clinical review of an important but neglected infection. *Journal of the Chinese Medical Association* 74(10), 435-441.

Zineba, G., Hassan, L., Mostafa, M., Abdellah, H., Mohammed, T., El Mostafa, M., 2015. Virulence phenotype, physicochemical properties, and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* on polyethylene used in drinking water distribution systems. *Water Resources* 42(1), 98-107.

ANEXO I
APÊNCIDES

Apêndice 1. CIM (concentração inibitória mínima) dos 16 antibióticos testados frente as bactérias Gram positivas isoladas de águas subterrâneas.

Micro-organismos	Antibióticos - Valor de CIM (ug/mL)															
	P	AM	CM	E	FA	CIP	LNZ	MXF	GM	NOR	OX1	RA	TEC	TGC	SXT	VA
<i>*S. epidermidis</i>	≤ 0,03	-	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	1	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,5	4	≤ 0,12	≤ 10	1
<i>*S. hominis ssp¹</i>	≥ 0,5	-	≤ 0,25	≥ 8	≤ 0,5	≤ 0,5	1	≤ 0,25	4	1	≤ 0,25	≤ 0,5	4	≤ 0,12	≤ 10	1
<i>*S. hominis ssp²</i>	0,25	-	≤ 0,25	≥ 8	≤ 0,5	≤ 0,5	2	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,12	≤ 10	≤ 0,5
<i>*S. saprophyticus</i>	0,25	-	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	2	≤ 0,25	≤ 0,5	2	2	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,12	≤ 10	≤ 0,5
<i>*S. warneri¹</i>	0,25	-	≤ 0,25	≤ 0,25	1	≤ 0,5	2	≤ 0,25	≤ 0,5	0,5	≤ 0,25	2	16	≤ 0,12	≤ 10	1
<i>*S. warneri²</i>	≥ 0,5	-	≤ 0,25	≥ 8	8	≤ 0,5	2	≤ 0,25	≤ 0,5	0,5	≤ 0,25	≥ 0,5	4	0,25	≤ 10	≤ 0,5

**Staphylococcus*; CIM: Concentração Inibitória Mínima; P: Penicilina; AM: Ampicilina; CM: Clindamicina; E: Eritromicina; FA: Fusidic Acid; CIP: Ciprofloxacina; LNZ: Linezolid; MXF: Moxifloxacina; GM: Gentamicina; NOR: Norfloxacina; OX1: Oxacilina; RA: Rifampicina; TEC: Teicoplanina; TGC: Tigeciclina; SXT: Trimetoprim/Sulfametoxazol; VA: Vancomicina.

Apêndice 2. CIM (concentração inibitória mínima) dos 16 antibióticos testados frente as bactérias Gram negativas isoladas de águas subterrâneas.

Micro-organismos	Antibióticos - Valor de CIM (ug/mL)															
	AN	AM	SAM	FEP	FOX	CAZ	CRO	CXM	CIP	CS	ETP	GM	IPM	MEM	TZP	TGC
<i>Serratia marcescens</i> ¹	≤ 2	≥ 32	16	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	≥ 64	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	2	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Serratia marcescens</i> ²	≤ 2	16	16	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	1	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Serratia marcescens</i> ³	≤ 2	16	8	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	0,5	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Serratia marcescens</i> ⁴	≤ 2	16	8	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	1	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Serratia marcescens</i> ⁵	≤ 2	16	2	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	1	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Serratia marcescens</i> ⁶	≤ 2	16	8	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	0,5	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Serratia marcescens</i> ⁷	≤ 2	16	8	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	1	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Serratia marcescens</i> ⁸	≤ 2	16	16	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	1	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Serratia marcescens</i> ⁹	≤ 2	8	4	≤ 1	8	≤ 1	≤ 1	16	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	1
<i>Serratia marcescens</i> ¹⁰	≤ 2	16	8	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≥ 16	≤ 0,5	≤ 1	1	≤ 0,25	≤ 4	2
<i>Acinetobacter haemolyticus</i> ¹	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 1	≤ 4	2	8	4	≤ 0,25	2	-	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	-	≤ 0,5
<i>Acinetobacter haemolyticus</i> ²	16	≥ 32	≥ 32	8	≤ 4	16	≥ 64	≥ 64	≥ 4	1	-	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≥ 128	≤ 0,5
<i>Acinetobacter haemolyticus</i> ³	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 1	8	2	8	4	≤ 0,25	2	-	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Acinetobacter haemolyticus</i> ⁴	≤ 2	4	≤ 2	≤ 1	≤ 4	2	8	4	≤ 0,25	≤ 0,5	-	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	≤ 2	≤ 2	≤ 2	2	≤ 4	16	≤ 1	≤ 1	≤ 0,25	2	-	≤ 1	≤ 0,25	1	16	≤ 0,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ¹	-	16	4	≤ 1	16	-	-	-	≤ 0,25	≤ 0,5	-	-	-	≤ 0,25	32	≤ 0,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ²	≤ 2	≥ 32	≥ 32	2	≥ 64	4	≥ 64	≥ 64	≤ 0,25	≤ 0,5	-	≤ 1	2	≤ 0,25	8	≥ 8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ³	≤ 2	≥ 32	≥ 32	2	≥ 64	4	≥ 64	≥ 64	≤ 0,25	≤ 0,5	-	≤ 1	2	≤ 0,25	8	≥ 8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ⁴	≤ 2	≥ 32	≥ 32	2	≥ 64	2	32	≥ 64	≤ 0,25	≤ 0,5	-	≤ 1	2	≤ 0,25	8	≥ 8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ⁵	≤ 2	≥ 32	≥ 32	8	≥ 64	4	≥ 64	≥ 64	≤ 0,25	2	-	≤ 1	2	4	16	≥ 8

CIM: Concentração Inibitória Mínima; AN: Amicacina; AM: Ampicilina; SAM: Ampicilina/Sulbactam; FEP: Cefepime; FOX: Cefoxitina; CAZ: Ceftazidime; CRO: Ceftriaxone; CXM: Cefuroxima; CIP: Ciprofloxacina; CS: Colistina; ETP: Ertapenem; GM: Gentamicina; IPM: Imipenem; MEM: Meropenem; TZP: Piperacilina/Tazobactam; TGC: Tigecyclina

Apêndice 2. CIM (concentração inibitória mínima) dos 16 antibióticos testados frente as bactérias Gram negativas isoladas de águas subterrâneas (continuação).

Micro-organismos	Antibióticos - Valor de CIM (ug/mL)															
	AN	AM	SAM	FEP	FOX	CAZ	CRO	CXM	CIP	CS	ETP	GM	IPM	MEM	TZP	TGC
<i>Aeromonas hydrophila</i> ¹	≤ 2	-	-	≤ 1	-	≤ 1	≤ 1	-	≤ 0,25	2	-	≤ 1	0,5	≤ 0,25	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i> ²	≤ 2	-	-	≤ 1	-	≤ 1	≤ 1	-	≤ 0,25	≤ 0,5	-	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	-
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	16	-	-	4	-	≥ 64	≥ 64	-	≥ 4	≤ 0,5	-	8	0,5	≤ 0,25	≥ 128	-
<i>Pantoea spp.</i>	≤ 2	-	-	≤ 1	-	≤ 1	≤ 1	-	≤ 0,25	≥ 0,5	-	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	-	-
<i>Pseudomonas putida</i>	≤ 2	-	-	2	-	4	16	-	≤ 0,25	≤ 0,5	-	≤ 1	1	4	32	-
<i>Ralstonia mannitolilytica</i>	8	-	-	≤ 1	-	8	≤ 1	-	≤ 0,25	≥ 16	-	≥ 16	≥ 16	8	≥ 128	-
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	8	-	-	16	-	≥ 64	16	-	≥ 4	≥ 16	-	4	2	4	8	-
<i>Chromobacterium violaceum</i>	16	-	-	≤ 1	-	≤ 1	≥ 64	-	≤ 0,25	≥ 16	-	≤ 1	8	-	≥ 128	-
<i>Kluyvera intermédia</i>	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 1	≤ 4	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≥ 128	≤ 0,5
<i>Citrobacter freundii</i> ¹	≤ 2	8	≤ 2	≤ 1	32	≤ 1	≤ 1	4	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Citrobacter freundii</i> ²	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 1	32	≤ 1	≤ 1	4	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Citrobacter sedlakii</i>	≤ 2	4	≤ 2	≤ 1	≥ 64	≤ 1	≤ 1	4	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	0,5	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Enterobacter asburiae</i> ¹	≤ 2	16	4	≤ 1	16	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Enterobacter asburiae</i> ²	≤ 2	8	4	≤ 1	≥ 64	≤ 1	≤ 1	4	≤ 0,25	2	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Enterobacter cloacae complex</i> ¹	≤ 2	16	≤ 2	≤ 1	≤ 4	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Enterobacter cloacae complex</i> ²	≤ 2	≥ 32	≥ 32	≤ 1	≥ 64	≤ 1	≤ 1	32	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	8	≤ 0,25	≤ 0,25	16	1
<i>Enterobacter gergoviae</i>	≤ 2	4	≤ 2	≤ 1	≤ 4	≤ 1	≤ 1	2	≤ 0,25	≥ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	0,5	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	≤ 2	16	≤ 2	≤ 1	≤ 4	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5
<i>Klebsiella pneumoniae spp.</i>	≤ 2	16	4	≤ 1	≤ 4	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0,25	≥ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 4	≤ 0,5

CIM: Concentração Inibitória Mínima; AN: Amicacina; AM: Ampicilina; SAM: Ampicilina/Sulbactam; FEP: Cefepime; FOX: Cefoxitina; CAZ: Ceftazidime; CRO: Ceftriaxone; CXM: Cefuroxima; CIP: Ciprofloxacina; CS: Colistina; ETP: Ertapenem; GM: Gentamicina; IPM: Imipenem; MEM: Meropenem; TZP: Piperacilina/Tazobactam; TGC: Tigecyclina.

NORMAS DA REVISTA
WATER RESEARCH



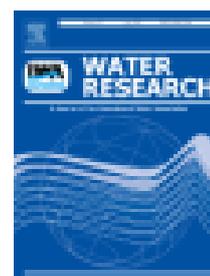
WATER RESEARCH

A Journal of the International Water Association (IWA)

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

•	Description	p.1
•	Audience	p.1
•	Impact Factor	p.1
•	Abstracting and Indexing	p.2
•	Editorial Board	p.2
•	Guide for Authors	p.4



ISSN: 0043-1354

DESCRIPTION

Water Research

Welcome to the online submission and editorial system for Water Research.

Water Research publishes refereed, original research papers on all aspects of the science and technology of water quality and its management worldwide. A broad outline of the journal's scope includes:

Treatment processes for water and wastewaters, municipal, agricultural and industrial, including residuals management. Water quality monitoring and assessment, based on chemical, physical and biological methods. Studies on inland, tidal or coastal waters and urban waters, including surface and ground waters, and point and non-point sources of pollution. The limnology of lakes, impoundments and rivers. Solid and hazardous waste management, including source characterization and the effects and control of leachates and gaseous emissions. Environmental restoration, including soil and groundwater remediation. Analysis of the interfaces between sediments and water, and water/atmosphere interactions. The application of mathematical modelling and system analysis techniques. Public health and risk assessment.

Audience

Biologists, chemical engineers, chemists, civil engineers, environmental engineers, limnologists and microbiologists.

AUDIENCE

Chemists, biologists, microbiologists, immunologists, limnologists, civil engineers, sanitary engineers and chemical engineers.

IMPACT FACTOR

2013: 5.323 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2014

ABSTRACTING AND INDEXING

Aqualine Abstracts
 BIOSIS
 Elsevier BIOBASE
 Chemical Abstracts
 Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences
 Current Contents/SciSearch Database
 Current Contents/Social & Behavioral Sciences
 EIC/Intelligence
 EMBASE
 Environmental Periodicals Bibliography
 GEOBASE
 Geo Bib & Index
 INSPEC
 PASCAL/CNRS
 Reference Update
 Research Alert
 Scopus

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Mark van Loosdrecht, Department of Biochemical Engineering
 Delft University of Technology
 KWR Watercycle Research
 Delft
 Netherlands

Editors

Jean-Claude Block, Université de Lorraine, Villers les Nancy, France
David Dixon, University of Melbourne, Parkville, VIC, Australia
Hiroaki Furumai, The University of Tokyo, Tokyo, Japan
Xiaodi Hao, Beijing University of Civil Engineering and Architecture, Beijing, China
Gregory Korshin, University of Washington, Seattle, Washington, USA
Anna Ledin, KTH Royal Institute of Technology, Stockholm, Sweden
Eberhard Morgenroth, Swiss Federal Institute of Aquatic Science & Technology (EAWAG), Dübendorf, Switzerland
Wolfgang Rauch, University of Innsbruck, Innsbruck, Austria
Maria Reis, Universidade Nova de Lisboa (Lisbon), Caparica, Portugal
Hang-Sik Shin, Korea Advanced Institute of Science and Technology (KAIST), Yuseong-Gu, Daejeon, South Korea
Thomas Ternes, Federal Institute of Hydrology, Koblenz, Germany
Stefan Wuertz, University of California, Davis, Davis, California, USA

Associate Editors

Andy Baker, University of New South Wales, Maitly Vale, New South Wales, Australia
Damien Batstone, University of Queensland, St.Lucia, Queensland, Australia
Nicolas Bernet, Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement, Narbonne, France
Guang-Hao Chen, Hong Kong University of Science & Technology, Hong Kong, China
Rob Eldridge
Monica Emelko, University of Waterloo, Waterloo, Ontario, Canada
Tim Fletcher, University of Melbourne, Parkville, Victoria, Australia
Rosina Girones, University of Barcelona, Barcelona, Spain
Stephen Gray, Victoria University of Melbourne, Melbourne, Victoria, Australia
Kate Grudpan, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand
Peter Hillis, AECOM, Melbourne, Victoria, Australia
Hong-Ying Hu, Tsinghua University, Beijing, China
Ulf Jeppsson, Lund University, Lund, Sweden
Gunter Langgraber, Universität für Bodenkultur Wien (BOKU), Wien, Austria
Shang-Lien Lo, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, ROC
Dionisis Mantzavinos, University of Patras, Patras, Greece
Yoshihiko Matsui, Hokkaido University, Sapporo, Japan
Armand Maul, Université Paul Verlaine - Metz, Metz, France

Max Maurer, Swiss Federal Institute of Aquatic Science & Technology (EAWAG), Dübendorf, Switzerland
How Yong Ng, National University of Singapore, Singapore, Singapore
Jong Moon Park, Pohang University of Science and Technology, Pohang, Gyeongbuk, South Korea
Susan Richardson, University of South Carolina, Columbia, USA
Miquel Salgot, University of Barcelona, Barcelona, Spain
Masahiro Takahashi, Hokkaido University, Sapporo, Japan
Nathalie Tufenkji, McGill University, Montreal, Quebec, Canada
Kai Udert, Swiss Federal Institute of Aquatic Science & Technology (EAWAG), Dübendorf, Switzerland
Vayalam Venugopalan, BARC Facilities, Tamil Nadu, India
Eduardo Von Sperling, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil
Han-Qing Yu, University of Science and Technology of China (USTC), Anhui, China
Julie Zilles, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, Illinois, USA
Anastasios Zouboulis, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Types of paper

Papers are published either as a Research Paper or a Review Paper. Comments on these papers are also welcome.

(a) A RESEARCH PAPER is a contribution describing original research, including theoretical exposition, extensive data and in-depth critical evaluation, and is peer reviewed. Water Research does not accept case studies, unless it is a study that has a wide impact on the industry. The total length of the manuscript including references must not exceed 8000 words. Please note that figures and tables must be added to the manuscript only if they are really useful for the presentation.

(b) REVIEW PAPERS are encouraged. Only critical review papers will be considered. The format and length of review papers are more flexible than for a full paper. Review papers are peer reviewed.

(c) COMMENTS on papers already published are welcome, subject to the criteria of interest, originality and the approval of the appropriate Editor. Comments can include extensions to, or criticisms of, those papers. They must provide arguments that are reasoned, and not presented in a confrontational fashion. They will be sent to the author of the original paper for reply, the outcome of which may be publication in a future issue. Comments and Authors' Replies should not exceed 1200 words each and will be received until 4 months after publication. They will be accepted or rejected without corrections.

Comment or Reply papers should be submitted under the article type "Discussion" and should have an article title in the below format.

Comment on "TITLE of previously published article by AUTHORS [Water Research VOLUME YEAR PAGE-RANGE]".

Reply for Comment on "Title of previously published article by AUTHORS [Water Research VOLUME YEAR PAGE-RANGE]"

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Conflict of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>. Further information and an example of a Conflict of Interest form can be found at: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/286/p/7923.

Note that conference proceedings are a form of publication.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/sharingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

Contributors

Each author is required to declare his or her individual contribution to the article: all authors must have materially participated in the research and/or article preparation, so roles for all authors should be described. The statement that all authors have approved the final article should be true and included in the disclosure.

Changes to authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

Before the accepted manuscript is published in an online issue: Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

After the accepted manuscript is published in an online issue: Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright, see <http://www.elsevier.com/copyright>). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (for more information see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license (see <http://www.elsevier.com/openaccesslicenses>).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. For more information see <http://www.elsevier.com/copyright>.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some authors may also be reimbursed for associated publication fees. To learn more about existing agreements please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse
- An open access publication fee is payable by authors or on their behalf e.g. by their research funder or institution

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our universal access programs (<http://www.elsevier.com/access>).
- No open access publication fee payable by authors.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution (CC BY)

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The open access publication fee for this journal is **USD 3000**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Language Services

Manuscripts should be written in English. Authors who are unsure of correct English usage should have their manuscript checked by someone proficient in the language. Manuscripts in which the English is difficult to understand can be rejected.

Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit <http://www.elsevier.com/languagepolishing> or our customer support site at <http://epsupport.elsevier.com> for more information. Please note Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms & Conditions: <http://www.elsevier.com/termsandconditions>.

Submission

Submission to this journal proceeds totally online. Use the following guidelines to prepare your article. Via the homepage of this journal (<http://ees.elsevier.com/wrf/>) you will be guided stepwise through the creation and uploading of the various files. The system automatically converts source files to a single Adobe Acrobat PDF version of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail and via the author's homepage, removing the need for a hard-copy paper trail.

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/wrf/> .

Referees

You are required to submit, with the manuscript, the names and addresses of 4 potential referees that can give an independent review.

Important notice

Multi-part papers are not to be considered. Papers that are requested by the editors to be revised must be returned within 4 weeks or they will be regarded as withdrawn.

Water Research has no page charges.

PREPARATION

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each

individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Use line numbering throughout your paper.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Results

Results should be clear and concise.

Show only those experimental results that are relevant to your objectives and conclusions and which you want to discuss.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. It should integrate your findings in a comprehensive picture and place them in the context of the existing literature. A combined Results and Discussion section can be appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

For reviews the organisation of the paper can be different. It is however important that a review is more than a summary of the literature, an in-depth critical discussion is essential for acceptance of a review paper.

Conclusions

Conclusions section is mandatory for this journal. Conclusions contain essentially the 'take-home' message of a paper. Conclusions are not an extension of the discussion or a summary of the results. Authors are advised to list important implications of their work in form of a bulleted list. Conclusions must not contain references to the cited literature.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

It is also possible to add supplementary information on-line (see below).

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.

• **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major message. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, they must be cited in full, without reference to the reference list. Also, abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 x 1328 pixels (h x w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 x 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples.

Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements: [Illustration Service](#).

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, avoid general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes. Use keywords that make your paper easy detectable for interested readers in literature databases. Repeating terms in the title is usually not needed.

Abbreviations

Nomenclature must be listed at the beginning of the paper and must conform to the system of standard SI units. Acronyms and abbreviations must be spelled out in full at their first occurrence in the text. Authors should consult - "Notation for Use in the Description of Wastewater Treatment Processes", *Water Res.*1987;(21)2:135-9. In general, minimise the use of abbreviations so the paper remains easily understood by the general reader.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Save text in illustrations as "graphics" or enclose the font.
- Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times, Symbol.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Ensure that the figures can be understood without reading the text. Minimise use of abbreviations.
- Produce images near to the desired size of the printed version.
- For initial submission, figures can either be submitted next to the relevant text in the article or each figure can be submitted as a separate file. However, for revision, please ensure that you submit each figure as a separate file so that it can be used for production purpose if the manuscript gets accepted.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please "save as" or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as "graphics".

TIFF: color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

DOC, XLS, PDF or PPT: If your electronic artwork is created in any of these Microsoft Office applications please supply "as is".

Please do not:

- Supply embedded graphics in your wordprocessor (spreadsheet, presentation) document;
- Supply files that are optimised for screen use (like GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color: in print or online only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications that can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Submit each caption directly below each figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used. The figure caption should be understandable independent of the text and abbreviations should be avoided.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules.

Minimise the use of symbols and abbreviations in the tables.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Only cite the original papers and those relevant for the work, no need to give a full literature review in the introductory/discussion. A large fraction of self-citations is general an indication that the authors didn't place their work well in the literature context.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have a standard template available in key reference management packages. This covers packages using the Citation Style Language, such as Mendeley (<http://www.mendeley.com/features/reference-manager>) and also others like EndNote (<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>) and Reference Manager (<http://refman.com/support/rmstyles.asp>). Using plug-ins to word processing packages which are available from the above sites, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article and the list of references and citations to these will be formatted according to the journal style as described in this Guide. The process of including templates in these packages is constantly ongoing. If the journal you are looking for does not have a template available yet, please see the list of sample references and citations provided in this Guide to help you format these according to the journal style.

If you manage your research with Mendeley Desktop, you can easily install the reference style for this journal by clicking the link below:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/water-research>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice. For more information about the Citation Style Language, visit <http://citationstyles.org>.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style

References to published literature must be cited in the text as follows:

Li and Gregory (2006) - the date of publication in parentheses after the authors' names.

References must be listed together at the end of each paper and must not be given as footnotes. For other than review papers authors should aim to give no more than 20-30 recent, relevant references. They must be listed alphabetically starting with the surname of the first author, year followed by the title of the referenced paper and the full name of the periodical, as follows:

Li, G., Gregory, J., 2006. Flocculation and sedimentation of high-turbidity waters. *Water Research* 25 (9), 1137-1143.

It is particularly requested that (i) authors' initials, (ii) the title of the paper, and (iii) the volume, part number and first and last page numbers are given for each reference.

References to books, reports and theses must be cited in the narrative. They must include the author(s), date of publication, title of book, editor(s) name(s) if applicable, page numbers, name of publisher, and place of publication. The abbreviation *et al.* may be used in the text. However, the names of all authors must be given in the list of references. Personal communications and other unpublished works must be included in the reference list, giving full contact details (name and address of communicator).

Personal communications must be cited in the text as, for example, Champney (2006).

References in languages other than English must be referred to by an English translation (with the original language indicated in parentheses).

Citing and listing of web references. As a minimum, the full URL should be given. Any further information, if known (author names, dates, references to a source publication etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available at <http://www.elsevier.com/audioslides>. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Supplementary material

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Database linking

Elsevier encourages authors to connect articles with external databases, giving readers access to relevant databases that help to build a better understanding of the described research. Please refer to relevant database identifiers using the following format in your article: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN). See <http://www.elsevier.com/databaselinking> for more information and a full list of supported databases.

Google Maps and KML files

KML (Keyhole Markup Language) files (optional): You can enrich your online articles by providing KML or KMZ files which will be visualized using Google maps. The KML or KMZ files can be uploaded in our online submission system. KML is an XML schema for expressing geographic annotation and visualization within Internet-based Earth browsers. Elsevier will generate Google Maps from the submitted KML files and include these in the article when published online. Submitted KML files will also be available for downloading from your online article on ScienceDirect. For more information see <http://www.elsevier.com/googlemaps>.

Interactive plots

This journal encourages you to include data and quantitative results as interactive plots with your publication. To make use of this feature, please include your data as a CSV (comma-separated values) file when you submit your manuscript. Please refer to <http://www.elsevier.com/interactiveplots> for further details and formatting instructions.

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)

Printed version of figures (if applicable) in color or black-and-white

- Indicate clearly whether or not color or black-and-white in print is required.
- For reproduction in black-and-white, please supply black-and-white versions of the figures for printing purposes.

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

AFTER ACCEPTANCE

Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059>

When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a personalized link providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). This link can also be used for sharing via email and social networks. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints>). Authors requiring printed copies of multiple articles may use Elsevier WebShop's 'Create Your Own Book' service to collate multiple articles within a single cover (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/booklets>).

Author's Discount

Contributors to Elsevier journals are entitled to a 30% discount on most Elsevier books, if ordered directly from Elsevier.

AUTHOR INQUIRIES

You can track your submitted article at <http://www.elsevier.com/track-submission>. You can track your accepted article at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You are also welcome to contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.