



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**



Cristiane dos Santos Sanfins

***Escherichia coli* potencialmente virulenta em áreas de risco de inundação no município de São Gonçalo, RJ: uma abordagem laboratorial e espacial**

Rio de Janeiro

2019

Cristiane dos Santos Sanfins

***Escherichia coli* potencialmente virulenta em áreas de risco de inundação no município de São Gonçalo, RJ: uma abordagem laboratorial e espacial**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências. Área de concentração Gestão e Saneamento Ambiental.

Orientadora: Adriana Hamond Regua Mangia  
Co-orientadora: Andréa Sobral de Almeida

Rio de Janeiro

2019

Catálogo na fonte  
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde  
Biblioteca de Saúde Pública

S224e Sanfins, Cristiane dos Santos.  
Escherichia coli potencialmente virulenta em áreas de risco de inundação no município de São Gonçalo, RJ: uma abordagem laboratorial e espacial / Cristiane dos Santos Sanfins. -- 2019.  
160 f. : il. color. ; graf. ; mapas ; tab.

Orientadora: Adriana Hamond Regua Mangia.  
Coorientadora: Andréa Sobral de Almeida.  
Dissertação (mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2019.

1. Escherichia coli. 2. Virulência. 3. Análise Espacial. 4. Doenças Transmissíveis. 5. Meio Ambiente. 6. Desastres. 7. Delimitação das Áreas de Risco. I. Título.

CDD – 23.ed. – 614.57098153

Cristiane dos Santos Sanfins

***Escherichia coli* potencialmente virulenta em áreas de risco de inundação no município de São Gonçalo, RJ: uma abordagem laboratorial e espacial**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências. Área de concentração Gestão e Saneamento Ambiental.

Aprovado em 30 de abril de 2019.

Banca Examinadora

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Mônica de Avelar F M Magalhães,  
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde  
ICICT/Fiocruz

---

Prof. Dr<sup>a</sup> Adriana Sotero Martins  
Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, ENSP/Fiocruz

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Adriana Hamond Regua Mangia, (Orientadora)  
Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca – ENSP/Fiocruz

Rio de Janeiro

2019

Ao meu companheiro Anderson Cristiano  
Neves e a minha filha Helena Sanfins Neves  
por todo o amor e incentivo cotidiano,  
fundamentais para que eu chegasse aqui.

## AGRADECIMENTOS

À minha Orientadora da Dissertação de Mestrado Prof. Dr<sup>a</sup>. Adriana Hamond Regua Mangia, Departamento de Ciências Biológicas, da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca (ENSP/Fiocruz), pelo acolhimento quando cheguei ao seu laboratório, por todos os ensinamentos, confiança, disponibilidade, incentivo e paciência.

À minha Co-orientadora Prof. Dr<sup>a</sup>. Andrea Sobral de Almeida, Departamento de Endemias Samuel Pessoa, da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca (ENSP/Fiocruz), também por todos os seus muitos ensinamentos, disponibilidade, incentivo e paciência durante meu percurso pelo Mestrado.

A todos os professores do Programa de Saúde Pública e Meio Ambiente (ENSP/Fiocruz) pela dedicação na atuação na área do ensino que é tão importante para construção da sociedade, ainda mais em tempos tão obscuros que jamais vi como os de hoje.

A todos os componentes do Departamento de Ciências Biológicas (DCB) agradeço de coração pelo acolhimento e colaboração. Agradeço especialmente a técnica Rose Mary Pimentel Bezerra por todo auxílio técnico profissional durante a fase laboratorial da Dissertação.

Aos profissionais do Departamento de Endemias Samuel Pessoa (ENSP/Fiocruz), pelo acolhimento e colaboração. Agradeço em especial a Dr<sup>a</sup> Andrea Sobral de Almeida, por todo auxílio técnico e infraestrutura.

À Coordenadoria de Defesa Civil de São Gonçalo por terem cedido os dados secundários que integraram minha Dissertação, agradeço aos profissionais, em especial aos funcionários Dayse Couto e Sylvio Mulin com quem convivi e que pude acompanhar o trabalho técnico que também é cercado de solidariedade para com os cidadãos em situação de emergências.

Aos profissionais do setor de Áreas Verdes da Secretaria de Meio Ambiente de São Gonçalo, por todo apoio e infraestrutura durante o desenrolar da Dissertação.

Ao meu amigo Prof. Dr. Riccardo Mugnai por ter me incentivado nesse projeto, assim como na interlocução para que eu conhecesse a Dr<sup>a</sup> Adriana Hamond Regua Mangia.

À doutoranda Danielle Carvalho do Departamento de Saneamento e Saúde Ambiental da Escola Nacional Sergio Arouca (ENSP/Fiocruz) por auxiliar tecnicamente nos trabalhos com GIS.

À toda minha turma do mestrado no Programa de Saúde Pública e Meio Ambiente por todos os degraus que subimos, em especial as alunas Thayana Calixto, Tayane Crispim , Kaylane Montenegro companheiras em diversos momentos de estudos e trabalhos em grupo.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mônica de Avelar F M Magalhães, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Sotero Martins, Prof. Dr<sup>a</sup>. Rosália Maria Borges de Oliveira e o Prof. Dr. José Augusto Albuquerque dos Santos por participarem como componentes da banca de defesa da minha dissertação de mestrado.

Aos profissionais envolvidos no Programa de Saúde Pública e Meio Ambiente que desde a acolhida até o final do meu mestrado estiveram sempre dispostos a ajudar.

Aos meus familiares, principalmente ao meu pai Inamar Sanfins, Zilene dos Santos Sanfins e minha tia Zélia dos Santos por todo incentivo aos meus estudos, por todo amor e conhecimentos. À minha irmã Danielle dos Santos Sanfins por todo companheirismo nos momentos difíceis que enfrentamos juntas.

À minha madrinha Rosa Lima *in memoriam* que se despediu de nós em meio ao desenrolar do meu mestrado deixando saudade e muitas sementes de bondade plantadas neste mundo. Ao meu tio César Sanfins que me ajudou a compreender que as pessoas são diferentes e que a natureza é que nos faz assim.

Aos meus amigos Aparecida Castro e Sandro Melo que me apoiaram com carinho e atenção em momentos muito difíceis e cruciais deste trabalho.

À vida que me permitiu estar com saúde para finalizar mais uma etapa, acreditando sempre que os sonhos não envelhecem.

*“Observe profundamente a natureza e você vai entender tudo melhor.”*

(Albert Einstein).

## RESUMO

*Escherichia coli* faz parte da microbiota intestinal de animais de sangue quente e inclui tanto microrganismos comensais como patogênicos. A contaminação de corpos d'água por esses patógenos, provenientes de efluentes domésticos ou reservatórios animais, representa um risco para a saúde humana, especialmente, após a ocorrência de eventos hidrológicos. O estudo investigou o potencial de virulência de isolados de *E. coli* provenientes de águas superficiais de áreas de risco de inundação no município de São Gonçalo. A coleta foi realizada 19/10/2017 a 17/04/2018 em 30 pontos georreferenciados em áreas de Alto Risco (R1) e Baixo Risco (R2) de Inundação. Parâmetros ambientais como infraestrutura sanitária, relevo, ocupação humana e animais em peridomicílio foram observados. O estudo isolou 167 amostras bacterianas sendo *E. coli* potencialmente diarreio gênica detectada nas áreas R1 (21%) e R2 (31%) e caracterizadas nos patótipos EAEC, STEC e ETEC com os genótipos: *astA* (19%, 31/167), *astA/pic*(1%, 2/167), *pic*, *aggR*, *aggR/astA/pic*, *aggR/astA/escV*, *estla/astA*, *stx2/astA* e *aggR/astA*(0,6%, 1/167 cada). A filogrupagem baseada nos marcadores *arpA*, *chuA*, *yjaA*, *TspE4.C2*, *trpA* e *arpA(E)* caracterizou os isolados nos grupos A (44%, 74/167), B1 (40%, 66/167), B2 (11%, 19/167), F (2%, 4/167), D (1%, 2/167) e, C e E (0,6%, 1/167, cada). Em R1 os grupos A (44%, 51/116), B1 (38%, 45/116) foram os mais frequentes, enquanto em R2 foram os grupos filogenéticos A (45%, 23/51), B1 (39%, 20/51) e B1 (12%, 6/51). Foram detectados os filotipos: A (- - + - - -; + - + - - -; - - - - - -), B1 (- - - + - -; - - + + - -; + - + + - -; + - - + - -; - - + - - -), B2 (- + + - - -; - + + + - -; + + + + - -; + + + - - -; - - + + - -; - - - + - -), C (+ - + - + -), D (- + - - - -), E (+ + - + - +) e F (- + - - - +; + + - - - +). *E. coli* potencialmente virulenta foi isolada, preferencialmente, na Bacia do Rio Alcântara (60%) e nos bairros urbanos Colubandê (7%, 11/167) e Coelho (3%, 5/167). A análise da distribuição espacial dos isolados potencialmente virulentos revelou que características geomorfológicas do relevo contribuíram para a concentração desses microrganismos em pontos específicos. A circulação de isolados de *E. coli* potencialmente virulentos para enteroinfecções e infecções extraintestinais, em áreas urbanas e rurais, com registros recorrentes de inundações, representa um risco para a saúde humana. Concluímos que a população do município de São Gonçalo está exposta a contaminação por *E. coli* virulenta, independente do risco de ocorrência de eventos de inundação. Esses resultados alertam para uma vigilância ambiental mais efetiva, especialmente, se considerarmos os parâmetros geográficos e ambientais observados, que são favoráveis ao ciclo e a preservação do patógeno no ambiente.

Palavras-chave: *Escherichia coli*, virulência, espacialização, ambiente

## ABSTRACT

*Escherichia coli* is part of the intestinal microbiota of warm-blooded animals and includes both commensal and pathogenic microorganisms. Contamination of water bodies by these pathogens from domestic effluents or animal reservoirs represents a risk to human health, especially after the occurrence of hydrological events. The study investigated the virulence potential of *E. coli* isolates from surface waters of spatial flooded areas in the municipality of São Gonçalo. The collection was carried out from October 19<sup>th</sup>, 2017 to April 17<sup>th</sup>, 2018 in 30 georeferenced points in areas of High Risk (R1) of flood and of Low Risk (R2). Environmental parameters such as sanitary infrastructure, relief, human occupation and animals in peridomicile were observed. A total of 167 bacterial samples were detected, with potentially diarrheogenic *E. coli* isolates were detected in the R1 (21%) and R2 (31%) areas and characterized as EAEC, STEC and ETEC, exhibiting the genotypes *astA* (19%, 31/167), *astA/pic* (1%, 2/167), *pic*, *aggR*, *aggR /astA / pic*, *aggR/astA/escV*, *estL/astA*, *stx2/astA* and *aggR/astA* (0.6%, 1/167 each). The phylogeny based on the markers *arpA*, *chuA*, *yjaA*, *TspE4.C2*, *trpA* and *arpA* (E) characterized the isolates in groups A (44%, 74/167), B1 (40%, 66/167), B2 (11% , 19/167), F (2%, 4/167), D (1%, 2/167), and C and E (0.6%, 1/167, each). In groups R1 (44%, 51/116), B1 (38%, 45/116) were the most frequent, whereas in R2 the phylogenetic groups A (45%, 23/51), B1 (39% 20/51) and B1 (12%, 6/51). The phylogotypes were detected: A (- - + - - - + - + - - - - - - - -), B1 (- - - + - - - + + - - + + + - B2 - - - + - - - - + + + + - - - + + - - - - - + (+ - + - + -), D (- + - - -), E (+ + - + - +) and F (- + -). Potentially virulent *E. coli* was preferentially isolated from the Alcântara River Basin (60%) and Colubandê (7%, 11/167) and Coelho neighborhoods (3%, 5/167). The spatial distribution of potentially virulent isolates revealed that the geomorphological characteristics of the relief contributed to the concentration of these microorganisms at specific points. Circulation of virulent *E. coli* isolates of enteroinfections and extraintestinal infections, in urban and rural areas, with recurrent flood records, represents a risk to human health. We conclude that the human population of the São Gonçalo municipality, is exposed to virulent *E. coli* contamination regardless the risk of flood events. These results alert to a more effective environmental surveillance, especially considering the geographical and environmental parameters that favor the cycle and the preservation of the pathogen in the environment.

Keywords: *Escherichia coli*, virulence, spatialization, environment

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 01	Principais características de <i>E. coli</i> enteropatogênica típica e atípica (Adaptado de Gomes & Trabulsi, 2008)	25
Quadro 02	Genes e fatores de virulência descritos para EAEC (Adaptado de Huang e colaboradores, 2006)	37
Quadro 03	Iniciadores de PCR-quadruplex para agrupamento filogenético de <i>E. coli</i>	58
Quadro 04	Genótipos Quadruplex e passos requeridos para distribuição de isolados de <i>E. coli</i> para filogrupos	62
Quadro 05	Iniciadores utilizados para PCR-multiplex para enterovirulência de <i>E. coli</i>	63
Quadro 06	Iniciadores utilizados para PCR-multiplex para enterovirulência de <i>E. coli</i> (Müller, 2007)	65
Gráfico 01	Número de isolados obtidos por ponto de coleta para área de risco de inundação R1	74
Gráfico 02	Número de isolados obtidos por ponto de coleta para área de risco de inundação	74
Gráfico 03	Grupos filogenéticos das amostras de <i>E. coli</i> por área de risco de inundação	78
Gráfico 04	Proporção dos marcadores de enterovirulência no total de amostras de <i>E. coli</i> incluídas no estudo	82
Gráfico 05	Proporção dos genes nas amostras de <i>E. coli</i> quanto a área de risco de inundação	84
Gráfico 06	Proporção de perfis de virulência nas amostras de <i>E. coli</i> quanto a área de risco de inundação	84
Figura 01	Formação de pedestal por cepas de <i>Escherichia coli</i> típicas e de <i>Escherichia coli</i>	26
Figura 02	Esquema geral de patogenicidade descrito para os patotipos diarreiogênicos de <i>E. coli</i>	37
Figura 03	Visão geral dos potenciais reservatórios e transmissão de <i>E. coli</i> patogênica	42
Figura 04	Perfil longitudinal ao longo de um vale fluvial	48

Figura 05	Mapa de localização de São Gonçalo, RJ	50
Figura 06	Macrozonas de São Gonçalo	50
Figura 07	Bacias hidrográficas do município de São Gonçalo	52
Figura 08	Esquema geral de caracterização realizada para amostras de <i>E.coli</i> e análises espaciais incluídas no estudo.	56
Figura 09	Mapa de dos distritos e bairros do município de São Gonçalo, RJ	57
Figura 10	Aspecto do crescimento da espécie <i>E.coli</i>	61
Figura 11	Densidade de <i>kernel</i> dos chamados para ocorrência de inundação no município de São Gonçalo (Defesa Civil 1995-2005)	70
Figura 12	Mapa das áreas de risco de inundação definidas quanto à densidade de <i>Kernel</i> e pontos de coleta de água superficial	71
Figura 13	Pontos R2 - Rio Imboassú (esquerda) e Rio Marimbondo (direita)	76
Figura 14	Pontos R1- Rio Alcântara (esquerda) e Rio Colubandê (direita)	76
Figura 15	Pontos R2 e R1 Rio das Pedrinhas (esquerda) e Rio Colubandê (direta)	76
Figura 16	Alguns perfis eletroforéticos dos agrupamentos filogenéticos de <i>E.coli</i> encontrados no estudo	78
Figura 17	Alguns perfis eletroforéticos obtidos a partir da amplificação simultânea dos genes de enterovirulência de <i>E.coli</i>	81
Figura 18	Mapa da distribuição espacial de filogrupos totais de <i>Escherichia coli</i> , São Gonçalo, RJ	96
Figura 19	Mapa da distribuição espacial de isolados de <i>Escherichia coli</i> dos filogrupos A, B1 e B2, São Gonçalo, RJ	97
Figura 20	Mapa de distribuição espacial dos isolados de <i>Escherichia coli</i> dos filogrupos C, D, E e F, São Gonçalo, RJ.	98
Figura 21	Mapa da distribuição espacial do total de isolados de <i>Escherichia coli</i> potencialmente diarreiogênica, município de São Gonçalo, RJ	99
Figura 22	Mapa da distribuição espacial dos isolados de <i>Escherichia coli</i> pertencentes aos patotipos aEPEC, tEPEC, tEAEC/EPEC, município de São Gonçalo, RJ	100
Figura 23	Mapa da distribuição espacial dos isolados de <i>Escherichia coli</i> pertencentes aos patotipos EPEC, STEC, STEC/tEAEC, município São Gonçalo, RJ	101

Figura 24	Mapa da distribuição espacial do total de isolados de <i>Escherichia coli</i> potencialmente diarreigênicos e presença de animais no peridomicílio, município de São Gonçalo, RJ	102
Figura 25	Mapa da distribuição espacial do total de isolados de <i>Escherichia coli</i> carreadoras de enteropatogenicidade e presença de animais no peridomicílio, município de São Gonçalo, RJ.	103
Figura 26	Mapa de domicílios servidos por rede de abastecimento de água e de esgotamento sanitário via rede geral de esgoto ou pluvial, município de São Gonçalo, RJ (Fonte IBGE/Censo, 2010)	105
Figura 27	Mapa de domicílios servidos por rede de abastecimento de água e por esgotamento sanitário via rede geral de esgoto ou pluvial e total de isolados de <i>E. coli</i> potencialmente virulenta, por ponto de coleta, município de São Gonçalo, RJ.	106
Figura 28	Mapa da proporção de população servida por rede de abastecimento de água e por esgotamento sanitário via rede geral de esgoto ou pluvial e total de patotipos por ponto de coleta	107
Figura 29	Mapa da densidade populacional no município de São Gonçalo, RJ	109
Figura 30	Mapa da densidade populacional e total de filogrupos por ponto de coleta	110
Figura 31	Mapa da densidade populacional e total de patotipos por ponto de coleta	111
Figura 32	Mapa do perfil longitudinal fluvial da bacia do rio alcantara, São Gonçalo, RJ	112

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Número de isolados de <i>E. coli</i> por área de risco, bacia hidrográfica e bairro correspondentes	73
Tabela 02	Número de isolados de <i>E. coli</i> por área de risco, bacia hidrográfica e bairro correspondentes	75
Tabela 03	Grupo e perfil filogenético encontrado nos isolados de <i>E. coli</i> incluídas no estudo	78
Tabela 04	Grupos filogenéticos nos isolados de <i>E. coli</i> por área de risco de inundação	80
Tabela 05	Perfis de enterovirulência encontrados nos isolados de <i>E. coli</i> e seus respectivos grupos filogenéticos	82
Tabela 06	Distribuição de marcadores genéticos de enterovirulência investigados nos isolados de <i>E. coli</i> por área de coleta	85
Tabela 07	Distribuição de marcadores genéticos de enterovirulência investigados nos isolaos de <i>E. coli</i> por área de coleta	86
Tabela 08	Características gerais dos isolados de <i>E. coli</i> incluídos no estudo, São Gonçalo, RJ	87 - 93

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AA</b>	Aderência agregativa
<b>AAF</b>	<i>Aggregative Adherence Fimbria</i>
<b>AD</b>	Aderência difusa
<b>AE</b>	<i>Attaching/effacing</i>
<b>AEPEC</b>	<i>Atypical Enteropathogenic Escherichia coli</i>
<b>AIEC</b>	<i>Adherent Invasive Escherichia coli</i>
<b>AL</b>	Aderência Localizada
<b>AL-LIKE</b>	Padrão de Adesão Localizada-like
<b>APP</b>	Áreas de Proteção Permanente
<b>ATEC</b>	<i>Atypical Enteropathogenic Escherichia coli</i>
<b>BBL</b>	Caldo de Trypticaseína de Soja
<b>BFP</b>	<i>Bundle-forming pilus</i>
<b>CF</b>	<i>Colonization Factor</i>
<b>CH</b>	Colite Hemorrágica
<b>CT</b>	<i>Cholera Enterotoxin</i>
<b>DAEC</b>	<i>Difuse Adherence Escherichia coli</i>
<b>DEC</b>	<i>Diarrheagenic Escherichia coli</i>
<b>DGDECRJ</b>	Departamento Geral de Defesa Civil
<b>DNA</b>	Deoxyribonucleic Acid
<b>EAEC</b>	<i>Enterogregative Escherichia coli</i>
<b>EAF</b>	<i>EPEC Adherence Factor</i>
<b>EHEC/STEC</b>	Enterohemorrhagic Shiga Toxin-producing <i>Escherichia coli</i>
<b>EIEC</b>	<i>Enteroinvasive Escherichia coli</i>
<b>EPEC</b>	<i>Enteropathogenic Escherichia coli</i>
<b>ESP</b>	EPEC Secreted Proteins
<b>ESPFU</b>	<i>Escherichia coli Secreted Protein f-like from Prophage U</i>
<b>ETEC</b>	<i>Enterotoxigenic Escherichia coli</i>
<b>GENE EAE</b>	<i>Gene Attaching Effacing</i>
<b>GPS</b>	<i>Global Position Satellite</i>
<b>HEP-2</b>	Células de Linhagem de Carcinoma Epidermóide de Laringe Humana
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

<b>LA</b>	<i>Localized Adherence</i>
<b>LEE</b>	<i>Locus of Enterocyte Effacement</i>
<b>LT</b>	<i>Termolabil Enterotoxin</i>
<b>NA</b>	Não Aderente
<b>NTEC</b>	<i>Necrotoxigenic Escherichia coli</i>
<b>N-WASP</b>	<i>Neural Wiskott-aldrich Syndrome Protein</i>
<b>OFDA/CRED</b>	<i>The office of US Foreign Disaster Assistance/Centre for Research on the Epidemiology of Disasters</i>
<b>PAI</b>	Ilha de Patogenicidade
<b>PCR</b>	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
<b>PMSB</b>	Plano municipal de saneamento básico
<b>PTT</b>	Púrpura Trombocitopênica Trombótica
<b>QGIS</b>	<i>Quantum Geografic Information System</i>
<b>SHU</b>	Síndrome Hemolítica Urêmica
<b>SHU</b>	Síndrome Hemolítica Urêmica
<b>SIG</b>	Sistemas de Informações Geográficas
<b>SSTT</b>	Sistema de Secreção Tipo III
<b>ST</b>	<i>Heat-Stable Enterotoxin</i>
<b>STX</b>	<i>Shiga Toxin</i>
<b>TCCP</b>	<i>Tir-cytoskeleton Coupling Protein</i>
<b>TEPEC</b>	<i>Typical Enteropathogenic Escherichia coli</i>
<b>TIR</b>	<i>Translocated Intimin Receptor</i>
<b>USEPA</b>	<i>United States Environmental Protection Agency</i>
<b>VT</b>	<i>Verotoxin</i>
<b>WHO</b>	<i>World Healthy Organization</i>
<b>IMS-(PCR)</b>	<i>Immunomagnetic separate (Polymerase Chain Reation)</i>

## LISTA DE SÍMBOLOS

<b>°C</b>	graus Celsius
<b>km<sup>2</sup></b>	kilometro quadrado
<b>mL</b>	mililitro
<b>μm</b>	micromol
<b>μg</b>	micrograma
<b>μL</b>	microlitro
<b>mM</b>	Micrometro
<b>pmol</b>	picomolar

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>21</b>
<b>2</b>	<b>ASPECTOS TEÓRICOS QUE FUNDAMENTAM A PESQUISA.....</b>	<b>22</b>
2.1	A ESPÉCIE BACTERIANA: <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	22
2.1.2	<b>Patotipos intestinais de <i>Escherichia coli</i>.....</b>	<b>23</b>
2.1.2.1	<i>E. coli</i> enteropatogênia (EPEC).....	24
2.1.2.2	<i>E.coli</i> enterotoxigenica (ETEC).....	27
2.1.2.3	<i>E.coli</i> enteroinvasora (EIEC).....	29
2.1.2.4	<i>E.coli</i> produtora de toxina <i>Shiga</i> (STEC).....	31
2.1.2.5	<i>E.coli</i> enteroagregativa (EAEC).....	35
2.2	PATOTIPOS EXTRATESTINAIS DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	38
2.3	AGRUPAMENTO FILOGENÉTICO DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	39
2.4	CICLO AMBIENTAL.....	41
2.5	ESTUDO ESPACIAL DAS DOENÇAS INFECCIOSAS.....	44
2.6	AMBIENTE NATURAL E OS DESASTRES.....	46
2.7	CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO.....	49
<b>2.7.1</b>	<b>Área Geográfica.....</b>	<b>49</b>
<b>2.7.2</b>	<b>Relevo e Bacia Hidrográfica.....</b>	<b>51</b>
<b>2.7.3</b>	<b>Indicadores Ambientais e Socioeconômicos.....</b>	<b>53</b>
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>54</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>55</b>
4.1	GERAL.....	55
4.2	ESPECÍFICOS.....	55
<b>5</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>55</b>
5.1	ÁREA DE ESTUDO.....	57
5.2	IDENTIFICAÇÃO DAS ÁREAS DE RISCO PARA COLETA DE ÁGUA SUPERFICIAL.....	58
5.3	ATIVIDADE DE CAMPO.....	59
5.3.1	<b>Coleta de água superficial.....</b>	<b>59</b>
5.3.2	<b>Caracterização ambiental.....</b>	<b>60</b>
5.4	ATIVIDADE LABORATORIAL.....	60
5.4.1	<b>Isolamento e identificação de <i>Escherichia coli</i>.....</b>	<b>60</b>

5.4.2	<b>Caracterização molécul</b> .....	61
5.4.2.1	PCR-QUADRUPLEX para agrupamento filogenético de <i>Escherichia coli</i> ...	61
5.4.2.2	PCR-MULTIPLEX Amplificação de genes específicos para a classificação de <i>E. coli</i> em categorias enteropatogênicas .....	64
5.5	Método estatístico.....	65
5.6	Variáveis de interesse, fontes de dados para análise espacial.....	65
5.6.1	<b>Dados primários</b> .....	65
5.6.2	<b>Dados secundários</b> .....	66
5.6.2.1	Alocação de mapas temáticos.....	67
5.6.2.2	Perfil de elevação do terreno e longitudinal do Rio Alcântara.....	68
<b>6</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	68
6.1	DEFINIÇÃO ESPACIAL DE ÁREAS DE RISCO DE INUNDAÇÃO A PARTIR DE DADOS SECUNDÁRIOS.....	68
6.2	COLETA DE ÁGUA SUPERFICIAL DAS ÁREAS DE RISCO IDENTIFICADAS, ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	72
6.3	CARACTERÍSTICAS DOS PARÂMETROS AMBIENTAIS DOS PONTOS GEORREFERENCIADOS.....	72
6.4	CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DAS AMOSTRAS BACTERIANAS....	77
6.4.1	<b>PCR-QUADRUPLEX para classificação do agrupamento filogenético</b> ....	77
6.4.1.1	Filogrupagem por área de coleta.....	79
6.4.2	<b>PCR-MULTIPLEX para enterovirulência de <i>escherichia coli</i></b> .....	81
6.4.2.1	Enterovirulência de <i>Escherichia coli</i> por área de coleta.....	83
6.5	MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....	94
6.6	ANÁLISE ESPACIAL.....	94
6.6.1	<b>Mapas de Símbolos Proporcionais</b> .....	94
6.6.1.1	Agrupamento Filogenético.....	94
6.6.1.2	<i>Escherichia coli</i> Diarreiogênica (DEC).....	94
6.6.1.3	Ocorrência de <i>Escherichia coli</i> e presença de animais.....	95
6.6.2	<b>Mapas Temáticos (IBGE)</b> .....	104
6.6.2.1	Abastecimento de Água e Esgotamento Sanitário.....	104
6.6.2.2	Densidade Populacional.....	108
6.6.2.3	Perfil de elevação do terreno e longitudinal ao longo do Rio Alcântara.....	108

<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>113</b>
7.1	AS ÁREAS DE RISCO DE INUNDAÇÃO NO MUNICÍPIO DE SÃO GONÇALO.....	113
7.2	COLETA DE ÁGUA, ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	114
7.3	CARATERIZAÇÃO AMBIENTAL.....	115
7.4	PCR-QUADRUPLIX PARA AGRUPAMENTO FILOGENÉTICO DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	117
7.5	PCR-MULTIPLIX PARA ENTEROVIRULÊNCIA DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	119
7.6	ANÁLISE ESPACIAL.....	123
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>133</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>135</b>
	<b>APÊNDICE – Ficha de Caracterização Ambiental.....</b>	<b>149</b>
	<b>ANEXO – Parecer de Dispensada da Comissão de Ética em Pesquisa.....</b>	<b>150</b>
	<b>ANEXO – Protocolo de Soluções Utilizadas no Estudo.....</b>	<b>151</b>

## 1. Introdução

A extensa ocupação em virtude do crescimento populacional de cidades brasileiras tem causado importantes impactos ambientais, como a contaminação de ambientes aquáticos, sobretudo de córregos e rios, devido à exposição inadequada de poluentes orgânicos. Dentre esses, a poluição microbiana destaca-se por representar um grande problema de saúde pública em todo o mundo (Chandran & Mazumder, 2015). A contaminação proveniente de esgoto doméstico compromete a utilização da água para destinações mais exigentes como o abastecimento de água potável e a balneabilidade, além de oferecer risco à população já que nestes corpos d'água a presença de fezes pode viabilizar a circulação de microrganismos que podem causar infecções e persistirem no ambiente (Plano de Contingência, 2014). As modificações ambientais por conta da degradação de ecossistemas aquáticos podem oferecer condições propícias para estes microrganismos se adaptarem (Ximenes, 2012). Além da contaminação dos corpos d'água muitas cidades brasileiras sofrem com a ocupação irregular de áreas susceptíveis assim como intervenções inadequadas que podem oferecer impacto a incolumidade de seus habitantes (Plano de Contingência, 2014). As consequências decorrentes de inundações, enchentes e alagamentos geralmente são inúmeras e estão associados a corpos d'água. Em um cenário de degradação de córregos e rios, além dos danos diretos por conta das ocorrências de afogamentos, traumas e perdas materiais, as vítimas também podem ser expostas a agentes infecciosos (Ximenes, 2012).

Diversos são os microrganismos que podem ser veiculados pela água contaminada por dejetos, principalmente, a partir do esgoto não tratado. Dentre os microrganismos potencialmente patogênicos, a espécie bacteriana *Escherichia coli* destaca-se pelo seu impacto nas taxas de morbidade e mortalidade de seres humanos, principalmente, em regiões tropicais em desenvolvimento. As distintas linhagens patogênicas carreadoras de propriedades específicas de virulência podem desencadear infecções diversas, causando desde quadros assintomáticos até os sintomáticos com amplo espectro clínico, inclusive, levando à morte. Estudos sobre a ocorrência de *E. coli* em áreas de risco de inundação podem contribuir para o esclarecimento sobre os aspectos da ecologia desses patógenos nesse contexto ambiental, incluindo o conhecimento sobre a sua circulação e seus potenciais reservatórios.

Apesar dos investimentos significativos na prevenção da doença diarreica, a diarreia continua sendo uma das principais causas de morbimortalidade, especialmente, em menores de cinco anos. Segundo o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC, 2016) a diarreia mata 2.195 crianças todos os dias. Entre as mortes, mais de três quartos ocorrem

principalmente em países pobres e menos desenvolvidos do mundo. Cerca de 88% das mortes associadas a diarreia são atribuíveis à falta de água potável, saneamento inadequado e higiene insuficiente. (Bako, 2017; CDC, 2016; UNICEF, 2012)

## 2. Aspectos teóricos que fundamentam a pesquisa

### 2.1 A espécie bacteriana: *Escherichia coli*

O nome da espécie se deve ao pediatra alemão Theodor Escherich. *Escherichia coli* é um bacilo Gram-negativo anaeróbio facultativo, classificado como um membro da família *Enterobacteriaceae*, dentro da Classe *Gammaproteobacteria*. Este procarionte está entre as espécies mais estudadas e apresenta crescimento rápido em condições ótimas replicando a cada 20 minutos (Jang, 2017; Bako, 2017; Gomes, 2016; Tenaillon, 2016).

*Escherichia coli* é um grupo de bactérias normalmente encontrado na microbiota intestinal de humanos e animais mantendo uma relação simbiótica participando da digestão e síntese de certas vitaminas. Atualmente, cerca de 171 antígenos somáticos (O), 55 flagelares (H) e capsulares (K) foram identificados e existem mais de 160 tipos sorológicos de *E. coli*. Esta espécie está envolvida em infecções diversas incluindo as do trato urinário (ITU), pneumonia adquirida no hospital (HAP), sépsis, de sítio cirúrgico (ISC), do trato gastrointestinal, meningite e inflamação das meninges. (Sarowska, 2019; Coelho, 2018; Gomes, 2016; Rebello, 2014; Kaper, 2004).

Representantes da espécie que albergam fatores de virulência são classificados em tipos patogênicos ou patotipos. A codificação genética dessas características pode ser transferida horizontalmente por meio de elementos genéticos móveis como plasmídeos, bacteriófagos e ilhas de patogenicidade, contribuindo para a diversidade e a rápida evolução da espécie e o surgimento de novas variantes patogênicas. Além disso, essa espécie bacteriana é frequentemente submetida a rearranjos genéticos, excisões, transferências e aquisições de DNA. Portanto, trata-se de uma espécie bacteriana versátil e diversa, que exibe uma enorme plasticidade genética (Stali, 2017; Croxen, 2013; Schmidt, 2010; Croxen, 2010).

Essa elevada plasticidade da *E. coli* tem dificultado, em determinadas circunstâncias, a caracterização do patotipo, pois alguns isolados combinam genótipos de virulência de diferentes patotipos (Torres, 2016).

Apesar da elevada variabilidade observada na espécie, estudos tem revelado a conservação padrões de virulência em subpopulações bacterianas definindo clones de

virulência dentro da espécie (Rebello, 2012; Torres, 2010). Considerando as características destes patógenos como microrganismos circulantes em ambientes diversos e com elevada capacidade de intercâmbio genético, deve ser destacado o seu importante papel na disseminação de propriedades de virulência entre microrganismos que circulam amplamente na natureza e em populações diversas (Van Elsas, 2011).

### **2.1.2 *Escherichia coli* (DEC, Diarrheagenic *E. coli*)**

Os relatos iniciais que descreveram o termo *E. coli* diarreio gênica ou enteropatogênica se referiam a isolados da espécie associados com surtos de diarreia em crianças nas décadas de 1940-50 (Bray, 1945). Porém, estudos posteriores identificaram a existência de isolados associados com casos de diarreia que exibiam mecanismos distintos de infecção, o que permitiu a identificação e posterior classificação em diferentes grupos ou enteropatotipos de acordo com seus mecanismos específicos de enterovirulência (Torres, 2017; Gomes, 2016; Croxen, 2013). Esses diferentes grupos ou patotipos intestinais estão associados com perfis clínicos e epidemiológicos particulares. Sendo assim, a categorização de *E. coli* diarreio gênica tem sido realizada, basicamente, por meio da presença de marcadores específicos associados com a enterovirulência deste microrganismo (Torres, 2017; Williams, 2010).

Atualmente são reconhecidos, pelo menos, seis patotipos ou categorias diarreio gênicas de *E. coli*: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* produtora de Toxina Shiga (STEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), e *E. coli* que exibe aderência difusa (DAEC). Variantes genéticas dentro desses patotipos caracterizam linhagens atípicas, os quais exibem padrões diferenciados ou incompletos de virulência (Coelho, 2018; Gomes, 2016).

Além disso, existem outros potenciais grupos patogênicos na espécie como, por exemplo, *cell detaching E. coli* (CDEC), *necrotoxicogenic E. coli* (NTEC) e *adherent invasive E. coli* (AIEC) que requerem estudos mais detalhados para o seu reconhecimento como um enterotipo (Croxen, 2010).

Cada um desses patotipos representam microrganismos que compartilham fatores específicos de virulência. No entanto, deve-se ressaltar que a plasticidade do genoma da *E. coli* tem dificultado a identificação de alguns isolados em patotipos clássicos, pois alguns isolados combinam características principais de virulência de mais de um patotipo e são, portanto, consideradas cepas híbridas potencialmente mais virulentas (Gomes, 2016). Os

fatores de enteropatogenicidade em *E. coli* incluem, principalmente, a produção de toxinas e de adesinas diversas que tem capacidade de proporcionar aderência e colonização bacteriana em superfícies diversas (Coelho, 2018; Vila, 2016; Torres, 2016, 2010; Riley, 2014; Kaper, 2004). Abaixo estão apresentadas as características gerais dos principais patotipos diarréiogênicos da espécie:

### 2.1.2.1 *E. coli* enteropatogênica (EPEC)

Os primeiros estudos epidemiológicos que correlacionaram *E. coli* com a diarreia humana foram observados nas décadas de 1920 e 1930. Entretanto, sua patogenicidade só foi comprovada cientificamente na Inglaterra em 1945 (Bray, 1945). Neste ano o pediatra John Bray observou que isolados de *E. coli* estavam associadas com a diarreia infantil. Entretanto, o seu potencial patogênico só foi amplamente aceito em 1978 após estudos realizados por Myron Levine e colaboradores utilizando voluntários em protocolos experimentais<sup>11,15,18,24</sup> (Gomes, 2016; Gomes 2008; Schmidt, 2010; Kaper, 2005; Kaper, 2004; Bray 1945). O termo *E. coli* enteropatogênico (EPEC) foi usado pela primeira vez em 1995 por Neter et al, e se referia a isolados da espécie associados com surtos de diarréia infantil em 1940 e 1950.

EPEC é atualmente subdividida nos subgrupos típica e atípica. EPEC típica (tEPEC) é a classificação dada para as EPECs que carregam o plasmídeo do fator de aderência (EAF) onde está localizado o *operon* que codifica uma fímbria do tipo IV, o BFP (*Bundle forming pilus*) responsável por mediar à aderência interbacteriana e à superfície da célula epitelial. Já as EPECs atípicas são destituídas do plasmídeo EAF e, portanto, não expressam BFP funcional. A EPEC típica (tEPEC) expressa o padrão de adesão localizada (AL) caracterizada pela formação de microcolônias compactas aderidas em regiões da superfície celular. Em contraste, as EPEC atípicas (aEPEC) expressam um padrão similar ao AL, o padrão de adesão localizada-like (*AL-like*) com microcolônias mais frouxamente aderidas em relação às EPEC típicas ou ainda apresentam padrões distintos de aderência (Quadro 01) (Gomes, 2016; Gomes, 2008; Girão, 2006). Os determinantes genéticos codificadores dessas propriedades são utilizados no diagnóstico do patotipo (Quadro 01).

**Quadro 01.** Principais características de *E. coli* enteropatogênica típica e atípica

<b>Característica do Patotipo EPEC</b>	<b>EPEC típica (tEPEC)</b>	<b>EPEC atípica (aEPEC)</b>
Padrão de adesão	AL	AL-like, AA, AD, NA
Plasmídeo EAF (expressão do BFP)	presente	ausente
Lesão A/E	sim	sim
Região LEE	presente	presente
Marcadores genéticos	<i>eae</i> , EAF, <i>bfpA</i>	<i>eae</i>
Reservatório	ser humano	ser humano, animais

Fonte: Adaptado de Gomes & Trabulsi, 2008. Legenda. AL – Aderência localizada; AA – Aderência agregativa; AD – Aderência difusa e NA – Não aderente

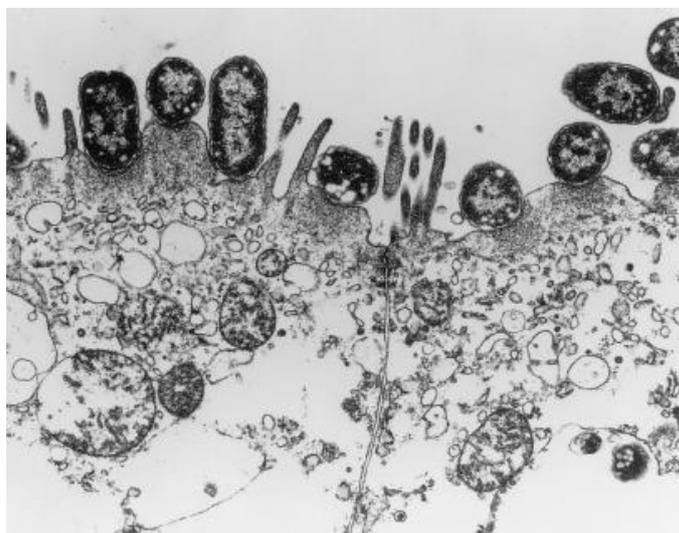
Um fenótipo característico de EPEC é a capacidade de produzir lesões AE (*attaching effacing*) na superfície da microvilosidades intestinais. Este fenótipo é caracterizado pelo achatamento dessas estruturas promovendo a aderência íntima entre a bactéria e a superfície da célula epitelial. Diretamente abaixo da bactéria aderida, no citoplasma da célula epitelial, se concentram filamentos de actina, caracterizando uma região eletrondensa e formando um pedestal no local do contato bacteriano (Gomes, 2016; Nataro, 1998). Intimina é uma proteína de 94-kDa codificada pelo gene *eae* e requerida para a aderência íntima de EPEC nas células hospedeiras nos sítios da lesão AE (Gomes, 2016; Nataro, 1998).

A lesão íntima é mediada pela adesina intimina, codificada pelo gene *eae* (*E. coli attaching effacing*) (Figura 01), e que é expressa na membrana externa desta bactéria, promovendo uma ligação irreversível entre a mesma e a membrana do enterócito. (Girão, 2006; Nataro e Kaper, 1998). A bactéria intimamente aderida à membrana da célula promove alterações que eliminam as microvilosidades típicas destas células exatamente no ponto de contato bactéria-enterócito e causa modificações notáveis no citoesqueleto da célula hospedeira. A actina polimerizada e acumulada logo abaixo da bactéria promove a formação de uma estrutura como um pedestal ao redor do ponto de adesão. Genes localizados em uma ilha de patogenicidade (PAI) conhecida como LEE (Locus of enterocyte effacement) são responsáveis por codificar este fenótipo. LEE codifica um sistema de secreção tipo III (SSTT) que transloca proteínas efetoras bacterianas para dentro do citoplasma da célula hospedeira. Uma destas proteínas efetoras, conhecida como Tir (*Translocated intimin receptor*) é inserida

na membrana da célula hospedeira e funciona como um receptor para a intimina (Kaper, 2004). Além de Tir, também são secretadas por EPEC através SSTT as proteínas conhecidas pela sigla Esp (*EPEC secreted proteins*) (Gomes, 2016; Dean, 2009; Trabulsi, 2002).

A prevalência de infecções por EPEC varia em função das diferenças das populações estudadas, distribuição etária e métodos de análise. A diarreia atribuída a tEPEC diminui com o avançar da idade, e as infecções em adultos raramente são relatadas (Torres, 2015). A sintomatologia está mais fortemente associada com a diarreia em crianças menores de um ano de idade, pobres e centros urbanos. Embora sejam raros, surtos entre adultos estão associados à ingestão de alimentos e água contaminados principalmente entre viajantes. tEPEC é raramente associado a animais e aEPEC já foi associada a animais com diarreia e saudáveis. EPEC pode ser detectada por sondas de DNA ou ensaios de PCR usando *primers* com alvo no genes *eae*, *stx* e *bfpA* (Kolenda, 2015). EPEC atípica continua sendo frequentemente isolada tanto em países em desenvolvimento quanto em países industrializados (Torres, 2015). EPEC ainda está entre os patógenos mais importantes associados com diarreia, entretanto em muitos estudos aEPEC é encontrada entre indivíduos assintomáticos (Ochua, 2008).

**Figura 01.** EPEC A/E característica observada no íleo após inoculação oral de leitões. A aparência de umabactéria sobre um pedestal de membrana celular é bastante característica



Fonte: Nataro, 1998

A transmissão de tEPEC é pela via fecal-oral. Embora raros, surtos entre adultos parecem ocorrer através da ingestão de alimento e água contaminados; entretanto reservatórios específicos não tem sido identificados (Kotloff, 2013; Nataro, 1998). Surtos de EPEC tem sido reportados e mostram uma distribuição sazonal com picos durante os meses

mais quentes (Behiry, 2011; Nataro, 2006). Humanos são o único reservatório conhecido de tEPEC, com crianças sintomáticas e assintomáticas e humanos assintomáticos sendo esta a mais provável fonte (Gomes, 2016; Vieira, 2006; Nataro, 1998).

Em contraste a tEPEC, que raramente são encontradas em animais, muitas cepas de aEPEC tem sido encontradas em animais diarreicos e saudáveis (Kolenda, 2015; Moura, 2009). O diagnóstico molecular têm contribuído para revelar que animais domésticos e selvagens são potenciais fontes de aEPEC para infecções humanas em diversas regiões (Gomes, 2016; Hu J, 2015; Hernandes, 2009; Moura, 2009). Por isso, embora a transmissão direta de animais para humanos não tenha sido mostrada, é razoável sugerir que alguns aEPEC são potencialmente patógenos zoonóticos, com uma ampla variedade de animais servindo como importantes reservatórios (Gomes, 2016; Hu J, 2015). Em adição, alimentos incluindo carne crua, leite pausterizado e vegetais e água tem sido implicados como veículo de aEPEC em infecções humanas (Gomes, 2016).

EPEC em macacos (MEPEC) ou cepas EPEC-like foram os únicos grupos de diarreiogênicos isolados de amostras no Brasil (Carvalho, 2003). O plasmídeo EAF e o gene *bfA* não tem sido detectado em EPEC de porcos, gado e coelhos mas em alguns isolados de cães. Pesquisas em gatos revelam a presença de cepas de *E. coli eae+*, embora sejam necessários mais estudos, estes resultados sugerem que gatos podem ser um importante reservatório para EPEC hábeis para causar diarreia humana (Trabulsi, 2002; Nataro, 1998).

Estudos tem demonstrado que humanos são o único reservatório de tEPEC. Por outro lado, embora tEPEC esteja desaparecendo como principal causa de diarreia entre crianças, uns poucos sorotipos tem sido encontrados em alguns animais que convivem com humanos de forma que esta observação não pode ser subestimada. As relações entre as cepas que vem sendo estudadas contribuem para a epidemiologia de *E. coli* e descreve o papel das fontes de infecção assim como os possíveis reservatórios e sobre infecções cruzadas (Pestana, 2010). Em contraste com tEPEC, que raramente são encontrados em animais, muitas cepas de aEPEC foram encontradas tanto em animais com diarreia como animais saudáveis (Torres, 2016; Gomes, 2016; Hernandes, 2009).

#### **2.1.2.2 *E. coli* enterotoxigênica (ETEC)**

*Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC) é uma das principais causas de diarreia secretora. ETEC é muitas vezes referida como a causa da diarreia dos viajantes, além de ser uma das principais causas de diarreia em crianças de países em desenvolvimento (Joffré,

2016; Qadri, 2005). A descoberta das ETEC teve início em Calcutá no ano de 1956. Neste ano, colaboradores inocularam amostras de *E. coli* isoladas de crianças e adultos com sintomas similares aos do Cólera nas alças intestinais de coelhos e observaram uma grande quantidade de fluidos acumulados nas alças, resultado semelhante ao observado após infecção por *Vibrio cholerae*. Em 1968, Sack reportou o isolamento de *E. coli* a partir de amostras de fezes e do intestino de adultos e crianças com sintomas muito similares ao do Cólera. Esses resultados foram observados e confirmados por trabalhos posteriores utilizando voluntários humanos (Qadri, 2005).

ETEC são definidas como cepas de *E. coli* que produzem, pelo menos, um dos dois grupos de enterotoxinas: ST (enterotoxina termoestável) e LT (enterotoxina termolábil) codificadas pelos genes *st* e *lt*, respectivamente (Joffré, 2016; Singh, 2010; Levine, 1987). A termolabilidade está relacionada à perda de atividade tóxica da enterotoxina após aquecimento a 100°C durante um período de 30 minutos, enquanto que a termoestabilidade representa a manutenção da sua atividade tóxica nestas condições (Guth, 2008). O mecanismo de patogenicidade das ETEC é caracterizado, resumidamente, pela colonização da mucosa intestinal e produção de enterotoxinas, que dão início a secreção intestinal (Kaper, 2004; Guth, 2010). A colonização é mediada por adesinas específicas como os fatores de colonização (CFs) que podem ser não-fimbriais, fimbriais, fibrilares ou helicoidais (Gomes, 2016; Croxen, 2010). Quanto às enterotoxinas as ETEC podem expressar somente a LT, somente ST ou tanto ST quanto LT. As LT são uma classe de enterotoxinas intimamente relacionadas em termos de estrutura e função com a enterotoxina do cólera (CT) (Kaper, 2004). Essas enterotoxinas provocam alterações nas concentrações intracelulares de nucleotídeos levando à alteração do equilíbrio hidrossalino que resulta na secreção de eletrólitos e na redução de absorção de água no intestino (Joffré, 2016; Guth, 2008).

A infecção por ETEC é causada pelo consumo ou uso de água ou alimentos contaminados e tem curto período de incubação (14-50h) desencadeando um processo diarreico aquoso agudo (semelhante ao causado por *Vibrio cholerae*) habitualmente sem sangue, muco ou pus. Normalmente este processo infeccioso é autolimitante podendo levar, em alguns casos, ao quadro de desidratação devido à perda excessiva de fluidos e eletrólitos. Podem ocorrer, em algumas situações, vômitos e cólicas abdominais (Joffré, 2016; Turner, 2006; Girão, 2006). ETEC é reconhecida como enteropatógeno de humanos em todo o mundo, afetando principalmente crianças, adultos viajantes que visitam países onde infecções por ETEC são endêmicas (WHO, 1999).

Anualmente, infecções com diferentes cepas de ETEC causam um assombroso número de episódios de diarreia, muito superior a 200 milhões de casos e ocasionando aproximadamente 75.000 mortes, principalmente, entre bebês e crianças pequenas de áreas tropicais com más condições sanitárias. Dados epidemiológicos colhidos em diferentes momentos entre 1978 e 2007 demonstraram que a incidência de diarreia induzida por ETEC varia de 3,5 a 20,64% (Gomes, 2016; Franzolin, 2005; Regua-Mangia, 2004). Este patotipo é caracterizado principalmente pelas enterotoxinas que produz e atualmente o diagnóstico depende da identificação de genes que codificam as enterotoxinas LT e / ou ST. Uma ou ambas as toxinas podem ser expressas por cepas ETEC (Gomes, 2016).

A presença de ETEC em porcos foi avaliada de 1992 a 1997 (Parma, 2000) e o gene STIa foi detectado em cepas de *E. coli* isoladas de 21% de leitões com diarreia e de LT em 3,1% dos porcos. Nenhum gene de toxina foi amplificado a partir de cepas de *E. coli* isoladas de leitões saudáveis ou de suas mães. O sorogrupo O64 parece ser um ETEC prevalente para suínos na Argentina, enquanto é um sorogrupo incomum associado com *E. coli* não toxigênica na Espanha (Garabal, 1996). Além disso, Kagambèga et al. (2012) descobriram que a variante estIb foi mais prevalente nas fezes de bovinos, frangos e suínos. Pesquisadores peruanos que analisaram amostras brasileiras de alimentos do mar encontraram uma incidência muito baixa de cepas de ETEC (Ayulo, 1994). Em outro trabalho, 32 cepas de *E. coli* foram isoladas de frutos do mar. Um total de 14 cepas produziu exotoxinas, das quais sete eram LT e as outras sete ST (Torres, 2010; Teophilo, 2002).

### **2.1.2.3 *E. coli* enteroinvasora (EIEC)**

*E. coli* enteroinvasora (EIEC) é um agente causador de disenteria em humanos, especialmente, em países em desenvolvimento. EIEC causa ceratoconjuntivite em porcos-da-Índia experimentais e invade células do cólon, causando uma infecção semelhante à causada por *Shigella sp.* A primeira descrição da EIEC foi realizada por EWING e GRAWATTI em 1947. Os primeiros trabalhos enfatizando as características bioquímicas particulares das amostras EIEC foram apresentados, em 1967, por Trabulsi, no Brasil e por Sakazaki, no Japão. Na época, os isolados estudados foram positivos para o teste de Serény (queratoconjuntivite de porquinhos-da-índia) e as cepas apresentaram descarboxilação negativa de lisina, fermentação tardia lactose e geralmente sem motilidade, exceto para amostras do sorogrupo O124 (Gomes, 2016; Formal, 1983; Trabulsi, 1969; Sakazaki, 1967).

EIEC possui características bioquímicas, genéticas e patogênicas semelhantes à *Shigella*, o que dificulta a identificação correta desse patotipo. Ambos compartilham fatores

de virulência e testes bioquímicos. EIEC difere dos outros patótipos de *E. coli* por ser uma bactéria intracelular e por não possuir flagelos (Coxen, 2010). O modelo patogênico de ação de EIEC ainda está por ser elucidado, entretanto estudos sugerem que o modelo de atuação deste microrganismo inclui: penetração da célula epitelial, lise do vacúolo endocítico, multiplicação intracelular, movimentação através do citoplasma, morte das células hospedeiras e, por conseguinte, disseminação extracelular (Gomes, 2016; Kaper, 2004; Nataro, 1998; Garcia, 1996).

Os genes necessários para o processo de invasão das EIEC são codificados em um plasmídeo de 140-MDa denominado pInv. O outro fator de virulência observado para este patótipo é a produção de enterotoxina termolábil denominada ShET2, codificada por genes cromossômicos. A capacidade de invasão e sobrevivência deste patótipo depende dos genes contidos no plasmídeo pInv, que contém todos os genes relacionados a invasão, conseqüentemente a perda deste plasmídeo torna as cepas de EIEC avirulentas (Martinez, 2008; Kaper, 2004; Nataro, 1998).

Para caracterizar o patótipo do EIEC, é necessário pesquisar genes de virulência plasmidial. Atualmente, a investigação do gene ipaH, um gene multi-cópia (4-10) presente em EIEC e *Shigella*, por PCR é recomendada, ou estudos de outras sequências de DNA são necessários, como o gene locus associado à invasão (ial) (Gomes, 2016; Escher, 2014).

As infecções intestinais causadas por EIEC são mais frequentes em crianças com mais de dois anos de idade e no adulto. O reservatório é o próprio homem e a transmissão ocorre através da ingestão de água e alimentos contaminados (Gomes, 2016; Martinez, 2008). A infecção por EIEC pode se manifestar sob a forma de diarreia aquosa, indistinguível da causada por ETEC. Em algumas pessoas é observada a evolução para o quadro de disenteria, caracterizada por febre e colite. Os sintomas são urgência e tenesmo e as fezes contêm sangue, muco e numerosos leucócitos (Koneman, 2008).

A incidência de *E. coli* enteroinvasiva foi estimada em vários países e difere dependendo da região (Gomes, 2016). Discrepâncias entre alguns dos relatos podem ser observadas, provavelmente devido à dificuldade em discriminar entre *Shigella* e EIEC. Em certos países da América Latina e Ásia, nomeadamente Chile, Tailândia, Índia e Brasil, os isolados EIEC tem sido observado entre indivíduos assintomáticos. Ocasionalmente, alimentos e fontes de água são identificados como veículos de infecção, mas geralmente como contaminação secundária por uma fonte humana (Pasqua, 2017; Gomes, 2016; Tozzoli, 2014).

Em estudos de infecções do saco vitelino, Rosario et al (2004) identificaram a ipaH, típica de cepas de *E. coli* enteroinvasivas (EIEC) com propriedades bioquímicas que não

correspondem àquelas descritas para o grupo EIEC. Invasão de células HEp-2 com a formação de pontes intercelulares ou protusões tipo-filipoidais foram observadas em alguns isolados, enquanto os sorotipos e a presença de plasmídeos CoIV concordaram com a classificação como cepas extraintestinais de *E. coli*. Os resultados sugeriram a existência de complexos clonais específicos derivados de cepas EIEC adaptadas ao hospedeiro aviário. (Torres, 2010; Rosario, 2004). Em 2012, Kagambèga *et al* estudaram a prevalência de genes de virulência diarreiogênica por *Escherichia coli* nas fezes de bovinos abatidos, frangos e porcos em Burkina Faso e detectaram genes de virulência de *E. coli* enteroinvasora (EIEC) em apenas 1% das amostras de fezes de galinha (Bako, 2017; Kagambèga, 2012).

#### **2.1.2.4 *E. coli* produtora de Toxina Shiga (STEC)**

Konowalchuk e colaboradores no ano de 1977 reportaram um processo diarreico com uma característica que distinguia as STEC de outras categorias patogênicas de *E. coli*: a produção de uma toxina com efeito citotóxico irreversível em células Vero (células do rim do macaco verde, africano), sendo esta, posteriormente, chamada de verotoxina (VT). Em 1982, pesquisadores purificaram e caracterizaram a citotoxina produzida por um dos isolados de Konowalchuk e descobriram uma similaridade estrutural e de atividade biológica com as toxinas Shiga (Stx) produzidas por *Shigella dysenteriae*. Por isso essa categoria é conhecida como *E. coli* produtoras de STX (STEC) ou *E. coli* produtoras de VT (VTEC) (Guth, 2008; Paton, 1998).

A capacidade de produzir um ou mais citotoxinas da família da toxina Shiga (STX) (Melton-Celsa, 2014) constitui o principal atributo de virulência desse patotipo de *E. coli*. São capazes de causar infecções diarreicas leve, moderada e grave. 10 a 15% dos casos podem evoluir para Síndrome Urêmica Hemolítica (STEC-HUS) e desses, aproximadamente 20% dos pacientes evoluem para complicações em sítios extra renais, comprometendo o sistema neurológico (Gomes, 2016; Majowicz, 2014; Guth, 2010).

A toxina Shiga é o principal fator de virulência das STEC caracterizando, portanto, o patotipo. Esta citotoxina constitui uma família de citotoxinas estruturalmente relacionadas e com atividades biológicas similares. Existem dois subgrupos da toxina Shiga, Stx1 que representa um grupo mais homogêneo de toxinas praticamente idênticas à toxina Stx de *S. dysenteriae* e Stx2 que apresenta diversas variantes e tem menos de 60% de homologia com a toxina Stx de *S. dysenteriae*. A informação genética para a produção da toxina Shiga está alocada no genoma de um bacteriófago lisogênico integrado ao cromossoma de STEC

(Gomes, 2016; Croxen, 2010; Guth, 2008). Estudos epidemiológicos têm associado à toxina Stx2 a quadros mais graves em humanos (Elias, 2008).

A capacidade de aderir às células epiteliais intestinais é outro evento chave na patogênese STEC. A presença da ilha de patogenicidade cromossômica LEE (Stevens, 2014), também presente em isolados pertencentes ao patotipo EPEC, é comum. Embora o LEE tenha sido descrito nos principais sorotipos STEC responsáveis por uma alta proporção de casos de HC e HUS em vários países, a sua presença não é condição necessária para garantir a severidade das infecções (Gomes, 2016; Bielaszewska, 2011; Paton, 1998). Portanto, é claro que a patogênese STEC é um processo de várias etapas e além da produção de toxinas Stx e a lesão AE, outros fatores incluindo diferentes tipos de toxinas e as adesinas foram descritas e estão envolvidas na virulência (Gomes, 2016).

As STEC/EHEC são altamente infecciosas para seres humanos, estima-se que nos surtos causados pelo patotipo O157:H7, menos de 100 células bacterianas já sejam suficientes para causar a infecção (Guth, 2008; Caprioli, 2005). A infecção por este patógeno normalmente é adquirida após ingestão de alimentos ou água contaminados ou em alguns casos, no contato próximo direto pessoa-a-pessoa (Caprioli, 2005). As manifestações clínicas da doença incluem um amplo espectro clínico podendo compreender desde quadros assintomáticos, sintomáticos com diarreia branda, até casos mais graves evoluindo para a colite hemorrágica (CH), síndrome hemolítica urêmica (SHU), púrpura trombocitopênica trombótica (PTT), apendicite, cistite hemorrágica e anormalidades neurológicas (Guth, 2008). Para detecção do patotipo são utilizados como os alvos genéticos codificadores das toxinas Stx1/2, que representam os fatores de maior virulência desta categoria de *E.coli* (Gomes, 2016).

A detecção de isolados que não sejam do sorotipo O157 tornou-se uma preocupação quando amplos surtos causados pelo sorotipo O104:H4 foram reportados na Europa, que causaram 4075 casos (incluindo 908 casos complicados de HUS) e 50 mortes em 16 países (CDC, 2013). Análises posteriores de isolados demonstram que a cepa deste surto carregava genes característicos de STEC e EAEC. O impacto dessa nova cepa híbrida STEC/EAEC na doença humana é uma área de investigação ativa, particularmente porque a combinação de genes de virulência resultantes de um alto potencial de patogenicidade pode resultar em um grande surto em todo o mundo (Torres, 2017).

A presença de STEC no ambiente é fonte de preocupação, já que eles podem sobreviver no solo, esterco, pastos e água, que representa importante veículo de transmissão. Estudos realizados no estado do Paraná isolaram STEC de amostras de água de abastecimento

em diferentes municipalidades indicando a importância da água na veiculação do patógeno, especialmente, as que são destinadas ao abastecimento ainda sem tratamento (Lascowski, 2013). A utilização de restos de galinheiro é utilizado para fertilizar o solo na produção de legumes e frutas e a detecção de STEC em fertilizante orgânico usado em fazendas também (Puño, 2014) representa um potencial risco para a segurança da saúde pública (Gomes, 2016).

Considerando que pacientes HUS são consumidores de derivados bovinos, assim como carne e leite, o gado foi extensivamente investigado por PCR como potencial reservatório de STEC no início dos anos 90. A distribuição de STEC no trato gastrointestinal de uma grande variedade de animais indica o caráter zoonótico de suas infecções. O papel de diferentes espécies animais como portadores assintomáticos de STEC tem sido extensivamente estudado nos últimos anos no Brasil. Além do gado, que são seus reservatórios naturais mais comuns (Gonzalez, 2016; Lascowski, 2012), a presença destes patógenos foi identificada nas fezes de búfalas leiteiros, ovelhas, 180.181 porcos e 182.183 aves, (Beraldo, 2014; Martins, 2015; Maluta, 2014; Borges, 2012; Martins, 2013; Gioia-Di Chiacchio, 2016; Ribeiro, 2015).

Em 1997, o sorotipo O157:H7 foi isolado por Villa, na Argentina, embora esta descoberta tenha sido publicada só após este sorotipo ser isolado, em 1982, de pacientes com colite hemorrágica (Orskov, 1987; Riley, 1983) No México, carcaças bovinas foram analisadas para STEC por cultura de enriquecimento seletivo e IMS-PCR, em que 5% destas foram positivas para *E. coli* O157 não móvel e 2,7% para *E. coli* O155:H7 (Varela-Hernandez, 2007).

No Brasil, o gado também é reconhecido ser carreador típico de STEC (Leomil, 2005) e assim como tem demonstrado ocorrência de cepas distintas em ovelhas para diferentes fazendas. STEC do sorotipo O5:H- são predominantemente isoladas de ovelhas e raramente para gado demonstrando perfis genéticos entre espécies e sugerindo a existência de diferentes populações clonais de O5:H-. Isto sugere que ovelhas sejam reservatórios de STEC para uma limitada coleção de sorotipos (Vettorato, 2003; Parma, 2000).

A presença de STEC também foi pesquisada em porcos na região central e no nordeste argentino (Parma, 2000). *Escherichia coli* também está presente na microbiota intestinal de cães e gatos, e envolve entre outras cepas do patotipo STEC (Broes, 1993). No Brasil cepas de *E. coli* foram isoladas de cães e de todos os investigados houve a presença de genes *stx* (*stx1* e *stx2*) por PCR (Paula, 2009).

Não há muitos animais que albergam apenas cepas de STEC, a maioria deles correspondem para STEC e ETEC com estes carreando, predominantemente, os genes *stx2* e,

*stIa*, *stb*, *stI*. Bezerros são com frequência severamente afetados por patótipos ETEC, mas a doença é raramente encontrada em bezerros acima de 1 ano. Bovinos adultos são conhecidos como típicos carreadores de STEC, embora haja algumas discrepâncias na literatura, estes animais não mostram sintomas de diarreia (Aidar-Ugrinovich, 2007; Leomil, 2005).

Também há estudos em que cepas STEC (*stx1*, *stx2*, *stx1/stx2*) foram isoladas de animais autóctones como guanaco, lhama e vicunha assim como de animais exóticos de zoológicos. STEC foi isolada de guanacos na Cordilheira dos Andes em altitude de 4000 metros (Parma, 2004; Mercado, 2004).

Hale et al. (2012) estimaram que 14% das doenças de sete patógenos zoonóticos comuns foram devido ao contato direto com animais de fazenda. *Campylobacter* foi responsável por ~42% dessas doenças, seguido por *Salmonella* não tifoide (29%), *Cryptosporidium* (26%), *Escherichia coli* não-O157 Shiga toxina (STEC) (2%), STEC O157 (1%), *Yersinia enterocolitica* (<0,5%) e *Listeria monocytogenes* (<0,5%) (Hale et al., 2012). *Salmonella*, *Campylobacter* e *Cryptosporidium* são responsáveis pela maioria das hospitalizações e mortes (Hale et al., 2012). Embora a transmissão de infecções por STEC seja baixa em comparação com outros patógenos zoonóticos, é um problema significativo devido à sua dose infecciosa muito pequena (tão pequena quanto 10 células) e à gravidade da doença que pode se desenvolver, particularmente em crianças jovens (Baker et al., 2016).

*Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) são patógenos zoonóticos que vivem no trato gastrointestinal de animais selvagens e gado sem causar doença (Dias, 2019). O gado foi reconhecido como o principal reservatório de cepas STEC. No entanto, revisões sistemáticas e meta-análises de literatura para investigar a prevalência de STEC em bovinos no nível global quanto à distribuição de sorogrupos e genes de virulência diferem significativamente por região geográfica (Cap, 2018).

No Brasil, a variabilidade tem sido observada nas taxas de isolamento e sorotipos de cepas de STEC bovino relatados. Análises comparativas mostram que as cepas pertencentes a O22: H8, O22: H16, O113: H21, O116: H21 e outros sorotipos foram comumente isolados de bovinos de diferentes regiões brasileiras (dos Santos, 2018; Gonzalez, 2016; Guth, 2010). Em uma análise de 105 cepas STEC isoladas de 1562 amostras fecais positivas de bovinos saudáveis no Rio de Janeiro, Gonzales et al. (2016), verificaram que O157: H7 foi o sorotipo mais prevalente (12,4%), seguido por O113: H21 (7%) e O8: H19 (6%). É interessante notar que as infecções humanas por STEC no Brasil esteve ligado, principalmente, a casos de diarreia e a estirpes não O157 (Segura, 2018). A partir da análise da subtipagem *stx* o estudo observou alta prevalência de *stx2c* entre os STECs bovinos e, particularmente, a presença de

stx2c como o único gene que codifica o Stx em todos os STEC O157 (Gonzalez, 2016). Os autores sugeriram que o genótipo predominante nas cepas O157: H7 do reservatório animal poderia contribuir, pelo menos em parte, para a baixa ocorrência de SHU no Brasil.

#### **2.1.2.5 *E. coli* enteroagregativa (EAEC)**

Estudos realizados na década de 80 revelaram que isolados de *E. coli* exibiam fenótipo de aderência distinto das demais categorias diarreioagênicas. Este padrão de aderência encontrado foi mais profundamente estudado e caracterizado por Nataro e colaboradores, em 1987, em um estudo sobre a etiologia da diarreia infantil no Chile (Nataro, 1998; Elias, 2008). A partir deste estudo os pesquisadores foram capazes de subdividir este padrão de aderência em duas categorias: agregativa e difusa. O padrão de aderência agregativa (AA) é caracterizado pela aderência das bactérias umas às outras e à superfície das células numa configuração que lembra tijolos empilhados, formando agregados heterogêneos ou também em forma de cordões (Nataro & Kaper, 1998).

A detecção do fenótipo AA ainda é o teste padrão ouro para caracterizar um isolado como EAEC (Gomes, 2016). No entanto, o padrão AA pode ser encontrado em cepas de outros patótipos diarreioagênicos como aEPEC. O diagnóstico de EAEC consiste da detecção do fenótipo AA e/ou dos genes codificadores dessa propriedade e da ausência dos principais marcadores genéticos que definem outros patótipos (EPEC, ETEC, EHEC, EIEC). Uma exceção para isso é o híbrido EAEC/STEC estirpe responsável por um surto de diarreia e HUS em 2011 ocorrido na Europa. Esta linhagem é do sorotipo O104: H4 que adquiriu o fago que codifica STX2. Portanto é um híbrido EAEC produtor de STX (Rasko, 2011).

EAEC é considerada um patógeno entérico emergente responsável por diarreia persistente e desnutrição em crianças e em pessoas infectadas pelo vírus da imunodeficiência (HIV) em países em desenvolvimento (Fang, 1995). É também reconhecida como a segunda maior causa da “diarreia dos viajantes” (Huang, 2006). O quadro de diarreia persistente tem sido associado com a desnutrição e retardo no desenvolvimento físico e intelectual. A inflamação intestinal crônica, mesmo na ausência de diarreia, atua reduzindo sua função de absorção e conduzindo à desnutrição (Gomes, 2016; Fang, 1995).

Os potenciais fatores de virulência de EAEC são diversos e incluem adesinas, toxinas e proteínas secretadas (Müller, 2007; Sarantuya 2004). No entanto, nenhum desses fatores é encontrado em todas as cepas de EAEC. Recentemente, uma divisão de cepas de EAEC em subgrupos típicos ou atípicos foi proposta. Esta classificação é baseada na presença ou

ausência do gene *aggR*, que codifica e regula outros genes de virulência de EAEC (Gomes, 2016; Tokuda, 2010; Müller, 2007; Czczulim, 1999; Baudry, 1990).

Muitos fatores de virulência em potencial vêm sendo identificados para EAEC (Quadro 02), porém o mecanismo exato de patogênese ainda não é totalmente compreendido (Huang, 2006). Sabe-se que algumas cepas de EAEC são carreadoras do plasmídeo pAA de 60-65 MDa que alberga genes necessários ao fenótipo de aderência agregativa. Neste plasmídeo estão localizados genes codificadores das toxinas EAST-1 e Pet, da dispersina, genes codificadores das subunidades estruturais da fimbria de aderência agregativa *aggA* (AAF/I), *aafA* (AAF/II) e *agg-3* (AAF/III), *shf*, além do gene regulador global de genes de virulência *aggR*. Os genes que codificam a proteína Pic, ShET1 (enterotoxina de *Shigella flexneri*) e Irp2 são de localização cromossômica. A existência de fatores de virulência de EAEC em ilhas de patogenicidade vem sendo estudada tendo sido identificadas três ilhas até o momento (Croxen, 2010; Elias, 2008; Weintraub, 2007).

Foi proposto um modelo de três estágios de sua patogênese (Croxen, 2010). No primeiro estágio da infecção as bactérias aderem à mucosa intestinal e à camada de muco através da fimbria de aderência agregativa (AAF) e fatores de aderência. No segundo estágio as bactérias continuam se multiplicando na camada de muco e estimulam a sua hipersecreção formando um biofilme bacteriano. Por fim, o terceiro estágio é caracterizado pela produção de toxinas e pelo desenvolvimento de processo inflamatório resultando em lesões da mucosa intestinal. Os danos causados nas microvilosidades e a presença do biofilme bacteriano geram a má absorção de fluidos e solutos desencadeando a diarreia (Elias, 2008; Huang, 2006). A diarreia causada por EAEC é normalmente aquosa, mas pode ser acompanhada em alguns casos por sangue ou muco (Croxen, 2010).

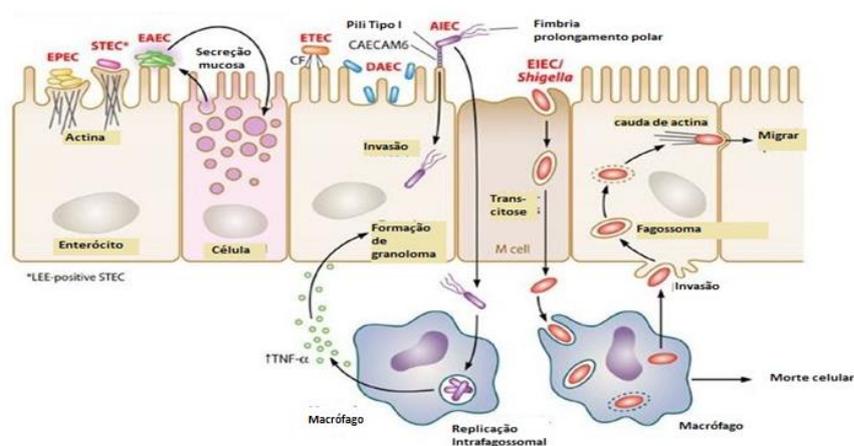
Variantes patogênicas de *E. coli* causam morbidade e mortalidade em todo o mundo. Muitos desses patótipos causam impacto relevante para a saúde pública já que muitos são agentes de doenças infecciosas e são transmitidos através de alimentos e água. A gravidade da *E. coli* patogênica é alertada por programas de vigilância nacionais e internacionais dedicados ao monitoramento do patógeno. Na Figura 02 está esquematizado de forma resumida o modelo patogênico dos diferentes patótipos diarreio gênicos de *E. coli*.

Além das infecções intestinais a espécie bacteriana também é agente causal de infecções em sítios extraintestinais.

**Quadro 02.** Características de virulência descritos em EAEC.

Fator de Virulência	Gene	Descrição do fator de virulência
Regulador global	<i>aggR</i>	Proteína reguladora dos genes de virulência
Fimbrias	<i>aggA</i>	AAF/I e a hemaglutinação de eritrócitos
	<i>aafA</i>	AAF/II responsável pela mediação da aderência a mucosa
	<i>agg3</i>	AAF/III
Enterotoxinas	<i>astA</i>	Toxina agregativa termoestável (similar a ST de ETEC)
	<i>pet</i>	Proteína que funciona como enterotoxina termolábil e citotoxina
OMPs	OMP	Aderência de EAEC e a hemaglutinação de eritrócitos
Transportador de dispersina	<i>aatA</i>	Proteína responsável pelo transporte da dispersina para fora da membrana externa de EAEC
Proteínas de secreção	<i>aap</i>	Proteína responsável pela dispersão da EAEC através da mucosa intestinal
	<i>pic</i>	Proteína com atividade de mucinase, resistência ao soro e de hemaglutinação de eritrócitos
Yersiniabactina	<i>irp2</i>	Sistema de captura de ferro por sideróforo

Fonte: Huang e colaboradores, 2006 (adaptado).

**Figura 02.** Esquema geral de patogenicidade descrito para os patotipos diarreio gênicos de *E. coli* (Coxer, 2013).

Fonte: Coxer, 2013

## 2.2 *E. coli* Extraintestinal (EXPEC, extraintestinal, pathogenic *E. coli*)

*Escherichia coli* patogênica extraintestinal (ExPEC) tem uma estrutura filogenética complexa, ampla gama fatores de virulência (VF) e considerável plasticidade genética. O grupo ExPEC inclui *E. coli* uropatogênica (UPEC), *E. coli* associada a meningite neonatal (NMEC), *E. coli* associada à sepse (SEPEC) e *E. coli* patogênica aviária (APEC). *E. coli* ExPEC têm muitos fatores associados à virulência incluindo adesinas, toxinas, fatores de aquisição de ferro, lipopolissacarídeos, cápsulas de polissacarídeo e invasinas que são geralmente codificados em ilhas de patogenicidade (PAIs), plasmídeos e outros elementos genéticos móveis (Sarowska, 2019; Köhler, 2011; Tivendale, 2010). A infecção do trato urinário é uma das doenças infecciosas mais comuns. Essas infecções são responsáveis aproximadamente 40% de todas as infecções nosocomiais e 10-20% das infecções hospitalares, das quais 81% ocorrem em mulheres entre 16 e 35 anos. Sintomas clínicos associados com ITU (infecção do trato urinário) pode ter um quadro clínico diferente, variando de bacteriúria assintomática, várias infecções ascendentes (por exemplo, pielonefrite aguda), até urosepsis grave (Conceição, 2012). As cepas de *E. coli* são responsáveis por 75-95% das cepas ITUs e para 40 a 50% das ITUs complicadas (Tan, 2016).

ExPEC são patógenos facultativos que fazem parte da microbiota intestinal de humanos mas a sua presença pode estar associada com algumas doenças infecciosas, como ITUs, meningite neonatal (NMEC *E. coli*) e sepse (SEPEC *E. coli*), sendo a ITU a mais prevalente. A maioria das UTIs é causada por um grupo altamente heterogêneo de ExPEC, denominada *E. coli* uropatogênica (UPEC). APEC causando colibacilose em aves é considerado ser um patotipo do ExPEC. A colibacilose parece ser uma doença infecciosa importante em aves, responsável por perdas econômicas em granjas avícolas devido a alta mortalidade e diminuição da produção avícola (Sarowska, 2019; Kemmett, 2014). *E. coli* uropatogênica tem muitos fatores de virulência, isto é, adesinas, toxinas (por exemplo alfa-hemolisina, citotóxicafator necrosante 1, toxinas do autotransportador), sistemas de ferro/hemaqueificação e transporte de íons de ferro. P, S e tipo 1 fimbriae é responsável entre outros, pela adesão às células epiteliais dos intestinos, rins ou urina inferior e para estimular a produção de citocinas pelas células T (Sarowska, 2019).

Borzi e seus colegas mostraram que a galinha-d'angola (*Numida meleagris*) pode ser um reservatório de APEC resistente a antibióticos, o que é um risco potencial para a saúde de outras espécies, incluindo seres humanos (Borzi, 2018). Khan e colaboradores observaram que no grupo de cepas ExPEC isoladas de amostras de carne suína Hubei (China) até 85%

pertencia ao grupo B2. Entre genes codificadores de fatores de virulência de superfície, os genes mais prevalentes foram kpsMII (74,5%), fmH (70,4%) e papC (47,3%), enquanto entre os menos frequentemente detectados cepas foram do grupo D, a virulência mais difundida os genes foram sfaS e focG (76,9%), fmH (46,2%) e afa (38,5%).

Os autores sugerem que da mesma forma que a ave ExPEC humana, cepas de *E. coli* isoladas de suínos têm muitos determinantes genéticos da virulência, que promovem UTI em humanos (Khan, 2017). Estudos canadenses sobre a frequência de detecção ExPEC em carne, relataram uma participação significativamente maior desses isolados em amostras de frangos em comparação com carne bovina ou suína (Schaefer, 2013). Muitos pesquisadores sugerem que a detecção de *E. coli* com fatores de virulência que facilitam o desenvolvimento de infecções ExPEC humanas em produtos alimentares de origem animal, particularmente em aves de capoeira, é atualmente um importante problema de segurança alimentar que requer monitoramento constante (Mellata, 2018).

Potenciais reservatórios para as cepas de *Escherichia coli* que causam a maioria das infecções extraintestinais humanas (*E. coli* extraintestinal; ExPEC) tem sido identificados, incluindo o trato intestinal humano e vários reservatórios não humanos, tais como animais domésticos, animais para abate e carnes de varejo, esgoto e outras fontes ambientais. A compreensão dos reservatórios da ExPEC, da transmissão, da dinâmica da transmissão e das associações epidemiológicas ajudará muito a encontrar maneiras de reduzir a carga de doenças associadas com a ExPEC (Manges, 2012).

Animais de companhia que desenvolvem tipos similares de infecção extraintestinal como seus guardiões humanos também foram identificados como um reservatório de ExPEC humano (Blanco, 1993; Chérifi, 1994). Pesquisas sobre infecções causadas por *E. coli* em animais de estimação e estudos de vigilância em hospitais veterinários documentaram a circulação de ExPEC geneticamente relacionado e frequentemente antimicrobiano-resistente em cães, gatos e outros animais que vivem em estreita relação com humanos (Platell, 2011; Platell, 2010).

### **2.3 Agrupamento Filogenético de *Escherichia coli***

Estudos filogenéticos têm contribuído enormemente para os esclarecimentos dos aspectos de evolução, da diversidade e da virulência de linhagens de *E. coli* isoladas de uma grande variedade de hospedeiros, ambientes e origens geográficas. Estudos iniciais revelaram

que populações comensais e patogênicas de *E. coli* eram divididas em quatro principais filogrupos designados A, B1, B2 e D (Clermont, 2013; Gordon, 2008).

Esse agrupamento filogenético baseado em ensaio tríplex é um método simples e rápido que utiliza uma chave dicotômica baseada na presença ou ausência de dois genes (*chuA* e *yjaA*) e de um fragmento anônimo de DNA (TSPE4.C2) (Clermont, 2013; Gordon, 2008). O gene *chuA* é responsável pelo transporte de ferro na *E. coli* enterohemorrágica O157:H7 e o gene *yjaA* foi identificado no genoma da *E. coli* K-12 e sua função ainda não é conhecida (Clermont, 2000).

Recentemente, o aprimoramento de técnicas moleculares, especialmente, considerando os dados de sequenciamento de DNA, tem refinado o entendimento da estrutura dos grupos filogenéticos de *E. coli* e novos grupos são reconhecidos. Dada às limitações do ensaio triplex na categorização errônea de algumas cepas e a incapacidade do método convencional não detectar outros filogrupos. Clermont e colaboradores desenvolveram um novo método, agora quadriplex, redesenhando os iniciadores tradicionais e incluindo um alvo adicional, gene *arpA*, de modo a tornar a filogrupagem mais precisa (Clermont, 2013). Nesse protocolo quadriplex apenas isolados de *E. coli* com fenótipo típico (lactose +, citrato + e indol +) serão detectados. Isolados pertencentes a outras espécies do mesmo gênero como *E. albertii* e *E. fergusonii* serão excluídos. A partir desse protocolo *E. coli* pode ser classificada como potencialmente virulenta nos seguintes grupos filogenéticos: A, B1, B2, C, D, E, F e clade I (Sarowska, 2019; Dale, 2015). Cepas comensais de *E. coli*, sem características patogênicas, que ocorrem, entre outras, na mucosa do trato gastrointestinal, na maioria das vezes representam o grupo A ou B1. As cepas patogênicas de *E. coli* responsáveis pelas infecções intestinais representam os grupos filogenéticos A, B1 ou D. *E. coli* responsáveis pelas infecções extraintestinais pertencem aos grupos B2 e D. O grupo E está relacionado ao grupo D (incluindo O157: H7), enquanto o grupo F está relacionado aos principais grupo B2. Os clones de cepas de *E. coli*, que são geneticamente diversos, mas fenotipicamente indistinguíveis, foram atribuídos a clade I (Sarowska, 2019).

O novo método é tecnicamente mais complexo e requer criteriosa interpretação de seus resultados para a definição precisa dos filogrupos (A, B1, B2, C, D, E, F, clade I) que é baseada na combinação das sequências dos genótipos *arpA/chuA/yjaA/TspE4.C2* (Clermont, 2013).

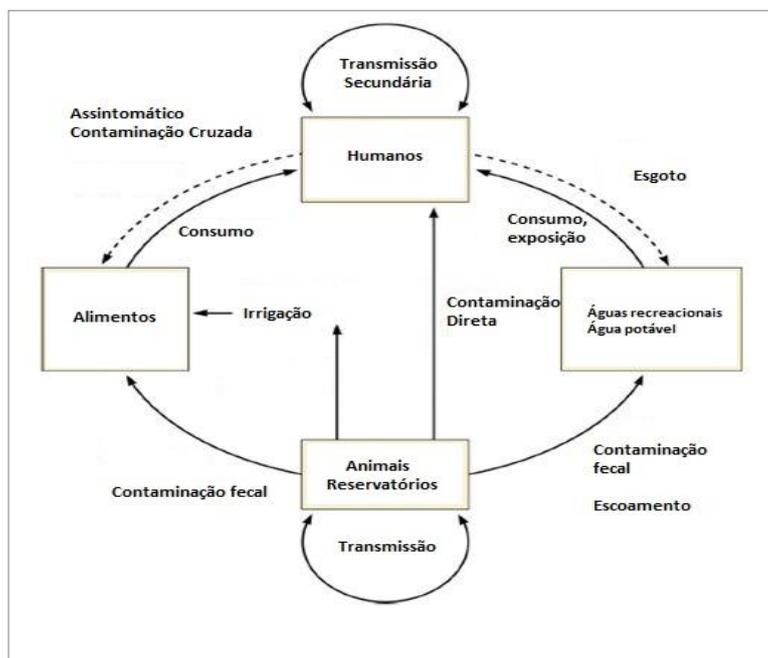
## 2.4 Ciclo Ambiental de *Escherichia coli*

Considerando *E. coli* como uma espécie bacteriana integrante da microbiota de animais de sangue quente, as possibilidades de transmissão e circulação no ambiente são inúmeras. (Figura 03). Assim, o microrganismo pode ser transferido de um hospedeiro/reservatório animal para outro por meio da via oral-fecal, diretamente ou indiretamente, através de superfícies, água, solo, líquidos e plantas contaminadas (Levine, 1984). A transmissão pode ocorrer a partir de animais ou seres humanos, sintomáticos ou carreadores assintomáticos (Gomes, 2016; Torres, 2015; Croxer, 2013). No ambiente, as fezes de animais reservatórios podem contaminar diretamente outros animais, águas recreacionais/potável, água de irrigação de agricultura e verduras e legumes em cultivo. Os seres humanos podem ser contaminados manipulando diretamente o animal, consumindo o alimento e água contaminados e no momento de lazer em águas recreacionais contaminadas. O homem infectado pode transmitir o patógeno diretamente a outro ser humano ou mesmo contaminando com suas as fezes as fontes de água e alimentos. (Figura 3)

O ambiente tem um papel relevante na transmissão e preservação desses microrganismos (Jang, 2014), o material fecal liberado pode contaminar alimentos, água para a irrigação, a recreação ou mesmo para a ingestão (Araújo, 2016; Lascowski, 2013; CDC, 2013). Essa disseminação assume proporções preocupantes quando o ambiente oferece condições inadequadas favorecendo a sua disseminação, especialmente, em um contexto sanitário desfavorável (Coxer, 2013).

O alimento pode ser contaminado através de alimento mal cozidos ou mesmo contaminados durante o processamento de abate do animal ou preparo industrial. Pessoas que processam alimentos, tanto os sintomáticos quanto os assintomáticos, podem contaminar alimentos, particularmente quando não há higiene adequada. Contaminação de água recreacional ou potável pode ocorrer através da exposição a esgoto não tratado (Coxer, 2013).

**Figura 03:** Visão geral dos potenciais reservatórios e transmissão de *E. coli* patogênica



Fonte: Coxer, 2013

*Escherichia coli* por ser uma espécie bacteriana encontrada no trato intestinal de animais de sangue quente (Torres, 2017), pode ocasionar contaminação de ambientes aquáticos após o lançamento de esgotos domésticos, de efluentes de origem agropecuária, hospitalar entre outros (USEPA, 2006). Estudos epidemiológicos tem reportado uma forte correlação entre as densidades de *E. coli* na água e o risco de doenças intestinais propiciando o uso desta bactéria como indicador de contaminação fecal em sistemas de água potável (Marion et al., 2010; Wiedenmann et al., 2006).

A classificação de microrganismo como sendo um indicador de contaminação fecal é dependente dentre outros fatores da suposta incapacidade do microrganismo de se multiplicar no ambiente (Brennan, 2010). Neste contexto, *E. coli* foi assumida como indicador de contaminação fecal recente já que era considerado que *E. coli* não sobreviveria fora do hospedeiro e seria incapaz de se multiplicar no ambiente. No entanto, estudos mais recentes mostram que cepas *E. coli* persistem e crescem no ambiente sugerindo rever a sua classificação como indicador fecal recente (Chandrasekaran, 2015).

Estudos ecológicos mostram que essa bactéria é capaz de sobreviver por longos períodos fora do trato gastrointestinal e pode se reproduzir no solo, areia e sedimento em clima tropical, subtropical e temperado (Jang, 2014; Ishii e Sadowsky, 2008). As altas temperaturas e a grande disponibilidade de nutrientes nestes ambientes parecem permitir a sobrevivência e persistência da *E. coli* fora do hospedeiro. Além disso, a habilidade desta

bactéria de se aclimatar a novos nichos em razão, por exemplo, de sua grande versatilidade para a aquisição de energia, parece permitir que estes microrganismos se tornem membros integrados de comunidades microbianas em uma grande variedade de ambientes, mesmo em condições muito diferentes do seu *habitat* primário/hospedeiro (Elsas, 2011; Ishii e Sadowsky, 2008). Em estudos prévios foram detectados altos níveis do gene *eae* em isolados de algas *Cladophora sp.* coletadas de corpos hídricos superficiais. As concentrações dos genes *eaeA*, assim como *ftsZ* e *uidA*, são detectados em água de ambientes de praia quando as condições tornam-se mais favoráveis, sugerindo que *eaeA*-positivo *E. coli* possa se manter/reproduzir nestes ambientes comprometendo a qualidade da água (Byappanahalli et al., 2015).

A literatura mostra que o crescimento e sobrevivência de *E. coli* no ambiente pode ser influenciado por fatores bióticos e abióticos (Rochelle-Newall, 2015). Fatores abióticos incluem temperatura, água, viabilidade de nutrientes, pH e radiação solar. Fatores bióticos incluem a presença de outros microrganismos e a formação de biofilme no ambiente (Jang, 2017). Com estudos abordando estes fatores tem sido possível conhecer melhor o comportamento de *E. coli* no ambiente. Destes fatores a temperatura demonstra ser o mais importante fator que influencia a sobrevivência e crescimento da bactéria no meio ambiente. *E. coli* pode crescer no solo em temperaturas  $>30^{\circ}\text{C}$ , embora sua taxa de morte seja mais rápida acima dessa temperatura acima de  $30^{\circ}\text{C}$  do que em temperatura abaixo de  $30^{\circ}\text{C}$  (Ishii, 2006, 2010).

A variação das taxas de inativação de *E. coli* depende da temperatura e difere entre tipos de fontes de água assim como rios, córregos e lagos, água de áreas agrícolas e águas servidas (Blaustein et al., 2013). Estudos de campo tem mostrado que o genoma total de algumas cepas de *E. coli* isolados do solo foram únicos para ambientes específicos e compartilham pouco ou nenhuma similaridade genética com *E. coli* isoladas de vários animais (Ishii et al., 2006, 2007). Juntas estas pesquisas sugerem que algumas cepas de *E. coli* se multiplicam e sobrevivem em solos estão presentes e são adaptados como membros estáveis da comunidade microbiana do solo. Estas cepas tem sido referidas como *E. coli* naturalizadas (Ishii et al., 2006).

Particularmente para populações enteropatogênicas de *E. coli*, a presença de STEC no ambiente é outra questão de preocupação, uma vez que eles podem sobreviver no solo, estrume, pastagens e água que assim representam veículos importantes de transmissão. O isolamento de cepas de STEC a partir de água de abastecimento potável, coletado em diferentes municipalidades no norte do estado do Paraná, foi descrito destacando a importância da água potável, especialmente abastecimento de água não tratada como fonte de

cepas de STEC potencialmente patogênicas para humanos (Gomes, 2016; Lascowski, 2013; Nataro, 1998).

A identificação filogenética de isolados de *E. coli* revela o potencial patogênico do microrganismo e podem levantar informação relevante sobre os seus aspectos fisiológicos e ecológicos (Jang, 2014). Essa categorização realizada com populações de *E. coli* isoladas de ambientes aquáticos tem permitido observar que patótipos diarreio gênicos e extra-intestinais de *E. coli* estão distribuídos nos mais variados ecossistemas aquáticos, salientando a importância de tais estudos para a Saúde Pública (Perini, 2015; Hamelin, 2006).

## 2.5 Estudo Espacial de Doenças Infecciosas

O Geoprocessamento se constitui como uma ferramenta importante para análise da territorialidade dos fenômenos (Xavier, 2004). Esse instrumento consiste de um conjunto de métodos e técnicas de processamento de dados, espacialmente referenciados, destinados a classificar, revelar relacionamentos, acompanhar a evolução e gerar estimativas territoriais e temporais sobre entidades ambientais (Xavier, 2004). Geoprocessamento por ser uma tecnologia interdisciplinar que permite a convergência de diferentes disciplinas científicas para o estudo de fenômenos ambientais e urbanos. Ou ainda, que “o espaço é uma linguagem comum” para as diferentes disciplinas do conhecimento (INPE, 2001).

Nesse contexto de análise é incluído o Sistema de Informação Geográfica (SIG ou GIS - Geographic Information System, do acrônimo/acrônimo inglês) que é um sistema de *hardware, software*, informação espacial, procedimentos computacionais e recursos humanos que permitem e facilitam a análise, a gestão ou a representação do espaço e dos fenômenos que nele ocorrem (INPE, 2001). O Sistema de Informação Geográfica (SIG) permite uma análise complexa de um grande número de informações apresentando os resultados no formato de mapas gráficos (Barbosa, 2015).

A análise da distribuição espacial alicerça estudos sobre a distribuição e dispersão geográfica de agentes ou agravos nas regiões e nas áreas de abrangência, permitindo acesso rápido às informações necessárias para realizar a vigilância sobre a ocorrência de doenças e/ou de agentes infecciosos (Nardi, 2013; Barcellos, 2005; Bailey, 1995). Mapas temáticos são construídos e são extremamente úteis auxiliando o conhecimento e identificando áreas de risco ambiental para determinados eventos ou agravos em saúde. Esses mapas permitem a representação de alguns aspectos concretos do espaço geográfico, no entanto, existe um

conjunto de técnicas e dados para fazê-lo de forma precisa, adequada e que contribua para o nosso conhecimento sobre a ocorrência do evento no espaço.

A ecologia é uma disciplina que utiliza a espacialização como uma ferramenta adicional para auxiliar na compreensão de uma doença em um lugar específico. A epidemiologia espacial amplia a rica tradição de estudos ecológicos que usam explicações da distribuição de doenças em diferentes lugares para melhor entender a etiologia da doença (Elliot, 2004).

A construção de mapas temáticos aliados à aplicação de técnicas de geoprocessamento e de análise espacial deve ser realizada em Sistemas de Informações Geográficas (SIG). Este sistema integra um conjunto de ferramentas utilizadas para a manipulação de informações espacialmente apresentadas, permitindo o mapeamento das doenças, bem como contribuem na estruturação e na análise de riscos socioambientais (Chaiblich, 2017; Barbosa, 2015; Barcellos & Ramalho, 2002). A aplicação de técnicas de geoprocessamento para dados de área em saúde possibilita analisar espacialmente a ocorrência de agentes infecciosos/agrivos, por meio de mapas e observações de campo (Gonçalves, 2016; Almeida, 2011; Barcellos, 2005).

Dentre as técnicas de análise e visualização destaca-se a técnica de análise exploratória, mais especificamente a análise de padrões de pontos: o estimador de intensidade (*Kernel estimation*). A interpolação de *Kernel* possibilita identificar áreas de maior concentração (densidade) de eventos/ocorrências de pessoas afetadas. A análise de grandes bases de dados permite ainda mostrar tendências sazonais e de longo prazo, bem como identificação de padrões e áreas onde se concentram riscos (Xavier, 2014). Essa técnica não paramétrica, além de estimar a intensidade da ocorrência de casos em toda a superfície analisada, permite filtrar a variabilidade de um conjunto de dados ao mesmo tempo em que retém suas principais características locais (Carvalho, 2017).

O método de *Kernel* é uma técnica de interpolação exploratória que gera uma superfície de intensidade/densidade para a identificação visual de áreas quentes (*hotspots*). Algumas funções podem ser usadas para interpolação, as quais definem a forma de ponderação adotada. Cada função produz diferenças suaves na forma da superfície interpolada pesando distintamente os pontos no círculo circunscrito em torno da posição de referência.

## 2.6 O ambiente natural e os desastres

Fenômenos naturais ou ações provocadas pela ação humana, sobre um ecossistema vulnerável, podem resultar em desastres causando danos à saúde humana, materiais e recursos ambientais e consequentes prejuízos econômicos e sociais (Castro, 1998).

Fatores bióticos e abióticos exercem influência sobre os diversos componentes de um ecossistema. Além das condições resultantes de fenômenos naturais que modificam a superfície terrestre, a atividade humana já é considerada um fator biótico muito relevante. Em meio à diversidade de condições para resiliência e adaptação as mudanças sejam elas naturais ou artificiais, o monitoramento ambiental permite acumular e desenvolver o conhecimento do ambiente através da observação e coleta de dados dos diversos fatores ambientais assim como seus os componentes (Coura, 2012).

A ecologia científica ocupa um nicho importante e desempenha um papel de destaque na formulação e solução de problemas que envolvem plantas, animais e microrganismos em suas interações com o ambiente (Coura, 2012). A adoção de medidas concretas para ampliar o conhecimento na área do monitoramento ambiental contribui para o planejamento das ações tanto sobre a utilização e ocupação do solo assim com o gerenciamento de áreas no pós-desastres.

O fenômeno de enchentes e inundações contribui para a ocorrência de desastres e faz parte da dinâmica de bacias hidrográficas e de rios. São eventos naturais que ocorrem com periodicidade nos cursos d'água, frequentemente deflagrados por chuvas fortes e rápidas ou chuvas de longa duração (Tominaga, 2009). O crescimento da população global, a pobreza e a urbanização têm aumentado o número de pessoas que procuram lugares considerados propícios a desastres assim como as alterações físicas e a ausência do tratamento de esgoto sanitário tornam estes locais ainda mais susceptíveis.

Nas inundações ocorre o transbordamento de água da calha normal de rios, mares, lagos e açudes ou acúmulo de água por drenagem deficiente. Podem ser classificadas em função do seu padrão evolutivo, como: i) enchentes ou inundações graduais, ii) enxurradas ou inundações bruscas, iii) alagamentos e iv) inundações litorâneas. Na maioria das vezes, o incremento do fluxo de água é provocado por precipitações pluviométricas intensas e concentrado, assim como pela intensificação do regime de chuvas sazonais ou pela saturação do lençol freático (Ministério da Saúde, 2014).

As cheias e inundações são fenômenos hidrológicos que não são possíveis evitar e que podem ser potencialmente perigosos dependendo da magnitude atingida (altura da água,

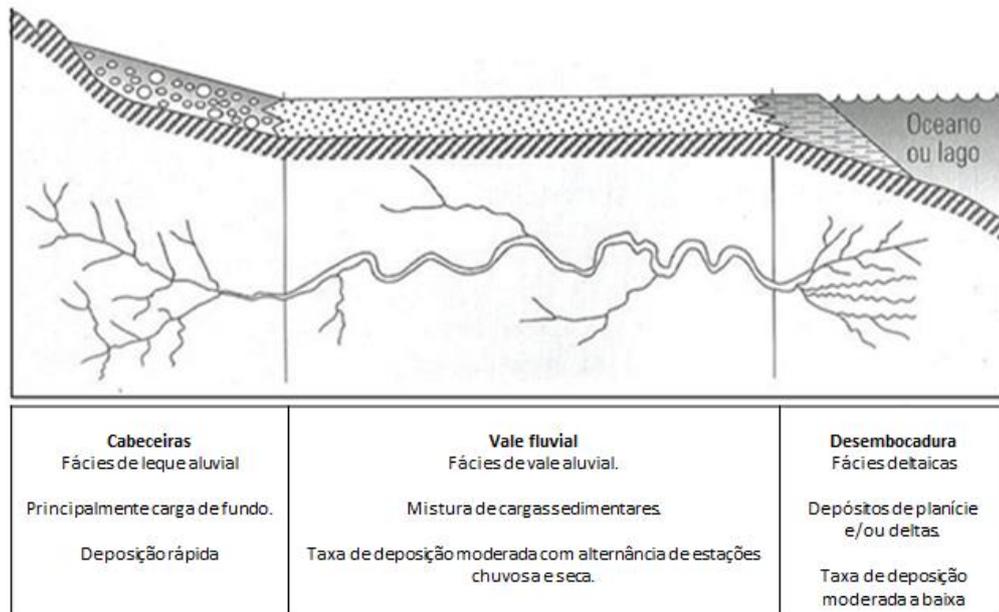
caudais), da velocidade com que progridem e da frequência com que ocorrem. Contudo, só provocam situações de risco se houver elementos a elas expostos (população, propriedades, estruturas, infraestruturas, atividades econômicas), ou seja, localizados em áreas inundáveis, que possam ser destruídos ou gravemente danificados (Ramos, 2013).

A configuração ou delineamento das bacias hidrográficas é fundamental para potencializar os riscos de ocorrência de eventos de inundação. A geomorfologia da superfície terrestre é um produto tridimensional evidenciado por dois elementos fundamentais: o relevo através das diferenças de altitudes entre dois pontos, o gradiente topográfico e a forma geométrica, vista através da configuração morfológica das curvas que reproduzem o relevo (Vieira, 2017). Os rios apresentam um dos mais importantes agentes geológicos que desempenham papel de grande relevância na modelagem do relevo, no condicionamento ambiental e na própria vida do ser humano (Suguio, 2006). O conceito de ciclo de erosão propõe estágios sucessivos de evolução que podem ser encontrados do mesmo modo, ao longo de um único rio, da nascente a foz. Essas três seções são comparadas em três fases a seguir (Figura 04):

O curso superior, ou alto curso, equipara-se à fase juvenil que é caracterizada por vale em “V”, fluxo torrencial, carga sedimentar pouco volumosa, mas muito grossa, pode ser encontrado na cabeceira nas áreas mais a montante caracterizada pela erosão. O curso superior do rio é sua parte mais inclinada onde o poder erosivo e de transporte de materiais é muito intenso. A força das águas escava vales em forma de V e se as rochas do terreno são muito resistentes, o rio circula por elas, formando quedas de água, gargantas ou desfiladeiros. O curso médio equivale à maturidade que é atingida com a diminuição do gradiente e com vales mais largos encontrada na porção intermediária do vale fluvial. No curso médio do rio a inclinação diminui, as águas perdem força e a sua capacidade de transporte diminui e inicia o depósitos de materiais mais pesados que já não consegue transportar, há formação de aluviões permitindo o desenvolvimento de organismos que não estão adaptados a ambientes mais lóticos. Os vales tem a forma de V aberto e na época das cheias, o rio transborda, depositando nas margens grande quantidade de aluviões. Nessas regiões formam-se grandes planícies sedimentares, onde o rio descreve amplas curvas, chamado meandros. O curso inferior do rio corresponde às zonas mais próximas de sua foz. A inclinação do terreno torna-se quase nula, há pouca erosão e quase nenhum transporte de sedimentos por carga de fundo, predominando o material fino silte-argiloso em suspensão. O curso inferior é a fase de senilidade que corresponde a amplos vales e extensas planícies de inundação e

encontram-se na desembocadura, apresentando predominância da sedimentação fina (Suguio, 2006).

**Figura 04.** Perfil longitudinal de um rio ao longo de um vale fluvial



Fonte: Suguio, 2006

A relação das ameaças-risco-desastres com a saúde é produto de diversos fatores. Uma vez ocorrido o desastre, a sua magnitude é medida com base em diversos critérios de avaliação de danos. As análises evoluíram principalmente nos critérios epidemiológicos que consideram as taxas de mortalidade, o número de feridos e afetados (OPAS, 2011). Os fenômenos naturais afetam a saúde humana de forma variável, vão desde fatores que comprometem o indivíduo como a coletividade da comunidade atingida. Quanto à questão da transmissão de doenças é demonstrado que há o risco potencial de qualquer desastre causar prejuízos à saúde.

Diversos agravos à saúde podem ser desencadeados no pós-evento de inundação, acumulam ocorrências desde traumas, estresse pós-traumático e doenças de veiculação hídricas por diversos agentes infecciosos. As doenças diarreicas constituem um grave problema de saúde pública, principalmente de países em desenvolvimento, sendo uma relevante causa de morbidade e mortalidade (CDC, 2016). Países da África, Ásia e da América Latina são os mais afetados com doenças diarreicas ocorrendo com frequência desfechos severos e até letais, principalmente, devido às precárias condições de vida e com inadequado suprimento sanitário (Croxen, 2012). As linhagens diarreio gênicas de *E. coli* são

veiculadas por água e alimentos contaminados e o ambiente inadequado pode potencializar o risco de contaminação e transmissão, especialmente em condições sanitárias desfavoráveis (Ximenes, 2012).

A gestão do risco para emergência em saúde pública é uma competência de caráter multissetorial e contínuo, que requer a articulação horizontal e transversal no âmbito do Sistema Único de Saúde, em parceria com outros atores, em especial, com órgãos de defesa civil. O Plano de Contingência para Inundação insere-se nessas ações de gestão de risco enquanto objeto para o planejamento das ações da Secretaria de Vigilância em Saúde na etapa de manejo da emergência em saúde pública (alerta e resposta) por inundação. O desenvolvimento de todas as ações relacionadas à gestão do risco permite a atuação oportuna do setor saúde no enfrentamento a essas emergências (MS, 2014).

## **2.7 Caracterização da Área do Estudo**

### **2.7.1 Área Geográfica**

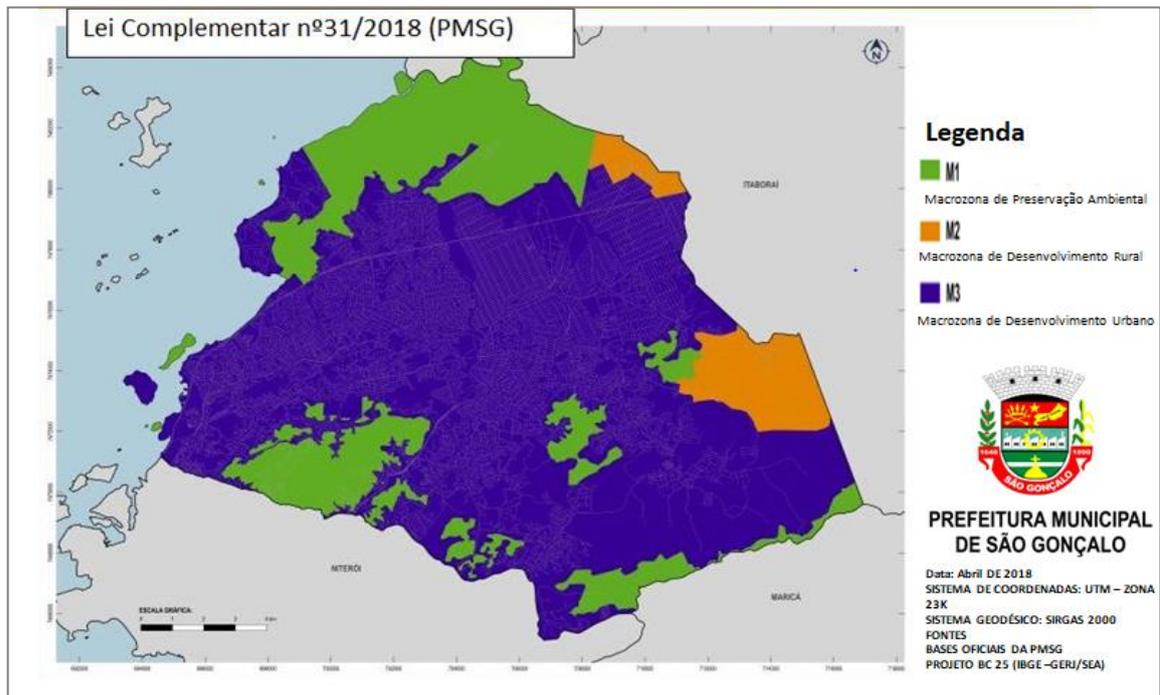
São Gonçalo faz parte da região metropolitana do Estado do Rio de Janeiro, está localizado a leste da Baía da Guanabara, faz fronteiras com municípios de Niterói, Maricá e Itaboraí. O Município está dividido em cinco distritos (Figura 05): São Gonçalo (Sede), Ipiúba, Monjolo, Neves e Sete Pontes, de acordo com dados da Prefeitura Municipal de São Gonçalo, os distritos possuem as seguintes características: o 1º Distrito (Sede) e o 4º Distrito (Neves) fazem divisa com a Baía de Guanabara. Os demais distritos fazem divisa com os municípios do entorno. O 3º Distrito (Monjolo) e parte do 2º Distrito (Ipiúba) tem divisa com o Município de Itaboraí. O 5º Distrito (Sete Pontes) e parte do 2º Distrito, Ipiúba, fazem divisa com Niterói. Os cinco distritos somam 90 bairros distribuídos conforme mostrado na Figura 5. É importante destacar que pelo município passam três importantes rodovias: BR101, RJ104, RJ106 (PMSB-SG, 2016).

Em 2018, por meio da Lei Complementar N° 031/2018 a Prefeitura Municipal de São Gonçalo fez atualizações no Plano Diretor onde ficam instituídas três Macrozonas (Preservação Ambiental, Desenvolvimento Rural Sustentável e Desenvolvimento Urbano Sustentável) integradas no Município de São Gonçalo onde apresenta o zoneamento da cidade majoritariamente urbana com pequena parcela com potencial para produção agrícola (em laranja), reafirmando o interesse para expansão imobiliária e industrial (Figura 06).

**Figura 05.** Mapa de Localização do município de São Gonçalo, Leste da Baía da Guanabara, no Estado do Rio de Janeiro, 2018.



**Figura 06.** Macrozonas do município de São Gonçalo



Fonte: PMSG, 2018

## 2.7.2 Relevo e Bacias Hidrográficas

O município de São Gonçalo apresenta população estimada de 1.077.687 pessoas (IBGE, 2010), é o segundo município com maior número de habitantes no Estado do Rio de Janeiro. Para Lúcio Serrano, as transformações ambientais da cidade foram marcadas por três fases que não são delimitadas cronologicamente que formam um *continuum* que as sobrepõe e que as leva a certa coexistência. Houve então um primeiro ciclo de desmatamento da mata Atlântica a princípio fixada no século XVI pela retirada do pau-brasil, a restinga e o mangue, o segundo seria o estabelecimento de uma unidade agrícola, de extração mineral e madeira, que compreenderia entre os séculos XVI ao XX. Nos anos pós-1940 houve um surto industrial fato descrito, mas não analisado quanto suas implicações ambientais, o terceiro período compreenderia os dias atuais com prolongamento do terceiro ciclo de destruição da vegetação primitiva de São Gonçalo, mas agora com objetivos de especulação imobiliária, principalmente de baixa renda na tentativa de reindustrialização da cidade (Santos, 2012; Serrado, 2000).

A maior parte da área do município de São Gonçalo corresponde a terrenos com altitude de até 50m, constituindo planície flúvio-marinha e colinas suaves. Os outros 40% caracterizam-se por elevações isoladas com cotas altimétricas variadas (entre 50m e 500m) colinas com encostas íngremes e morros. Nos trechos mais elevados e declinosos, concentram-se as nascentes (alto curso), que posteriormente percorrem a planície flúvio-marinha caracterizada por baixíssima declividade. Desse modo, as enxurradas formadas a partir dos morros encontram canais fluviais com declividade extremamente baixa e com intervenções antrópicas impeditivas ao escoamento normal das águas (Santos, 2012).

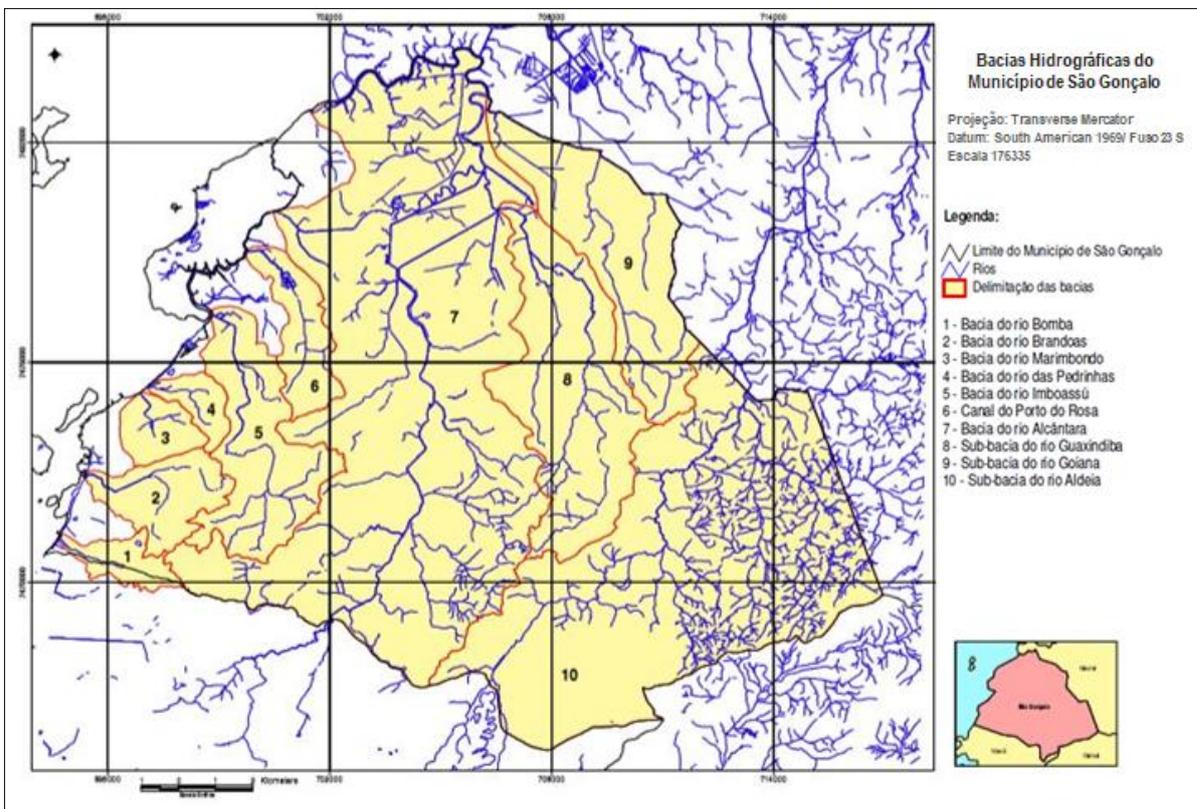
O município possui oito bacias hidrográficas e duas sub-bacias assim denominadas (Figura 07): Bacia do rio Bomba, Bacia do rio Brandoas, Bacia do Rio Marimbondo, Bacia do Rio Imboaçú, Bacia do Rio Alcântara, Sub-bacia do Rio Guaxindiba, Sub-bacia do Rio Goiana, Sub-bacia do Rio Aldeia, Canal Porto do Rosa e Bacia do Rio das Pedrinhas. Em 2005, o município de São Gonçalo produziu propostas de áreas de inundação através do Plano Municipal de Redução de Riscos (Santos, 2012). A Baía da Guanabara localizada na região metropolitana do Rio de Janeiro é o corpo hídrico receptor de diversos rios de São Gonçalo, muitos destes rios nascem em áreas mais altas do município ao sul e atravessam o município recebendo contribuintes e desaguando mais ao norte desta.

A Baía da Guanabara é um exemplo de ambiente que sofre com a contaminação de todos os tipos de poluentes provenientes dos diversos contribuintes hídricos de sua bacia

(Fonseca et al., 2014). Tais poluentes tornaram esta baía um ambiente hipereutrofizado, praticamente anóxico em diversas áreas e com grande concentração de microrganismos causadores de doenças como hepatite e gastroenterites. Apesar disto, atividades de turismo, lazer e pesca continua sendo praticadas em suas águas (Vianna et al., 2013; Souza et al., 2014).

O município de São Gonçalo e área de entorno (leste da Baía da Guanabara/RJ) frequentemente sofrem com problemas de enchentes. Esta região apresenta uma suscetibilidade natural a este problema devido à existência de amplos terrenos de baixada e rios desaguando na Baía de Guanabara, que sofre oscilações de maré até 140cm (segundo a Diretoria de Hidrografia e Navegação/DHN). Outro fator importante é o processo de ocupação desordenado e desprovido de um projeto de urbanização adequado. Os transtornos causados pelas enchentes, na maioria das vezes, atingem a população de baixa renda (Santos, 2012). Segundo o Mapa de Ameaças Múltiplas, elaborado pelo Departamento Geral de Defesa Civil (DGDEC-RJ), vinculado à Secretaria de Defesa Civil Estadual, o município tem como sua principal ameaça natural a inundação (Defesa Civil RJ, 2012).

**Figura 07.** Bacias Hidrográficas do Município de São Gonçalo



Fonte: PMSG, 2005

### 2.7.3 Indicadores Ambientais e Socioeconômicos

O IDH - São Gonçalo é 0,739, em 2010, o que situa esse município na faixa de Desenvolvimento Humano Alto (IDH entre 0,700 e 0,799). A dimensão que mais contribui para o IDH do município é Longevidade, com índice de 0,833, seguida de Renda, com índice de 0,711, e de Educação, com índice de 0,681. São Gonçalo ocupa a 795ª posição entre os 5.565 municípios brasileiros segundo o IDH. Nesse *ranking*, o maior IDH é 0,862 (São Caetano do Sul, SP) e o menor é 0,418 (Melgaço, PA). Ressalta-se que o Brasil mantém a 79ª posição no levantamento realizado pela ONU, em 2018, que é considerado um IDH alto, mas a título de comparação o líder do *ranking* é a Noruega com IDH de 0,953. O município de São Gonçalo apresenta desempenho muito baixo em indicadores que refletem as baixas condições de vida da população isoladamente. Segundo o IBGE (2010) o salário médio mensal de trabalhadores formais é de 2,1 salários mínimos, possui 34,5% da população com rendimento mensal de ½ salário (Atlas Brasil, 2019).

Segundo o Instituto Trata Brasil (2018) o município ocupa a 14ª posição das vinte piores cidades no *ranking* do saneamento em 2017, neste cenário de baixo investimento em redes de coleta e tratamento de esgoto, aglomerados populacionais acaba por utilizar os rios para despejo de águas servidas o que tem comprometido a qualidade da água destes mananciais. Neste contexto, o município de São Gonçalo reflete um preocupante cenário da desigualdade socioambiental tal como ocorre em diversas regiões brasileiras.

O Plano Municipal de Saneamento de São Gonçalo descreveu que a Rede Coletora de Esgoto e Fossa Séptica não está descrito e que apesar da elevada taxa percentual (82%) quanto à existência da coleta de esgoto, este fato por si só não atende o que preconiza o PLANSAB, pois o que se observa é que o esgotamento sanitário junto com águas pluviais se configura em disposição final inadequada dos esgotos no meio ambiente (PMSB-SG, 2016). Neste plano foi possível detectar 22.519 domicílios com ausência de abastecimento de água. Além disso, exclusivamente a partir desses dados, não é possível concluir a qualidade do abastecimento quanto à intermitência e ao racionamento.

### 3. Justificativa

São Gonçalo possui áreas densamente povoadas que apresentam condições sanitárias ainda insuficientes e inadequadas sendo que em momentos de eventos como enchentes, inundações e alagamentos, mudanças ambientais podem representar condições propícias a circulação de doenças especialmente as de veiculação hídrica.

O município de São Gonçalo apresenta áreas ambientalmente muito deficientes que podem comprometer a saúde da população local. A falta de planejamento urbano, o investimento sanitário insatisfatório e as características do relevo, com amplas áreas planas e densa rede hidrográfica, são alguns dos fatores que contribuem para uma situação potencialmente alarmante frente a ocorrências de eventos como os hidrológicos. Esse cenário é crítico e propicia à ocorrência de doenças infecciosas. As doenças de veiculação hídrica de origem bacteriana assumem um papel de relevância na Saúde Pública e tem grande impacto na morbimortalidade, principalmente, entre crianças de países em desenvolvimento. Deste modo, existe uma demanda em mapear e investigar estas áreas a fim de apontar e avaliar a vulnerabilidade da população que nelas residem podendo contribuir para o debate da emergência de garantir o acesso ao esgotamento sanitário, direito inerente à saúde ainda pendente, assim como também colaborar para desconstrução da subcultura do desastre.

Nosso estudo é fundamentado na importância da *Escherichia coli* como uma espécie bacteriana que circula amplamente em diversos hospedeiros e ecossistemas e é agente de doenças humanas diversas. A pesquisa será desenvolvida tendo como base i) o reconhecimento de ecossistemas aquáticos como reservatórios e fontes em potencial de veiculação dessa espécie bacteriana; ii) a importância de *E. coli* como indicador da qualidade sanitária e agente etiológico de patologias diversas e, iii) a inexistência de informações sobre a circulação desses microrganismos em águas superficiais de áreas de risco de inundação no município de São Gonçalo.

O estudo sobre esses microrganismos nessas águas aliado ao estudo espacial das áreas contaminadas e com potencial risco de inundação no município de São Gonçalo, possibilitará subsidiar ações específicas na área da gestão ambiental, em especial, no fortalecimento da prevenção e controle das doenças infecciosas causadas por esses microrganismos. Os resultados obtidos contribuirão ainda para as informações sobre a ecologia desses enteropatógenos contextualizando suas implicações na saúde pública do município.

## 4. Objetivos

### 4.1 Geral

Estudar a ocorrência de *E. coli* em áreas de risco de inundação no município de São Gonçalo por meio de uma abordagem laboratorial e espacial.

### 4.2 Específicos

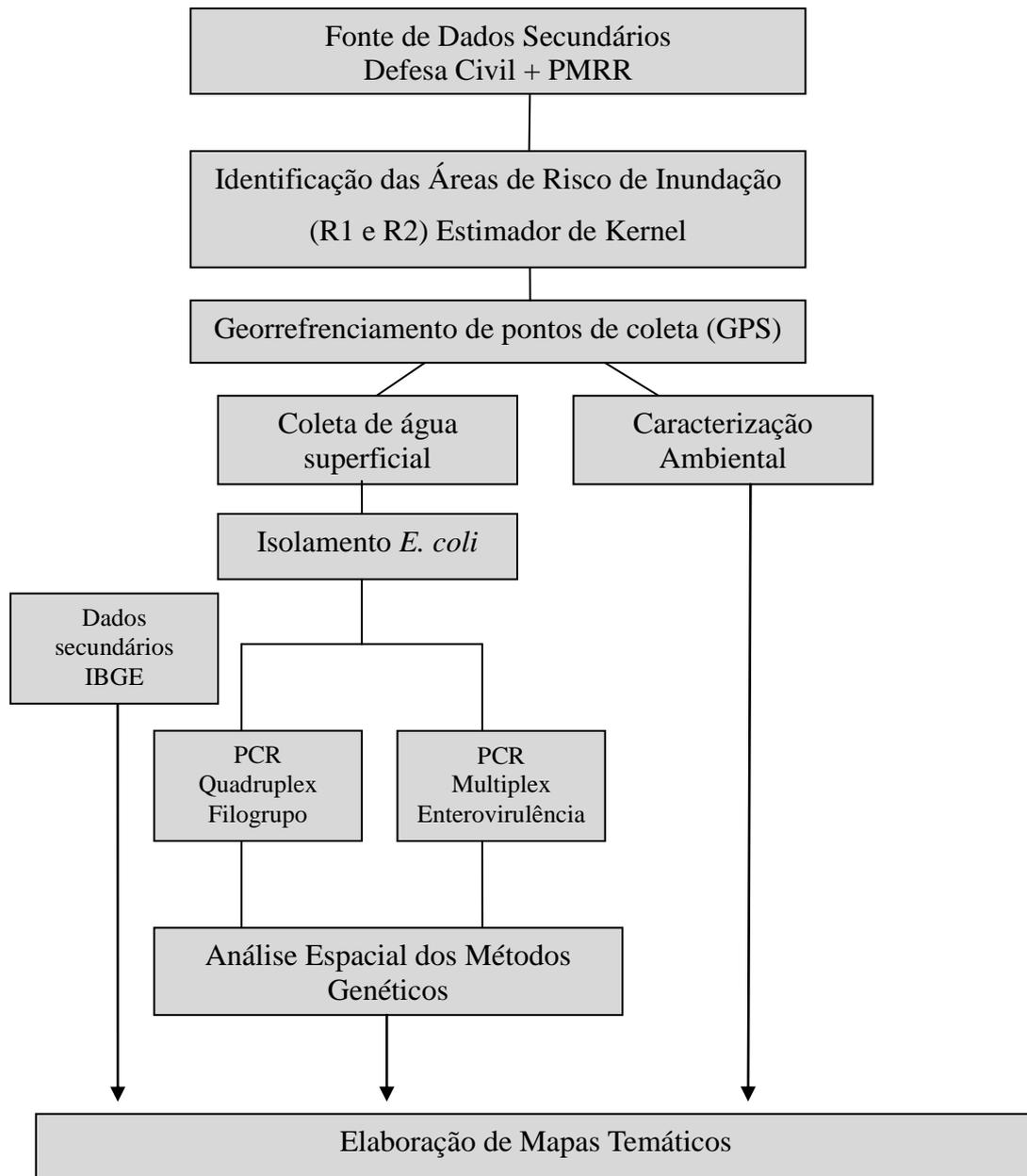
- ✓ Definir espacialmente as áreas de risco de inundação a partir de dados de ocorrências de inundações da Defesa Civil;
- ✓ Caracterizar as amostras de água superficial das áreas de risco identificadas quanto aos parâmetros ambientais dos pontos de coleta georreferenciados;
- ✓ Caracterizar os isolados de *E. coli* geneticamente quanto ao potencial diarreiogênico e grupagem filogenética;
- ✓ Analisar o padrão de distribuição espacial de isolados *E. coli* e as possíveis correlações com os parâmetros ambientais e microbiológicos investigados.

## 5. Metodologia

Trata-se de um estudo exploratório com atividades de campo, laboratoriais e análises espaciais (Figura 08) visando estudar a ocorrência de isolados de *Escherichia coli* e seu padrão de distribuição em áreas de risco de inundação no município de São Gonçalo, no Estado do Rio de Janeiro, 2017 a 2018.

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Escola Nacional de Saúde Pública/FIOCRUZ tendo em vista a necessidade de acesso de dados restritos da Defesa Civil Coordenadoria Municipal de São Gonçalo (Apêndice - Dispensa de Apreciação Ética pelo Sistema CEP-CONEP).

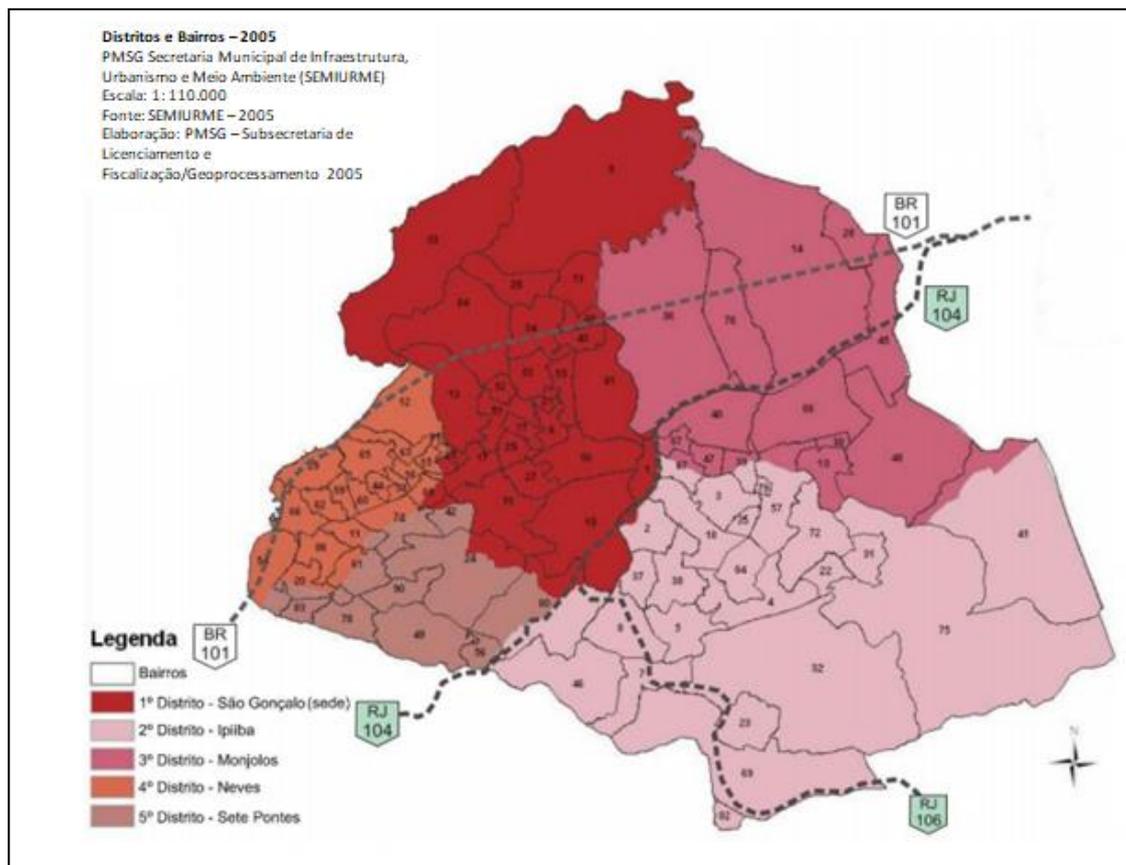
**Figura 08.** Esquema geral de caracterização realizada para amostras de *E.coli* e análises espaciais incluídas no estudo.



## 5.1 Área de Estudo

O estudo compreendeu áreas de risco de inundação localizadas em bairros do município de São Gonçalo, localizado no estado do Rio de Janeiro (Figura 09; Quadro 03). São Gonçalo possui uma área total de 248,4 km<sup>2</sup> (correspondentes a 5% da área da Região Metropolitana do Rio de Janeiro), localiza-se na região sudeste do Brasil, porção sudoeste do Estado do Rio de Janeiro, tendo como limite, a Norte e a Leste, o município de Itaboraí, a Sudeste, o município de Maricá, a Sul o município de Niterói e a Oeste a Baía de Guanabara. O município está localizado na região Metropolitana do Rio de Janeiro a leste da Baía de Guanabara, tem população estimada em 1.008.064 habitantes apresenta densidade demográfica de 4011,64 hab/km<sup>2</sup>, é o segundo município mais populoso do Estado do Rio de Janeiro (IBGE, 2010).

**Figura 09.** Mapa dos distritos e bairro do município de São Gonçalo, RJ.



Fonte: PMSG

**Quadro 03.** Bairros do Mapa Distrital com identificação dos Bairros, de São Gonçalo, RJ (Fonte: PMSG)

Item	Bairros	Item	Bairros
1	Alcântara	46	Maria Paula
2	Almerinda	47	Miriambi
3	Amendoeira	48	Monjolos
4	Anaia Grande	49	Morro do Castro
5	Anaia Pequeno	50	Mutondo
6	Antonina	51	Mutuá
7	Arrastão	52	Mutuaguaçu
8	Arsenal	53	Mutuapira
9	Barracão	54	Neves
10	Barro Vermelho	55	Nova Cidade
11	Boa Vista	56	Novo México
12	Boaçu	57	Pacheco
13	Bom Retiro	58	Parada Quarenta
14	Brasilândia	59	Paraíso
15	Camarão	60	Patronato
16	Centro	61	Pita
17	Coelho	62	Porto da Madama
18	Colubandê	63	Porto da Pedra
19	Covanca	64	Porto da Rosa
20	Cruzeiro do Sul	65	Porto Novo
21	Eliane	66	Porto Velho
22	Engenho do Roçado	67	Raul Veiga
23	Engenho Pequeno	68	Recanto das Acácias
24	Estrela do Norte	69	Rio do Ouro
25	Fazenda dos Mineiros	70	Rocha
26	Galo Branco	71	Rosane
27	Gebera	72	Sacramento
28	Gradim	73	Salgueiro
29	Guarani	74	Santa Catarina
30	Guaxindiba (bom retiro)	75	Santa Isabel
31	Ieda	76	Santa Luzia
32	Ipiiba	77	São Miguel
33	Itaóca	78	Tenente Jardim
34	Itaúna	79	Tiradentes
35	Jardim Amendoeira	80	Tribobó
36	Jardim Catarina	81	Trindade
37	Jardim Nova República	82	Várzea das Moças
38	Jockey	83	Venda da Cruz
39	Lagoinha	84	Vila Candoza
40	Laranjal	85	Vila Lage
41	Largo da Idéia	86	Vila Três
42	Lindo Parque	87	Vila Yara
43	Luiz Caçador	88	Vista Alegre
44	Mangueira	89	Zé Garoto
45	Marambaia	90	Zumbi

## 5.2 Identificação das Áreas de Risco para Coleta de Água Superficial

As áreas de risco foram definidas a partir de um banco de dados da Coordenadoria Municipal de Defesa Civil de São Gonçalo, baseado no número de chamadas da população quanto à ocorrência de eventos de inundação. Foram incluídos dados da série histórica de 1995 a 2005. As áreas com maior número de chamados foram designados de Alto Risco (R1) e as com menor número foram designadas de Baixo Risco (R2). Os pontos georreferenciados referentes às chamadas da população quanto a ocorrência de eventos de inundação foram

inseridos em ambiente SIG (Programa Quantum GIS 2.18.8) e foi utilizado o estimador de intensidade de *Kernel*.

Para o estudo foi utilizado raio de 300 metros e a função de suavização de "quártica" atribuindo maior peso aos eventos mais próximos e menor peso aos mais afastados, mas com o decréscimo gradual. Para controlar a suavização no *Kernel* foi utilizado o parâmetro largura de banda (*bandwidth*) definido a posteriori (Chiaravalloti-Neto, 2016; Carvalho & Souza-Santos, 2005; Bailey & Gatrell, 1995).

As bacias hidrográficas do município foram utilizadas para análise espacial das áreas de risco. Nos "hot spots" gerados foram identificadas áreas de maior densidade do evento de inundação, também foram utilizadas as malhas digitais das bacias hidrográficas, arruamento, topografia, limite de bairros, vegetação que serviram de base para análise na área de estudo, os quais foram manipulados em ambiente SIG, todos os mapas foram gerados por meio do Quantum GIS (QGIS) 2.18.8. Também foram utilizadas imagens oriundas do programa Google Earth para análise quanto os aspectos de ocupação e altitude das áreas de risco de inundação.

### **5.3 Atividade de Campo**

#### **5.3.1 Coleta de Água Superficial**

A metodologia de filtração por membrana foi utilizada para a coleta de água superficial visando o isolamento de *Escherichia coli*. As coletas foram realizadas em pontos localizados em áreas de risco de inundação (R1 e R2) definidas pelo geoprocessamento de dados das rotas de vistorias solicitadas pelo contribuinte à Secretaria de Meio Ambiente assim como de informações sobre as áreas de inundação do Plano Municipal de Redução de Riscos (PMRR). Os períodos de coleta eram semanais e foram obtidas amostras concomitantemente entre R1 e R2. Foram obtidas alíquotas de água superficial no período de outubro de 2017 a abril de 2018 e coletada 1 (uma) amostra por ponto georreferenciado. Foram selecionados pontos "aleatórios" dentro da área de risco de inundação para coleta do material cuja localização foi georreferenciada por aparelho de captura de GPS (Global Position Satellite) Garmin®. Um total de 30 pontos foram incluídos no estudo.

A metodologia de filtração por membrana seguiu conforme o protocolo da APHA com algumas modificações (APHA, 1995). Resumidamente, uma alíquota de 60 mL foi aspirada da camada superior da coluna d'água numa profundidade de até 30 cm com auxílio de uma

seringa estéril adaptada ao suporte de filtração, contendo membrana de acetato de celulose (Millipore®), com porosidade de 0,22 µm. O material aspirado foi filtrado para concentrar a amostra e sob refrigeração para imediato processamento em laboratório.

### 5.3.2 Caracterização Ambiental

No momento da coleta de água superficial foi realizada caracterização do ambiente e registrada na ficha de observação em campo. Os tópicos observados foram: temperatura da água, disponibilidade de infraestrutura sanitária, característica de relevo, ocupação humana em áreas com mais de 30 metros (mais afastadas), nas margens e sobre o rio. e presença de animais no peridomicílio (Anexo 2: Ficha de Observação de Campo).

## 5.4 Atividade laboratorial

### 5.4.1 Isolamento e identificação de *Escherichia coli*

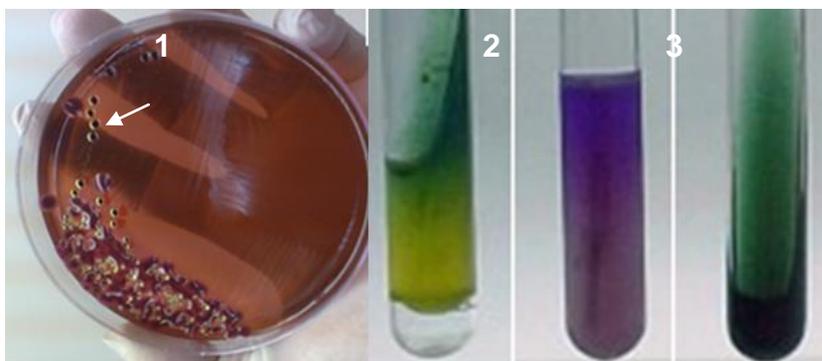
A membrana contendo o material biológico retido durante a filtração foi incubado em 20 mL de caldo de tripticaseína de soja (TSB – Difco®) por 18-24 horas a 37°C. Após o período de crescimento bacteriano, o caldo foi diluído nas proporções 1:10, 1:50 e 1:100 e em seguida com auxílio de alça de platina cada diluição foi semeada por esgotamento em agar eosina azul de metileno (*eosin methylene blue*, EMB – Difco®), visando o isolamento de *E. coli*. Após 18-24 horas a 37°C, 10 a 15 colônias bacterianas com aspecto sugestivo de *E. coli* foram selecionadas com base nas características morfofisiológicas (Figura 10).

As colônias suspeitas foram submetidas a provas bioquímicas para a identificação de gênero e espécie utilizando os meios EPM, MILI e Citrato de Simmon (PROBAC/Brasil). Para a observação da motilidade, produção de indol, lisina descarboxilase, gás, urease, ácido sulfúrico, triptofano desaminase e utilização do citrato de sódio como fonte de carbono (Koneman, 1993). O padrão bioquímico de *E. coli* esperado no meio EPM baseou-se na produção de gás em glicose (+), utilização de glicose (+), produção de sulfeto de hidrogênio (-), hidrólise de uréia (-) e desaminação do triptofano (-); no meio MILI, motilidade (variável), produção de indol (+) e descarboxilação de lisina (variável). *E. coli* não utiliza citrato no meio Citrato de Simmons (Konemam).

As amostras bacterianas identificadas como *Escherichia coli* foram estocadas a -20°C em caldo tripticaseína de soja (TSB-BBL), acrescido de glicerol a 15% (v/v) até serem

utilizadas para as análises moleculares propostas. A cada teste foram avaliados o grau de pureza e a viabilidade das células bacterianas.

**Figura 10.** Aspecto do crescimento da espécie *E.coli* no meio EMB (1) e o padrão bioquímico nos meios EPM (2), Mili (3) e Citrato de Simmons (4)



Fotografias: Cristiane dos Santos Sanfins

## 5.4.2 Caracterização Molecular

### 5.4.2.1 PCR-QUADRUPLEX: amplificação de genes específicos para a classificação de grupos filogenéticos de *Escherichia coli*

A detecção dos genes *chuA*, *yjaA*, do fragmento TSPE4.C2 e do gene *arpA* (Quadro 3) foi realizada através de ensaios de amplificação simultânea seguindo metodologia já descrita (Clermont, 2013).

#### A Extração de DNA bacteriano

Para extração do DNA as amostras foram semeadas em agar de tripticaseína de soja (TSA – Difco®) a 37°C por 18-24 horas. Após o período de crescimento, as células bacterianas foram ressuspensas em 1 mL de água Milli-Q estéril, submetida a fervura por 5 minutos e centrifugado a 14.000 RPM por cerca de 1 minuto. Os produtos da extração de DNA bacteriano foram usados como fonte de DNA para as reações de PCRs de agrupamento filogenético.

## Reação de PCR

Para a reação de PCR foi utilizado um volume final de 20µL contendo 3µL do lisado bacteriano, 2µL de tampão 10X (Invitrogen®), 20pmol/µL de cada iniciador, exceto para AceK.f (40 pmol/µL), ArpA1.r (40 pmol/µL), trpBA.f (12 pmol/µL) e trpBA.r (12 pmol/µL), 2mM de cada dNTP (Invitrogen®), 3mM de MgCl<sub>2</sub> (Invitrogen®) e 2U/µL de *Taq* DNA polimerase (Invitrogen®). A reação foi realizada em termociclador *Mastercycler Personal* (Eppendorf®) e programada para desnaturação inicial de 94°C por 4 minutos seguida de 30 ciclos de 94°C por 5 segundos e 20 s a 57°C (group E) ou 59°C (quadriplex and group C), e uma extensão final de 5 min a 72°C. Os iniciadores específicos para os filogrupos E e C foram ArpAgpE.f e ArpAgpE.r, trpAgpC.f e trpAgpC.r, respectivamente (Quadro 04). O detecção do gene *uidA* foi utilizada para confirmar a espécie. Foram utilizados os controles RM11 e 032VI oriundos da coleção do Laboratório de Epidemiologia Molecular, Departamento de Ciências Biológicas/ENSP/Fiocruz.

**Quadro 04.** Iniciadores de PCR-quadruplex para agrupamento filogenético de *E. coli* (Clermont, 2013).

Reação de PCR	Iniciadores	Alvo	Sequência do iniciador	Produto da PCR (pb)	Referência
Quadruplex	chuA. 1b	<i>chuA</i>	5'-ATGGTACCGGACGAACCAAC-3'	288	Clermont, 2013
	chuA. 2		5'-TGCCGCCAGTACCAAAGACA-3'		Clermont e colaboradores, 2000
	yjaA. 1b	<i>yjaA</i>	5'-CAAACGTGAAGTGTCAAGGAG-3'	211	Clermont, 2013
	yjaA. 2b		5'-AATGCGTTCCTCAACCTGTG-3'		Clermont, 2013
	TspE4C2.1b	TspE4.C2	5'-CACTATTTCGTAAGGTCATCC-3'	152	Clermont, 2013
	TspE4C2.2b		5'-AGTTTATCGCTGCGGGTCGC-3'		Clermont, 2013
	AceK.f	<i>arpA</i>	5'-AACGCTATTGCCAGCTTGC-3'	400	Clermont, 2013
ArpA1.r	5'-TCTCCCATAACCGTACGCTA-3'		Clermont colaboradores, 2004		
Grupo E	ArpAgpE.f	<i>arpA</i>	5'-GATTCCATCTTGTCAAAATATGCC-3'	301	Lescat e colaboradores, 2012
	ArpAgpE.r		5'-GAAAAGAAAAAGAATTCCCAAGAG-3'		
Grupo C	trpAgpC.1	<i>trpA</i>	5'-AGTTTTATGCCAGTGCAG-3'	219	Lescat e colaboradores, 2012
	trpAgpC.2		5'-TCTGCGCCGGTACGCCC-3'		

## Condições de eletroforese

Aproximadamente 10µL dos produtos resultantes de amplificação foram adicionados a 5µL do corante de ácidos nucleicos GelRed (Uniscience®) e 2 µL marcador de cor para monitorar o processo de eletroforese Blue Juice (Invitrogen®) e submetidos à eletroforese em gel de agarose na concentração 1% (p/v) (Anexo 3, item 1.5) preparado em tampão Tris-Borato-EDTA 0,5X com voltagem constante de 100V por 3 horas e 30 minutos. O gel foi

inspecionado visualmente em transiluminador de luz ultravioleta (UVITec<sup>®</sup>, Cambridge, Reino Unido) e fotografados em sistema de captura de imagem digital (UVIPro silver<sup>®</sup>, Cambridge, Reino Unido). Para estimar o tamanho dos fragmentos obtidos foi utilizado o padrão de 100pb DNA ladder (Invitrogen<sup>®</sup>). A reprodutibilidade foi avaliada observando-se a repetição do padrão eletroforético com base em diferentes reações de amplificação e de culturas do mesmo isolado.

### Classificação do agrupamento filogenético

A classificação do filogruppo considerou a amplificação dos genes investigados assim como os diferentes combinações genéticas conforme quadro (Quadro 05) a seguir:

**Quadro 05.** Genótipos Quadruplex para a definição dos filogrupos de *E. coli* conforme Clermont e colaboradores, 2013.

Genótipos de Filogrupagem				Filogruppo
<i>arpA</i> (400bp)	<i>chuA</i> (288 bp)	<i>yjaA</i> (211 bp)	TspE4.C2 (152 bp)	
+	-	-	-	A
+	-	-	+	B1
-	+	-	-	F
-	+	+	-	B2
-	+	+	+	B2
-	+	-	+	B2
+	-	+	-	A ou C
+	+	-	-	D ou E
+	+	-	+	D ou E
+	+	+	-	E ou Clado I
-	-	+	-	Clado I ou II
-	(476)*	-	-	Clado III, IV ou V
-	-	-	+	Desconhecido
-	-	+	+	Desconhecido
+	-	+	+	Desconhecido
+	+	+	+	Desconhecido
-	-	-	-	Desconhecido

#### 5.4.2.2 PCR MULTIPLEX: Amplificação de genes específicos para a classificação de *E. coli* em patotipos diarréio-gênicos

A detecção das sequências genéticas *uidA*, *escV*, *bfpB*, *stx1*, *stx2*, *elt*, *estIa*, *estIb*, *invE*, *astA*, *aggR* e *pic* foi realizada através de ensaios de amplificação simultânea conforme a metodologia descrita por Müller *et al* (2007).

##### Reação de PCR

Para a reação foi utilizado um volume final de 25µL contendo 2,5µL de tampão 10X (Invitrogen®), 0,3mM de cada dNTP (Invitrogen®), 2,1mM de MgCl<sub>2</sub> (Invitrogen®) e 2U/µL de Taq DNA polimerase (Invitrogen®), 14mM 2-mercaptoetanol (Sigma®), 0,14% Triton X-10 (Sigma®) e as concentrações dos iniciadores listadas no Quadro 5. Como fonte de DNA foi utilizada uma colônia de cada amostra proveniente de crescimento recente em agar de tripticaseína de soja (TSA-Difco®). A colônia foi ressuspensa no mix de reação e a solução foi acondicionada em gelo durante 1 minuto. A reação foi realizada em termociclador Mastercycler Personal (Eppendorf®) e programada para desnaturação inicial de 94°C por 5 minutos seguida de 30 ciclos de 94°C por 30 segundos, 63°C por 30 segundos e 72°C por 1,5 minuto seguida de uma extensão final de 72°C por 5 minutos.

##### Condições de Eletroforese

Aproximadamente 10µL dos produtos resultantes de amplificação foram adicionados a 5µL do corante de ácidos nucleicos GelRed (Uniscience®) e 2 µL marcador de cor para monitorar o processo de eletroforese Blue Juice (Invitrogen®). A eletroforese foi realizada em gel de agarose a 1.5% (p/v). O tamanho dos fragmentos foi estimado utilizando o padrão de 100pb (Invitrogen). O gel foi inspecionado visualmente em transiluminador de luz ultravioleta (UVITec®, Cambridge, Reino Unido) e fotografados em sistema de captura de imagem digital (UVIPro silver®, Cambridge, Reino Unido). Como controles de reação serão utilizadas as amostras clínicas de *E. coli* representantes dos seguintes enterotipos: 243IV (EPEC típica, *eae-bfpA*+), 36IV (ETEC – *lt*+), 245I (ETEC – *st*+), E30138 (STEC – *eae+stx2*+, E40705 (STEC – *eae+ stx1*+), 103V (EAEC *aggR*+) e 129III (EIEC *inv*+). Os critérios para a definição dos patotipos seguiram recomendações descritos por Müller *et al*, 2007 (Quadro 06) e Tokuda *et al*, 2010 para discriminação das linhagens típicas e atípicas de EAEC.

**Quadro 06.** Iniciadores utilizados para PCR-multiplex para enterovirulência de *E. coli* (Müller, 2007)

Iniciador	Sequência (5'-3')	Gene ou fragmento alvo	Tamanho do amplicon (pb)	Concentração do primer (µM)
MP3-escV-F	ATTCTGGCTCTCTTCTTTATGGCTG	<i>escV</i>	544	0.4
MP3-escV-R	CGTCCCCTTTTACAAACTTCATCGC			0.4
MP3-bfpB-F	GACACCTCATTGCTGAAGTCG	<i>bfpB</i>	910	0.1
MP3-bfpB-R	CCAGAACACCTCCGTTATGC			0.1
MP4-stx1A-F	CGATGTTACGGTTTGTACTGTGACAGC	<i>stx<sub>1</sub></i>	244	0.2
MP4-stx1A-R	AATGCCACGCTTCCCAGAAATTG			0.2
MP3-stx2A-F	GTTTTGACCATCTTCGTCTGATTATTGAG	<i>stx<sub>2</sub></i>	324	0.4
MP3-stx2A-R	AGCGTAAGGCTTCTGCTGTGAC			0.4
MP2-LT-F	GAACAGGAGGTTTCTGCGTTAGGTG	<i>elt</i>	655	0.1
MP2-LT-R	CTTCAATGGCTTTTTTTGGGAGTC			0.1
MP4-STIa-F	CCTCTTTTAGYCACACARCTGAATCASTTG	<i>estIa</i>	157	0.4
MP4-STIa-R	CAGGCAGGATTACAACAAAGTTCACAG			0.4
MP2-STI-F	TGCTTTTTACCTTTCGCTC	<i>estIb</i>	171	0.2
MP2-STI-R	CGGTACAAGCAGGATTACAACAC			0.2
MP2-invE-F	CGATAGATGGCGAGAAATTATATCCCG	<i>invE</i>	766	0.2
MP2-invE-R	CGATCAAGAATCCCTAACAGAAGAATCAC			0.2
MP2-astA-F	TGCCATCAACACAGTATATCCG	<i>astA</i>	102	0.4
MP2-astA-R	ACGGCTTTGTAGTCCTCCAT			0.4
MP2-aggr-F	ACGCAGAGTTGCCTGATAAAG	<i>aggR</i>	400	0.2
MP2-aggr-R	AATACAGAATCGTCAGCATCAGC			0.2
MP2-pic-F	AGCCGTTTCCGCAGAAGCC	<i>pic</i>	1,111	0.2
MP2-pic-R	AAATGTCAGTGAACCGACGATTGG			0.2
MP2-uidA-F	ATGCCAGTCCAGCGTTTTTTCG	<i>uidA</i>	1,487	0.2
MP2-uidA-R	AAAGTGTGGGTCAATAATCAGGAAGTG			0.2

## 5.5 MÉTODO ESTATÍSTICO:

A associação dos resultados obtidos para filogrupagem entre as áreas de risco de inundação R1 e R2 foram determinadas pelo teste Quiquadrado ( $X^2$ ) com valor de probabilidade  $p < 0,05$ .

## 5.6 Variáveis de interesse, fontes de dados para análise espacial

Para análise espacial foram utilizados dados de fontes primária e secundária. Tais dados foram adquiridos para construção de bancos para análise de georreferenciamento.

### 5.6.1 Dados primários (laboratoriais/campo)

A partir dos resultados de ensaios moleculares e da observação de campo foi construído um banco de dados em formatos de tabelas organizados na extensão *csv* para que fossem manipuladas em ambiente georreferenciado. As tabelas foram dispostas para análise com resultado bruto (total de filogrupos e total de patotipos encontrados no estudo) e tabelas com a distribuição por categoria (número de cada filogrupo e cada patotipo encontrado), a fim

de realizar processamento de mapas estruturais e analisar o padrão de distribuição nas áreas de risco de inundação definidas pelo estudo.

### 5.6.2 Dados secundários

Foram consultados Mapas do acervo da Prefeitura Municipal de São Gonçalo para análise espacial. Estes são oriundos das seguintes fontes:

Mapa das Bacias Hidrográficas do Município de São Gonçalo na escala 1:110.000 que integra o Plano Municipal de Redução de Riscos, 2005

Mapa de Bairros do Município de São Gonçalo na escala 1:110.000 que integra o Plano Diretor, 2005

Mapa dos Distritos e Bairros na escala 1:110.000 que integra o Plano Diretor, 2005

Consistiu de dados de formato tabular e geoespaciais. Das seguintes fontes:

- ✓ Banco de dados em formato tabular (EXCEL) de ocorrência de Inundação construída pela Coordenadoria Municipal de Defesa Civil de São Gonçalo, PMSG entre os anos de 1995 a 2005;
- ✓ Divisão de Bacias Hidrográficas em formato ESRI *Shapefile* oriundas da Coordenadoria Municipal de Defesa Civil de São Gonçalo, PMSG.

Também foram utilizados dados oriundos das informações do Censo 2010 do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) em formato *Shapefile* e em formato de tabela que foram organizados na extensão *xls*. Esse banco foi separado por bairro (unidade territorial de análise). Seguem as variáveis adotadas para os indicadores analisados:

#### **Proporção de Domicílios Servidos por Rede de Abastecimento de Água:**

V012 (planilha Domicilio01\_UF/domicílios particulares permanentes com abastecimento de água da rede geral) / V02 (planilha Domicilio01\_UF/domicílios particulares permanentes) x 100

**Proporção de Domicílios Servidos por esgotamento sanitário via rede geral de esgoto ou pluvial:**

V017 (planilha Domicilio01\_UF/domicílios particulares permanentes com banheiro de uso exclusivo dos moradores ou sanitário e esgotamento sanitário via rede geral de esgoto ou pluvial)/V02 (planilha Domicilio01\_UF/domicílios particulares permanentes) x 100

**Densidade Populacional:**

V002 (Pessoa13\_UF/pessoas residentes em domicílios particulares permanentes)/área km<sup>2</sup>

**5.6.2.1 Alocação de Mapas Temáticos**

Os mapas foram gerados em ambiente georreferenciado por meio dos programas Quantum GIS 2.18.8 e Google Earth. A manipulação dos dados consistiu na padronização das escalas do mapeamento, sistema de referência e coordenadas. O sistema de referência e coordenadas utilizados foram SIRGASS2000 UTM.

Foram confeccionados Mapas Temáticos com os dados laboratoriais: com o total de filogrupos e patotipos assim como com cada filogrupo e patotipo separadamente. Dados obtidos da observação de animais no peridomicílio também foram utilizados. Nestes mapas foram utilizados arquivos vetoriais formato ESRI *Shapefile* para que fossem observadas a distribuição espacial nas áreas de risco de inundação definidas pelo estudo:

- ✓ Divisão de Bacias Hidrográficas em formato ESRI *Shapefile* oriundas da Coordenadoria Municipal de Defesa Civil de São Gonçalo, PMSG;
- ✓ Hidrografia do Município de São Gonçalo em formato ESRI *Shapefile* oriundas da Coordenadoria Municipal de Defesa Civil de São Gonçalo, PMSG
- ✓ Divisão dos municípios do Rio de Janeiro em formato ESRI *Shapefile* oriundas da Coordenadoria Municipal de Defesa Civil de São Gonçalo, PMSG.

Mapas Temáticos foram confeccionados com os indicadores de Proporção de domicílios ligados à rede de abastecimento de água, Proporção de domicílios servidos por Esgotamento Sanitário via rede geral de esgoto ou pluvial e Densidade Populacional oriundos de variáveis do Censo 2010 do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística).

Nestes mapas foram utilizados arquivos vetoriais formato ESRI *Shapefile* para que fossem observadas a distribuição espacial nas áreas de risco de inundação definidas pelo

estudo, a unidade de divisão utilizada foram os bairros. Estes mapas foram sobrepostos com os dados encontrados nos mapas de símbolos proporcionais descritos acima (item 6.5.3.1).

### **5.6.2.2 Perfil de Elevação do Terreno e Longitudinal do Rio Alcântara**

Para verificar a distribuição espacial dos isolados bacterianos em relação à elevação do terreno e o perfil longitudinal ao longo do rio foram utilizadas a ferramenta de PERFIL DE ELEVAÇÃO do Programa *Google Earth* e o mapeamento proposto por Damasco (2014).

O perfil de elevação é uma forma de representação gráfica do terreno e muito utilizado, seu principal objetivo é auxiliar as análises das formas do relevo, sua morfometria e sua interpretação. A ferramenta foi utilizada para traçar linhas e mostrar o perfil de elevação. O *Google Earth* utiliza-se de imagens SRTM (Shuttle Radar Topography Mission ) da NASA para representar o relevo.

## **6. Resultados**

Os resultados foram parcialmente apresentados no Evento Científico IV Simpósio e 5º Workshop em Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Doenças Bacterianas e Fúngicas, realizado nos dias 22 e 23 de novembro de 2018, no auditório do Museu da Vida, no *campus* da Fiocruz, no Rio de Janeiro. “Virulent *Escherichia coli* in surface water of specialized flood areas in the municipality of São Gonçalo”. Autoria: Cristiane dos Santos Sanfins, Adriana Hamond Regua Mangia, Andréa Sobral de Almeida.

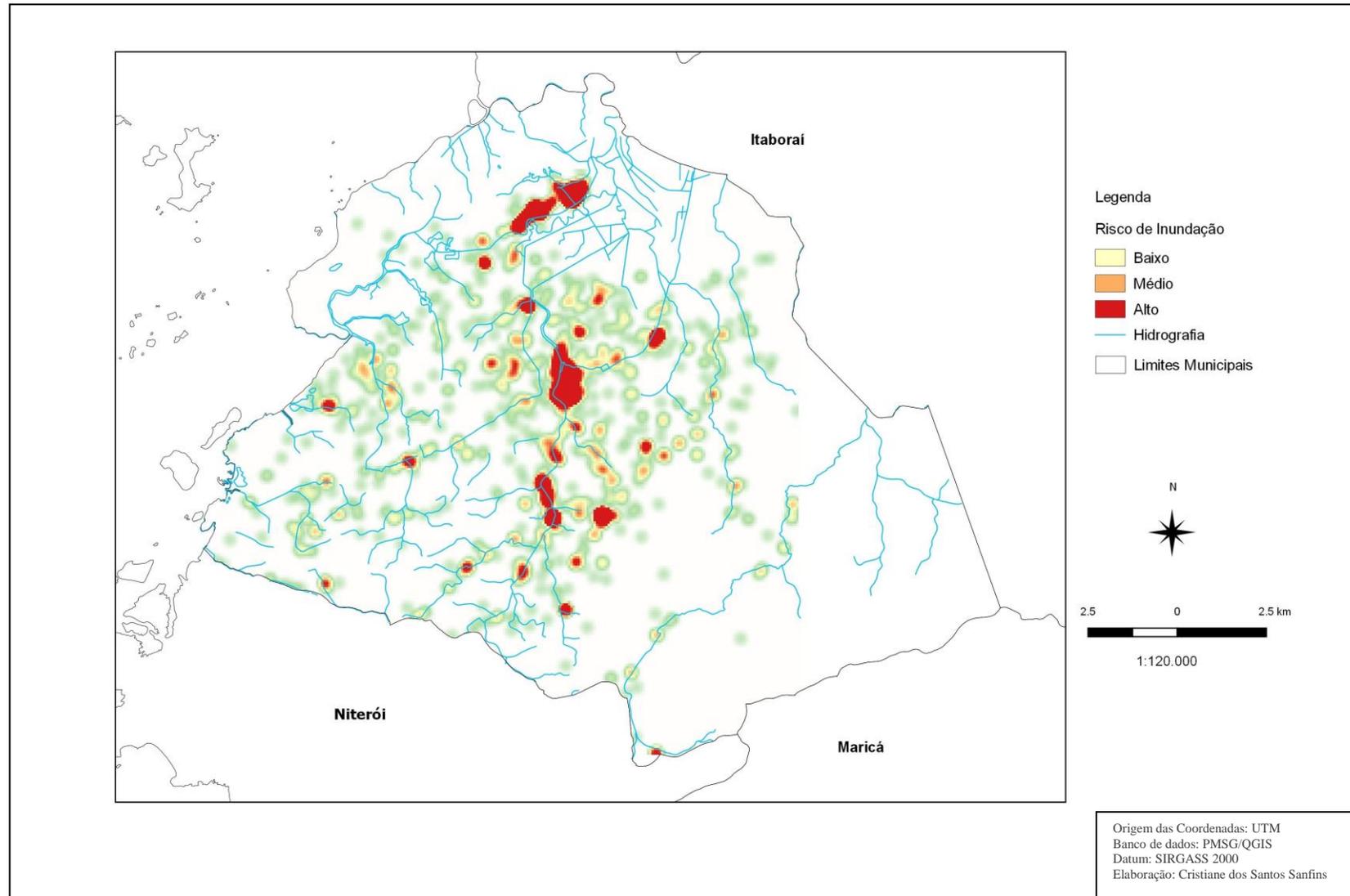
### **6.1 Identificação espacial de áreas de risco de inundação a partir de dados secundários**

No período analisado foi observada uma distribuição espacial de ocorrências de inundação em toda extensão territorial do município evidenciadas no mapa de Kernel (Figura 11). As áreas com maior densidade de pontos quentes e mais extensas foram observadas concentradas na região central do município, numa direção de norte a sul.

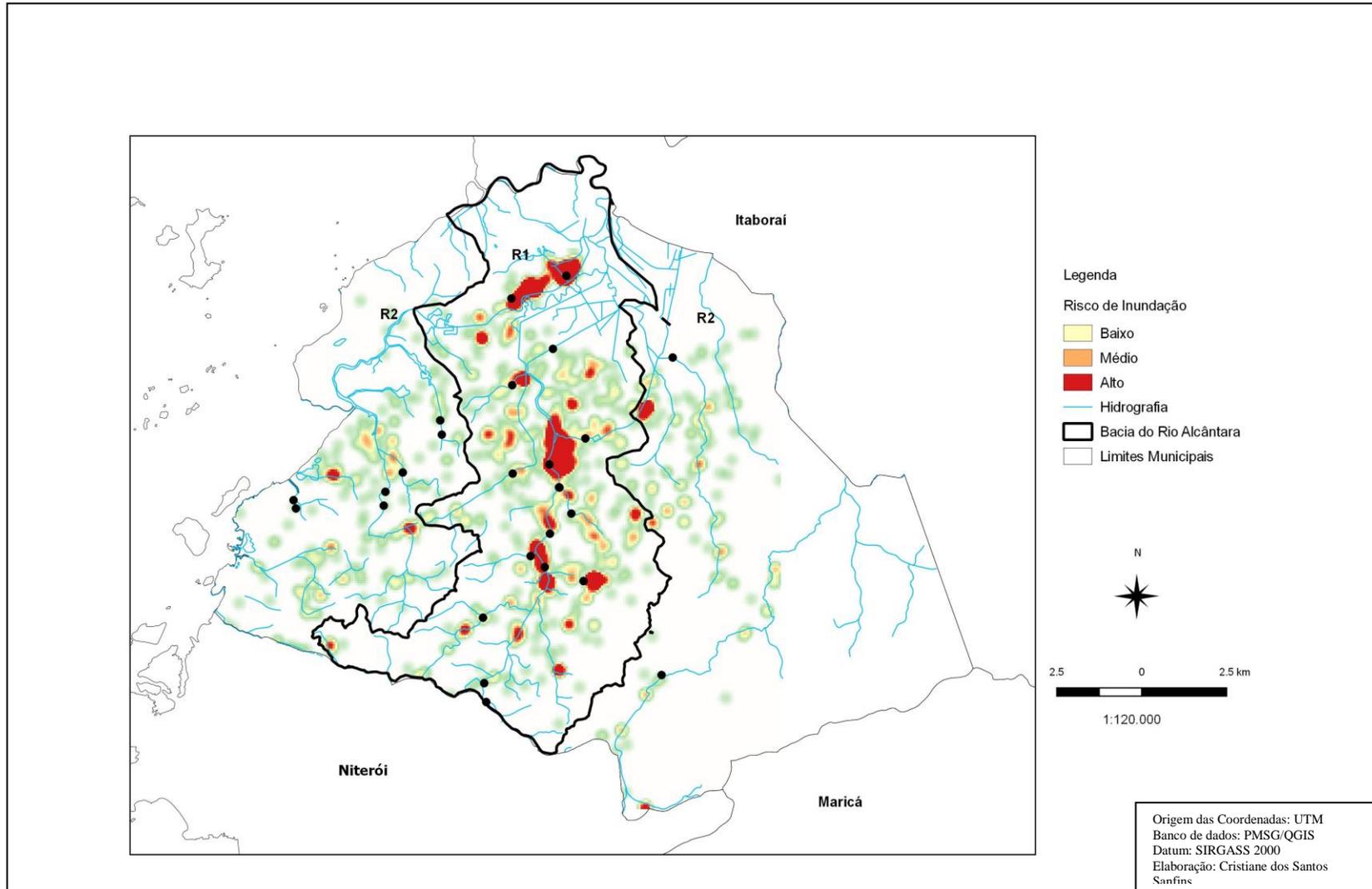
Analisando espacialmente com os dados vetoriais dos limites das bacias hidrográficas do município (PMRR/PMSG, 2005) verificou-se que pontos quentes são predominantes na área correspondente a bacia hidrográfica do Rio Alcântara (Figura 12). As demais bacias hidrográficas dos rios que percorrem o município (Rio Bomba, Rio Bradoas, Rio Marimbondo, Pedrinhas, Imboassú, Porto do Rosa, Sub-bacia do Guaxindiba, Goiania e Aldeia) apresentaram menor densidade de pontos quentes.

As bacias hidrográficas foram utilizadas como unidade para análise de eventos de inundação assim como os dados secundários espaciais de forma que foram identificadas categorizadas em duas áreas de risco de inundação: Risco Alto (R1), correspondente a área da a bacia hidrográfica do Rio Alcântara como limite e Risco Baixo (R2), para as demais áreas das bacias hidrográficas situadas no município. Foi verificado que os pontos de ocorrência de inundação estão associados com a presença de córregos e rios em áreas mais planas das bacias hidrográficas supracitadas e correspondem a áreas densamente urbanizadas.

**Figura 11.** Densidade de *Kernel* dos chamados de ocorrência de inundação, município de São Gonçalo (Defesa Civil 1995-2005), RJ.



**Figura 12.** Mapa das áreas de risco de inundação (R1: Risco Alto e R2: Risco Baixo) definidas quanto à densidade de *Kernel* e seus respectivos pontos de coleta de água superficial, São Gonçalo, RJ.



## **6.2 Coleta de água superficial nas áreas de risco de inundação (R1 e R2), isolamento e identificação de *Escherichia coli***

Foram realizadas coletas de água superficial em 30 pontos selecionados aleatoriamente dentro das áreas de risco de inundação definidas para o estudo (Item 7.1). As coletas foram realizadas nos período de outubro de 2017 a abril de 2018, nas Áreas de Alto Risco de Inundação R1 (N= 21) abrangendo os bairros Colubandê, Jardim Catarina, Bom Retiro, Tribobó, Coelho, Alcântara, Maria Paula, Mutondo, Jóquei, Luiz Caçador e Palmeiras, assim como nas Áreas de Baixo Risco de Inundação R2 (N=09) abrangendo os bairros Mutuaguaçú, Paraíso, Gradim, Brasilândia, Boaçú, Venda da Cruz, Ipiíba.

Foram obtidos 167 isolados bacterianos de *E. coli* sendo 116 provenientes das Áreas de Risco de Inundação R1 e 51 amostras em R2. Em quatro pontos de coleta não foi possível isolamento de *E. coli*, sendo que 3 pontos estavam na área de risco de inundação R1 e 1 ponto, na área R2. Nos Gráficos 1 e 2 verificou-se que os pontos em R1 obtiveram mais isolados da espécie bacteriana comparada a área R2 (Tabela 01). Entretanto em média foram obtidos 6 isolados de *E. coli* por ponto de coleta para ambas as áreas de risco de inundação (Gráficos 01 e 02).

## **6.3 Características dos parâmetros ambientais dos pontos georreferenciados**

A partir da ficha de observação de campo (Anexo 02), foi realizada a caracterização ambiental para cada ponto de coleta de água superficial, o que permitiu constatar que as áreas dos pontos de coleta apresentam intensa degradação ambiental (Tabela 02; Figuras 13 a 15).

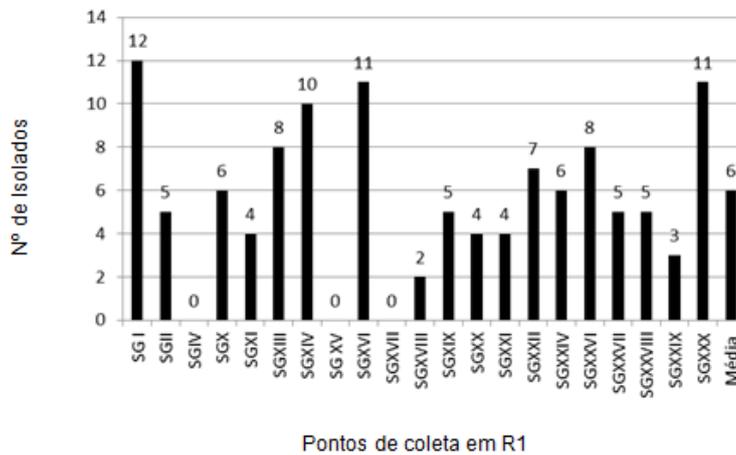
Foi observado que as diversas habitações fazem conexão direta de canos para despejo dos seus efluentes sanitários domésticos nos córregos (R1 e R2 = 100%). Também foi registrada a presença de descarte de resíduos sólidos em diversos pontos de coletas (R1=94,8; R2=100%). Também foi observado o descarte de lixo em grande parte dos pontos de coleta, os quais estavam depositados junto às margens e também dentro da calha dos córregos e rios.

Foi observado que os pontos de amostragem de água superficial estão em áreas de relevo plano, algumas estavam localizadas logo após suaves declives. Foi verificado que havia vegetação de manguezal muito próximo a alguns pontos de coleta, muito embora as características destes ecossistemas tenham sido intensamente modificadas devido a aterros e desmatamentos.

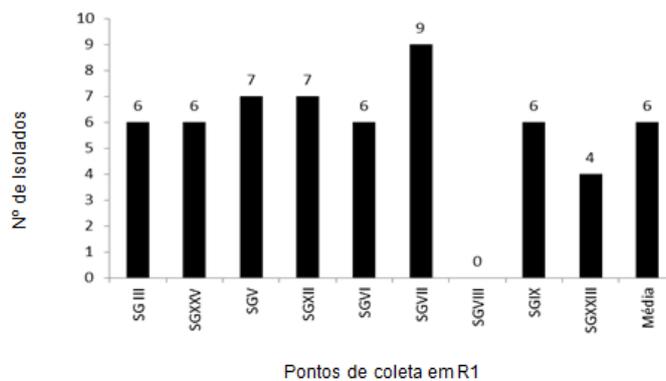
**Tabela 01.** Total de isolados de *Escherichia coli* por área de risco, bacia hidrográfica e bairro correspondentes, São Gonçalo, RJ.

Risco	Bacia Hidrográfica	Bairro	ID	<i>E. Coli</i> (n=167)
<b>R1</b> (n=21)	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	SG I (1001 a 1012)	12
		Jardim Catarina	SGII (1001 a 1005).	05
		Colubandê	SGIV (00)	00
		Bom Retiro	SGX (1000 a 1006)	06
		Jardim Catarina	SGXI (1000 a 1004)	04
		Tribobó	SGXIII (1001 a 1008)	08
		Colubandê	SGXIV (1001 a 1010)	10
		Colubandê	SG XV (00)	00
		Coelho	SGXVI (1001 a 1011)	11
		Alcântara	SGXVII (00)	00
		Maria Paula	SGXVIII (1001 a 1002)	02
		Maria Paula	SGXIX (1001 a 1005)	05
		Alcântara	SGXX (1001 a 1004)	04
		Alcântara	SGXXI (1001 a 1004)	04
		Mutondo	SGXXII (1001 a 1007)	07
		Jardim Catarina	SGXXIV (1001 a 1006)	06
		Jóquei	SGXXVI (1001 a 1008)	08
		Luiz Caçador	SGXXVII (1001 a 1005)	05
		Palmeiras	SGXXVIII (1001 a 1005)	05
		Palmeiras	SGXXIX (1001 a 1003)	03
Colubandê	SGXXX (1001 a 1011)	11		
<b>Total : 116</b>				
<b>R2</b> (n=9)	Bacia Porto do Rosa	Mutuaguaçú	SG III (1001 a 1006)	06
		Mutuaguaçú	SGXXV (1001 a 1006)	06
	Bacia Marimbondo	Paraíso	SGV (1001 a 1007)	07
		Gradim	SGXII (1001 a 1007)	07
	Bacia Imboaçú	Brasilândia	SGVI (1001 a 1006)	06
		Boaçú	SGVII (1001 a 1009)	09
	Bacia Bomba	Venda da Cruz	SGVIII (00)	00
	Bacia Pedrinhas	Brasilândia	SGIX (1001 a 1006)	06
	Bacia Aldeia	Ipiíba	SGXXIII (1001 a 1004)	04
	<b>Total : 51</b>			

**Gráfico 01.** Isolados de *Escherichia coli* obtidos por ponto de coleta para área de risco de inundação R1, São Gonçalo, RJ



**Gráfico 02.** Isolados de *Escherichia coli* obtidos por ponto de coleta para área de risco de inundação R2, São Gonçalo, RJ



A degradação das margens dos rios como o desmatamento da mata ciliar contribui para erosão levando ao assoreamento que ocasiona diminuição do fluxo hídrico. Nos pontos em que foram coletadas amostras de água superficial foi verificado que as habitações ocupam tanto áreas mais afastadas do rio quanto as margens destes o que causou intensa descaracterização do canal fluvial. Também foi observado que em diversos pontos os rios foram manilhados e edificações foram construídas sobre o leito do rio nestes locais. Observou-se pouca ou total ausência de vegetação que compõe a mata ciliar assim como também foram visualizados depósitos de sedimento em diversos pontos coletados (Figuras 13 a 15).

Considerando a importância de animais como reconhecidos reservatórios de linhagens patogênicas de *E. coli*, a caracterização ambiental incluiu também a observação quanto a sua presença no peridomicílio. Foi observada a presença em diversos pontos de coletas animais dispersos, tanto os de pequeno porte (domésticos) como cães e gatos, assim como bovinos, equinos e suínos. A temperatura média da água registrada foi de 28,4°C (Tabela 02).

**Tabela 02.** Parâmetros ambientais e isolados de *Escherichia coli*, São Gonçalo, RJ.

Parâmetros Ambientais	Isolados Bacterianos por Área de Risco (N/%)			
	R1 (n=21)		R2(n=9)	
Parâmetros ambientais	N	%	N	%
<b>Serviços de Infraestrutura Sanitária</b>				
Esgoto doméstico despejado no ambiente	21	100	9	100
Descarte irregular de lixo no ambiente	19	94,8	10	100
<b>Caracterização do Relevo</b>				
Encosta	0		0	
Planície	21	100	9	100
Manguezal	4	20	1	11
<b>Ocupação Humana</b>				
Próximo ao rio (< 30 m)	18	90	9	100
Longe do rio	21	100	9	100
Sobre o rio	15	67	9	100
<b>Presença de Animais no Peridomicílio</b>				
Boi	3	15	1	5
Cavalo	1	5	0	
Gato	1	5	0	
Cão	2	10	0	
Porco	3	15	0	
Temperatura média (°C)	28°C		28°C	

**Figura 13.** Área R2 - Rio Imboassú (esquerda) e Rio Marimbondo (direita), São Gonçalo, RJ



(Fotografias: Cristiane dos Santos Sanfins)

**Figura 14.** Área R1- Rio Alcântara (esquerda) e Rio Guaxindiba (direita), São Gonçalo, RJ



(Fotografias: Cristiane dos Santos Sanfins)

**Figura 15.** Áreas R2 e R1 – Rio das Pedrinhas (esquerda) e Rio Colubanbê (direita), São Gonçalo, RJ



(Fotografias: Cristiane dos Santos Sanfins)

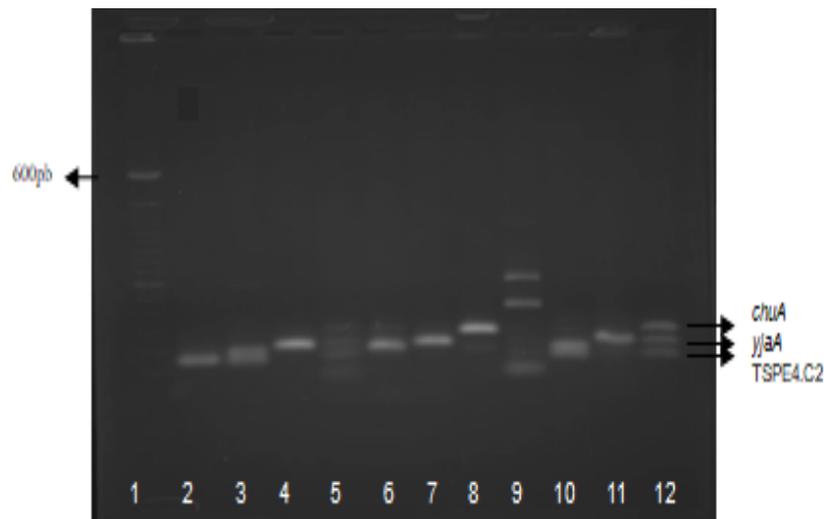
## 6.4 Caracterização genética das amostras bacterianas

### 6.4.1 PCR-QUADRUPLEX para classificação do agrupamento filogenético

Os resultados da filogrupagem demonstram que todos os isolados de *E. coli* analisados neste estudo foram categorizados nos grupos descritos pela metodologia PCR-quadruplex (Clermont, 2013). Os isolados de *E. coli* foram caracterizados majoritariamente no grupo A (44%, 74/167) seguindo pelos grupos B1 (40%, 66/167), B2 (11%, 19/167) e em menor proporção os grupos C (0,6%, 1/167), D (1%, 2/167), E (1%, 2/167) e F (2%, 4/167).

A filogrupagem detectou diferentes perfis genéticos com base nas diferentes combinações dos genes *arpA*, *chuA*, *yjaA*, do fragmento de DNA TSPE4.C2, *trpAgpC.1* e *ArpAgpE.f*. O filogrupo A (N= 74)apresentou 3 genótipos diferentes (A<sub>1</sub> - - - - -, A<sub>2</sub> + - + - - -, A<sub>3</sub> - - + - - -) representando 4% (3/74), 11% (8/74) e 85% (63/74) respectivamente. O filogrupo B1 com 5 filotipos (B1<sub>1</sub> - - + - - -, B1<sub>2</sub> + - - + - -, B1<sub>3</sub> + - + + - -, B1<sub>4</sub> - - - + - -, B1<sub>5</sub> - - + + - -) e as proporções de 1,5% (1/66), 3% (2/66), 5% (3/66), 24% (16/66) e 67% (44/66) respectivamente. O maior número de combinações foi encontrado no filogrupo B2 com 6 genótipos, (B2<sub>1</sub> + + + + - -, B2<sub>2</sub> + + + - - -, B2<sub>3</sub> - - + + - -, B2<sub>4</sub> - - - + - -, B2<sub>5</sub> + + + - -, B2<sub>6</sub> + + - - -), representando 5% (1/19) para os genótipos B2<sub>1</sub>, B2<sub>2</sub>, B2<sub>3</sub>, B2<sub>4</sub>, 37% (7/19) para B2<sub>5</sub> e 43% (8/19) para os genótipos B2<sub>6</sub>, o filogrupo F apresentou 2 filotipos (F<sub>1</sub> + + - - - +, F<sub>2</sub> - + - - - +) com as proporções de 25% (1/4) e 75% (3/4). Para os demais filogrupos foram encontrados um único genótipo sendo C (+ - + - + -), D (- + - - - -) e E (+ + - - + -), com as proporções referentes ao total de amostras 0,6% (1/1), 1% (2/2) e 0,6% (1/1) respectivamente ( Figura 16, Tabela 03).

**Figura 16.** Perfis eletroforéticos dos agrupamentos filogenéticos de *E.coli*, São Gonçalo, RJ.



Colunas: (1) padrão de peso molecular 100pb; (2) XXI1001 (B1: *arpA* -; *chuA* -; *yja* -; TSPE4.C2 +); (3) XXI1004 (B1: *arpA* -; *chuA* -; *yja* -; TSPE4.C2 +); (4) XIV1003 (A: *arpA* -; *chuA* -; *yja* +; TSPE4.C2 -); (5) III1004 (B2: *arpA* -; *chuA* +, *yja* +, TSPE4.C2 +); (6) XXIX1001 (A: *arpA* -; *chuA* -; *yja* +; TSPE4.C2 -); (7) XXVII1008 (A: *arpA* -; *chuA* -; *yja* +; TSPE4.C2 -); (8) XXVII1002 (D: *arpA* -; *chuA* +; *yja* -; TSPE4.C2 -) (9) XXII1005 (A: *arpA* -; *chuA* -; *yja* -; TSPE4.C2 -); (10) II008 (B1: *arpA* -; *chuA* -; *yja* -; TSPE4.C2 +); (11) V1001 (A: *arpA* -; *chuA* -; *yja* +; TSPE4.C2 -) e (12) VII1009 (B2: *arpA* -; *chuA* +; *yja* +; TSPE4.C2 +).

**Tabela 03.** Perfil filogenético dos isolados de *Escherichia coli*, São Gonçalo, RJ.

Filogrupo	Filotipo					Total de isolados/Filogrupo N (%)
	<i>arpA</i>	<i>chuA</i>	<i>yjaA</i>	TspE4.C2	<i>trpA(C)</i> <i>arpA(E)</i>	
<b>A</b>	A <sub>1</sub>	-----		(3/74, 4%)		74 (44%)
	A <sub>2</sub>	++-----		(8/74, 11%)		
	A <sub>3</sub>	--+----		(63/74, 85%)		
<b>B1</b>	B1 <sub>1</sub>	--+----		(1/66, 1,5%)		66 (40%)
	B1 <sub>2</sub>	++++--		(2/66, 3%)		
	B1 <sub>3</sub>	+++-+		(3/66, 5%)		
	B1 <sub>4</sub>	---+-		(44/66, 67%)		
	B1 <sub>5</sub>	--+--		(16/66, 24%)		
<b>B2</b>	B2 <sub>1</sub>	++++--		(1/19, 5%)		19 (11%)
	B2 <sub>2</sub>	++++--		(1/19, 5%)		
	B2 <sub>3</sub>	--+--		(1/19, 5%)		
	B2 <sub>4</sub>	---+-		(1/19, 5%)		
	B2 <sub>5</sub>	-++++-		(7/19, 37%)		
	B2 <sub>6</sub>	-++--		(8/19, 43%)		
<b>C</b>		+++-+		(1/1, 100%)		01 (0,6%)
<b>D</b>		-+-----		(2/2, 100%)		02 (1%)
<b>E</b>		+++-+		(1/1, 100%)		01 (0,6%)
<b>F</b>	F <sub>1</sub>	+++++		(1/4, 25%)		04 (2%)
	F <sub>2</sub>	-+++++		(3/4, 75%)		
<b>Total</b>						167 (100%)

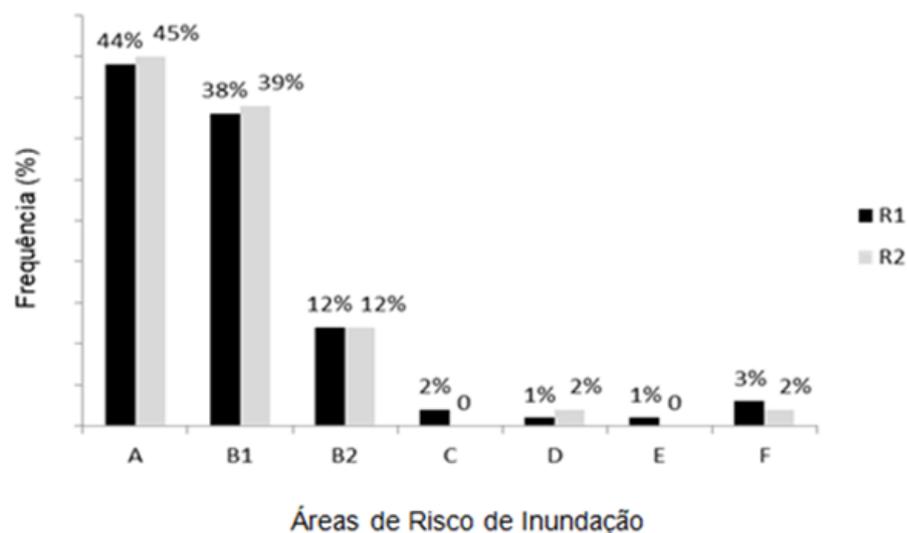
#### 6.4.1.1 Filogrupagem por área de coleta

O Gráfico 03 e a Tabela 04 apresentam a distribuição dos filogrupos encontrados nos bairros e bacias hidrográficas que compõe as áreas de risco de inundação. Os filogrupos A, B1 e B2 apresentaram os maiores percentuais nas duas áreas de riscos (R1: A= 44%, B1= 38%, B2= 12% e R2: A= 45%, B1= 39%, B2= 12%). Os filogrupos A e B1 estiveram presentes em todos os bairros que compõe a área de risco de inundação R1.

Os bairros Colubandê (R1) e Mutuaguaçu (R2) possuem os maiores números absolutos de isolados de *E.coli*, entretanto foram encontrados os filogrupos A, B1 e B2. Foi verificada presença de todos os filogrupos na área de risco de inundação R1, porém em R2 não foram detectados os filogrupos C e E. Os filogrupos D e F foram os menos frequentes, sendo o filogrupo D (1%, 2/167) detectado em ambas as áreas de risco e, o filogrupo F (2%, 4/167) detectado apenas em R1.

Considerando a distribuição dos filogrupos conforme bacia hidrográfica, os isolados obtidos da bacia do Rio Alcântara corresponderam ao maior percentual (70%, 116/167) enquanto nas bacias hidrográficas da área de Risco R2, a frequência foi menor, com percentuais variando de 2% (4/167) no Rio Guaxindiba a 7% (12/167) na bacia Porto do Rosa (Tabela 04).

**Gráfico 03.** Grupos filogenéticos das amostras de *Escherichia coli* por área de risco de inundação, São Gonçalo, RJ.



**Tabela 04** . Distribuição dos filogrupos de *Escherichia coli* conforme área de uso de inundação, bacia hidrográfica e bairro, São Gonçalo, RJ.

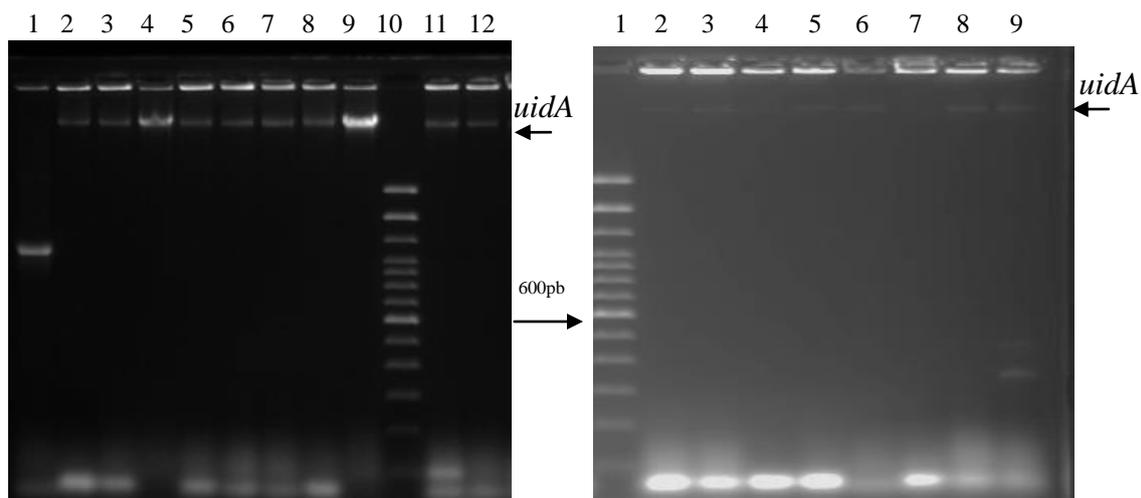
Área de Risco de Inundação	Bacia Hidrográfica	Bairro	A (N)	B1 (N)	B2 (N)	C (N)	D (N)	E (N)	F (N)	Isolados por bairro N (%)
R1	Rio Alcântara	Alcântara	4	4	0	0	0	0	0	8/167 (5%)
		Bom Retiro	2	2	1	0	0	1	0	6/167 (4%)
		Colubandê	16	13	4	0	0	0	0	33/167 (28%)
		Coelho	6	3	1	0	0	0	1	11/167 (10%)
		Jardim Catarina	3	7	3	1	0	0	1	15/167 (9%)
		Jóquei	3	4	1	0	0	0	0	8/167 (5%)
		Maria Paula	4	1	0	1	0	0	1	7/167 (4%)
		Mutondo	5	2	0	0	0	0	0	7/167 (4%)
		Palmeiras	4	1	3	0	0	0	0	8/167 (5%)
		Luiz Caçador	2	2	0	0	1	0	0	5/167 (3%)
		Tribobó	2	6	0	0	0	0	0	8/167 (4%)
Total de Isolados R1			51/116 (44%)	45/116 (38%)	13/116 (12%)	2/116 (2%)	1/116 (1%)	1/116 (1%)	3/116 (3%)	116/167 (70%)
R2	Rio Imboaçú	Boaçú	0	8	1	0	0	0	0	9/167 (5%)
	Rio Imboaçú	Brasilândia	5	6	0	0	0	0	1	12/167 (4%)
	Rio Marimbondo	Gradim	4	1	2	0	0	0	0	7/167 (4%)
	Rio Marimbondo	Paraíso	5	0	2	0	0	0	0	7/167 (5%)
	Rio Guaxindiba	Ipiíba	3	0	0	0	1	0	0	4/167 (2%)
	Porto do Rosa	Mutuaguaçú	6	5	1	0	0	0	0	12/167 (7%)
	Rio Bomba	Venda da Cruz	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total de Isolados R2			23/51 (45%)	20/51 (39%)	6/51 (12%)	0	1/51 (2%)	0	1/51 (3%)
Total de Isolados			74 (44%)	65 (40%)	19 (11%)	02 (1%)	02 (1%)	01 (0,6%)	04 (2%)	167, 100%

#### 6.4.2 PCR-MULTIPLEX para enterovirulência de *Escherichia coli*

Os ensaios moleculares detectaram genes de enterovirulência em 24% (40/167) dos isolados de *E. coli* (Figura 17). Nove genótipos de enterovirulência (I a IX) permitiram caracterizar os isolados nos seguintes patotipos: 01/40 STEC (*stx2/astA*), 01/40 STEC/tEAEC (*stx2 e aggR*), 01/40 ETEC (*estla/astA*), 01/40 aEPEC/tEAEC (*escV/aggR/astA*), 02/40 tEAEC (*aggR/astA/pic e aggR*) e 34/40 aEAEC (*astA/pic, astA e pic*) (Tabela 05). Segundo a metodologia adotada (Müller, 2007) para que a amostra seja considerada pertencente ao patotipo EAEC, esta deveria ser positiva para carreadora do gene *aggR* ou para uma combinação de pelo menos dois dos três marcadores deste patotipo (*aggR, astA e pic*). A metodologia descrita por Tokuda (2010) foi utilizada para discriminar tEAEC com a presença do gene *aggR* e aEAEC sem a presença do gene *aggR*.

Com relação ao total de isolados de *E. coli* pesquisados neste estudo, o gene de enterovirulência *astA* foi o mais prevalente com proporção de 22% (37/167) seguido de *aggR* e *pic* com 2% (4/167) apresentando predominância de genes que caracterizam o patotipo EAEC (típico e atípico). Os genes *stx2, escV e estla* apresentam proporções minoritárias de 1% (1/167) para cada. O marcador genético *uidA* esteve presente em 100% das amostras nos ensaios pilotos e confirmadas nas repetições necessárias (n=167) (Gráfico 04).

**Figura 17.** Perfis eletroforéticos obtidos a partir da amplificação simultânea dos genes de enterovirulência de *E.coli*.

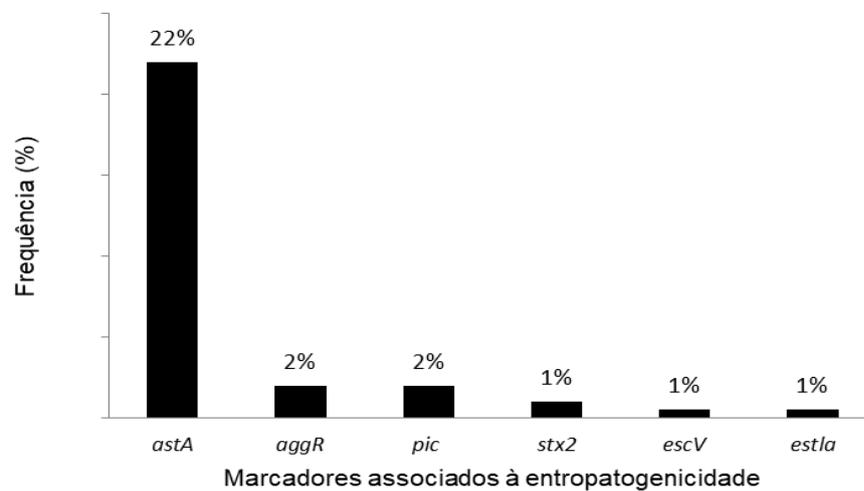


Legenda: Gel nº1 (direita) (1) SGI1001 (*pic*+), (11) SGXVII1001 (*astA*+); Gel nº2 (esquerda) (9) SGXIV1002 (*aggR* +, *stx2*+).

**Tabela 05.** Perfis genéticos de enterovirulência em isolados de *E.coli*, São Gonçalo, RJ

Perfil de Virulência	Marcadores genéticos de enterovirulência	Patotipo	Grupo filogenético (N)	Número total de amostras (N=40)
I	<i>astA</i>	aEAEC	A (15), B1 (13), B2 (1) e D (1)	31 (78%)
II	<i>astA/pic</i>	aEAEC	A (2)	2 (5%)
III	<i>pic</i>	aEAEC	A (2)	1 (3%)
IV	<i>aggR</i>	tEAEC	A (1)	1 (3%)
V	<i>aggR/astA/pic</i>	tEAEC	A (1)	1 (3%)
VI	<i>escV/aggR/astA</i>	aEPEC/tEAEC	A (1)	1 (3%)
VII	<i>estla/astA</i>	EPEC	A (1)	1 (3%)
VIII	<i>stx2/astA</i>	STEC/aEAEC	B1 (1)	1 (3%)
IX	<i>stx2/aggR</i>	STEC/tEAEC	A (1)	1 (3%)

Legenda: aEAEC (atypical enteroagregative *Escherichia coli*), tEAEC (typical enteroagregative *Escherichia coli*), aEPEC (atípical enteropathogenic *Escherichia coli*), EPEC (enterotoxigenic *Escherichia coli*), STEC (Shiga Toxin-producing *Escherichia coli*)

**Gráfico 04.** Proporção dos marcadores genéticos de enterovirulência presentes no total de isolados de *Escherichia coli*, São Gonçalo, RJ.

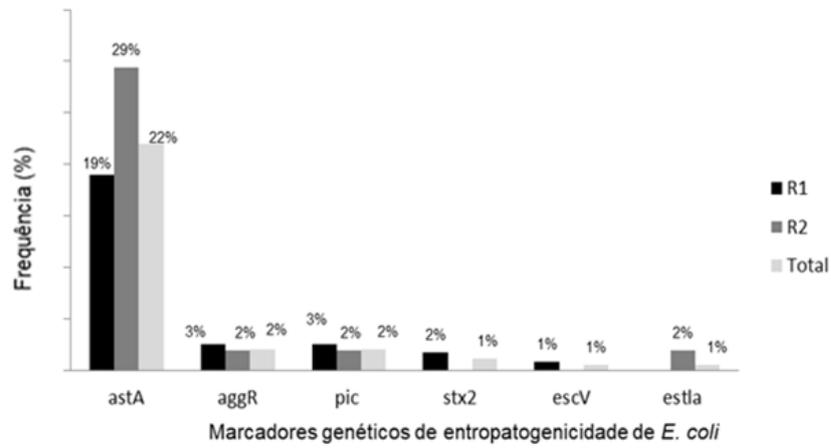
#### 6.4.2.1 Enterovirulência de *Escherichia coli* por área de coleta

Na área de Risco de Inundação R1 21% (N=24/116) dos isolados foram carreadores de marcadores de enterovirulência (Tabela 06). Na proporção dos genes que foram detectados por área conforme total de isolados em R1 (Gráfico 05) verificamos que o gene *astA* foi o mais frequente com 19% (22/116) seguido dos genes *aggR* e *pic* com 3% (3/116), os genes *stx2* (2%, 2/116) e *escV* (1%, 1/116) foram detectados apenas nesta área de risco de inundação. Dos nove perfis de enterovirulência encontrados, R1 teve representação de sete perfis, sendo que foi possível categorizar 20 isolados como pertencentes ao patotipo EAEC atípica (*astA*, *astA/pic* e *pic*), 01 EAEC típica (*aggR/astA*), 01 STEC/tEAEC (*stx2/aggR*), 01 STEC (*stx2/astA*) e (01) EPEC atípica/EAEC típica (*escV/aggR*). Todos os onze bairros que compõem a Área de Risco de Inundação R1 apresentaram isolados carreadores de genes de enterovirulência de *E. coli*. Os bairros com maiores percentuais de isolados foram Colubandê (7%, 11/167) e Coelho (3%, 5/167). O bairro Colubandê apresentou maior diversidade de perfis de enterovirulência (4) (Tabela 06).

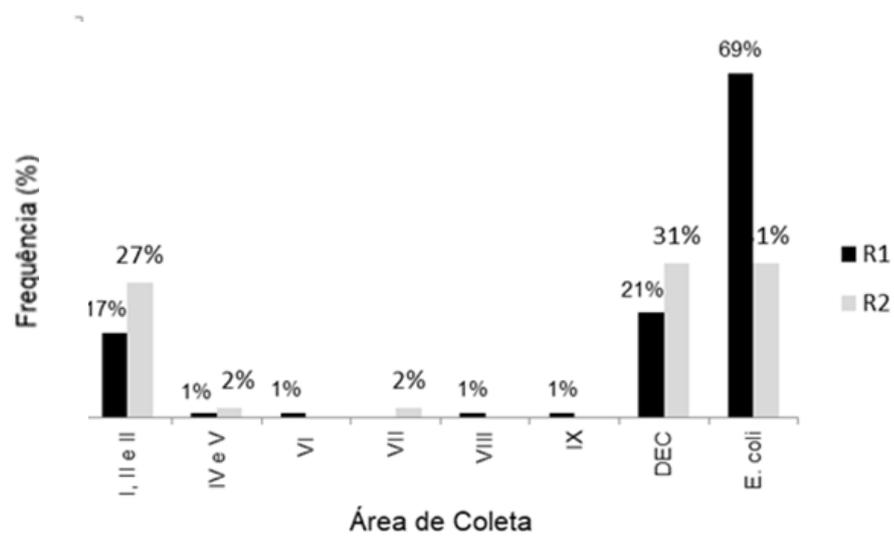
Na Área de Risco de Inundação R2 foi obtida uma proporção maior de isolados carreadores genes de enterovirulência, apresentando proporção de 31% (16/51). O gene mais *astA* foi o mais frequente (29%, 15/51) e o genes *aggR* e *pic* acompanham as proporções de 2% (1/51) cada, o gene *estla* foi detectado apenas nesta área de risco de inundação (2%, 1/51). A área apresentou quatro perfis de enterovirulência e 14 isolados representam o patotipo EAEC atípica (*astA*) (27%, 1/51), 01 EAEC típica (*aggR*) (2%, 1/51) e 01 ETEC (*estla/astA*) (2%, 1/51). Na Área de Risco de Inundação R2 isolados de *E. coli* carreadoras de genes de enterovirulência foram mais frequentes nos bairros Mutuaguaçu (3,5%, 6/167) e Gradim (2,3%, 4/167). Os bairros Gradim, Ipiúba e Mutuaguaçu apresentaram o maior diversidade de perfis de enterovirulência (03) (Tabela 07).

No Gráfico 06 foram comparadas as proporções de *E. coli* diarreiogênicas (DEC) encontradas nas Áreas de Risco de Inundação R1 e R2. Neste foi verificado que embora tenha sido obtido maior número de isolados de *E. coli* nas Áreas de Risco de Inundação R1, a área R2 apresentou maior percentual de isolados com potencial de virulência e maior diversidade de perfis de enterovirulência quando comparada a R1 (Gráfico 06). Os perfis de enterovirulência I e II foram compartilhados em ambas as áreas de risco de inundação.

**Gráfico 05.** Proporção dos genes nas amostras de *Escherichia coli* segundo a Área de Risco de Inundação, município de São Gonçalo, RJ.



**Gráfico 06.** Proporção de perfis de virulência nas amostras de *Escherichia coli* quanto a Área de Risco de Inundação.



**Tabela 06.** Distribuição de marcadores genéticos de enterovirulência investigados nas amostras de *Escherichia coli* por área de coleta

Área de Risco de Inundação	<i>astA</i>	<i>astA</i> <i>pic</i>	<i>pic</i>	<i>aggR</i>	<i>aggR</i> <i>astA</i> <i>pic</i>	<i>aggR</i> <i>astA</i> <i>escV</i>	<i>estla</i> <i>astA</i>	<i>stx2</i> <i>astA</i>	<i>stx2</i> <i>aggR</i>	Patotipo	Total por Área Risco
<b>R1</b>	18 /116 (16%)	1/116 (1%)	1/116 (1%)	0	1/116 (1%)	1/116 (1%)	0	1/116 (1%)	1/116 (1%)	aEAEC 20/116 (17%) tEAEC 1/116 (1%) STEC 1/116 (1%) STEC/tEAEC 1/116 (1%) aEPEC/tEAEC 1/116 (1%)	24/116 (21%)
<b>R2</b>	13/51 (25%)	1/51 (2%)	0	1/51 (1%)	0	0	1/51 (1%)	0	0	aEAEC 14/51 (27%) tEAEC 1/51 (2%) ETEC 1/51 (2%)	16/51 (31%)
<b>Total</b>	31/40 (78%)	2 (5%)	1 (3%)	1 (3%)	1 (3%)	1 (3%)	1 (3%)	1 (3%)	1 (3%)	-	40
	31 (19%)	2 (1%)	1 (0,6%)	1 (0,6%)	1 (0,6%)	1 (0,6%)	1 (0,6%)	1 (0,6%)	1 (0,6%)	40/167 (24%)	167

**Tabela 07.** Distribuição de marcadores genéticos de enterovirulência investigados nas amostras de *Escherichia coli* por área de coleta

Área de Risco de Inundação	Bacia Hidrográfica	Bairro	aEAEC (N)	tEAEC (N)	STEC tEAEC (N)	STEC (N)	ETEC (N)	EPEC tEAEC (N)	Isolados com Enterovirulência por Bairro/ Total de <i>E. coli</i> N (%)	Isolados por Bairro/ Total de <i>E. coli</i> por bairro N (%)	Perfil Enterovirulência
R1	Rio Alcântara	Alcântara	1	0	0	0	0	0	1 /167(1%)	1/8 (13%)	I (01)
		Colubandê	8	1	1	1	0	0	11/167(7%)	11/33(33%)	I (08), II (01), III (01) e V (01)
		Jardim Catarina	1	0	0	0	0	0	1/167(1%)	2/15(13%)	I (01) e VI (01)
		Maria Paula	1	0	0	0	0	0	1/167(1%)	1/7 (14%)	I (01)
		Palmeiras	1	0	0	0	0	0	1/167(1%)	1/8 (13%)	I (01)
		Tribobó	3	0	0	0	0	0	3/167(2%)	3/8 (38%)	I (03)
		Coelho	5	0	0	0	0	0	5/167(3%)	5/11 (45%)	I (05)
	Total R1		20	1	1	1	0	1	24/167 (14%)	24/90 (%)	24
R2	Rio Imboçu	Boaçú	1	0	0	0	0	0	1/167(1%)	1/9 (11%)	I (01)
		Brasilândia	1	0	0	0	0	0	1/167(1%)	1/12 (8%)	I (01)
	Rio Marimbondo	Gradim	3	1	0	0	0	0	4/167(2,3%)	4/7 (57%)	I (03) e IV (01)
		Paraíso	1	0	0	0	0	0	1/167(1%)	1/7 (14%)	I (01)
	Rio Guaxindiba	Ipífa	3	0	0	0	0	0	3/167 (2%)	3/4 (75%)	I (02) e II (01)
	Porto do Rosa	Mutuaguaçú	5	0	0	0	1	0	6/167 (3,5%)	6/12 (50%)	I (05) e VII (01)
	Total R2		14	1	0	0	1	0	16/167 (10%)	16/51 (31%)	16

**Tabela 08.:** Características gerais dos isolados de *Escherichia coli* incluídos no estudo, São Gonçalo, RJ.

ID Laboratório	Risco	Data da coleta	Local de coleta	Bairro	<i>arpA</i>	<i>chuA</i>	<i>yjaA</i>	TspE4_C2	<i>trpAgpC.1(A/C)</i>	<i>ArpAgpE</i>	Filogrupo	Genes enterovirulência detectados	Patotipo
SG I 1001	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	pos	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, pic</i>	EAECa
SG I 1002	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SG I 1003	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	pos	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SG I 1004	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, pic, astA</i>	EAECa
SG I 1005	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SG I 1006	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SG I 1007	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SG I 1008	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SG I 1009	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	pos	pos	pos	neg	neg	neg	B2	<i>uidA</i>	
SG I 1010	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGI1011	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	pos	neg	pos	neg	neg	neg	C	<i>uidA</i>	
SGI1012	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, pic, aggR, astA</i>	EAECt
SGII1001	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Jardim Catarina	neg	neg	neg	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGII1002	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Jardim Catarina	neg	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGII1003	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Jardim Catarina	neg	pos	pos	pos	neg	neg	B2	<i>uidA</i>	
SGII1004	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Jardim Catarina	neg	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGII1005	R1	19_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Jardim Catarina	neg	pos	pos	pos	neg	neg	B2	<i>uidA</i>	
SGIII1001	R2	24_10_2017	Bacia Porto do Rosa	Mutuaguaçu	neg	neg	pos	neg	pos	neg	C	<i>uidA</i>	
SG III1002	R2	24_10_2017	Bacia Porto do Rosa	Mutuaguaçu	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGIII1003	R2	24_10_2018	Bacia Porto do Rosa	Mutuaguaçu	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, pos, astA</i>	ETEC
SGIII1004	R2	24_10_2019	Bacia Porto do Rosa	Mutuaguaçu	neg	pos	pos	pos	neg	neg	B2	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGIII1005	R2	24_10_2020	Bacia Porto do Rosa	Mutuaguaçu	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGIII1006	R2	24_10_2021	Bacia Porto do Rosa	Mutuaguaçu	neg	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGIV	R1	07_11_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SGV1001	R2	07_11_2017	Bacia do Rio Marimbondo	Paraíso	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	

Continuação...

ID Laboratório	Risco	Data da coleta	Local de coleta	Bairro	<i>arpA</i>	<i>chuA</i>	<i>yjaA</i>	TspE4_C2	<i>trpAgpC.1(A/C)</i>	<i>ArpAgpE</i>	Filogrupo	Genes enterovirulência detectados	Patotipo
SGV1002	R2	07_11_2018	Bacia do Rio Maribondo	Paraíso	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGV1003	R2	07_11_2018	Bacia do Rio Maribondo	Paraíso	neg	pos	pos	neg	neg	neg	B2	<i>uidA</i>	
SGV1004	R2	07_11_2018	Bacia do Rio Maribondo	Paraíso	neg	pos	pos	neg	neg	neg	B2	<i>uidA</i>	
SGV1005	R2	07_11_2018	Bacia do Rio Maribondo	Paraíso	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGV1006	R2	07_11_2018	Bacia do Rio Maribondo	Paraíso	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGV1007	R2	07_11_2018	Bacia do Rio Maribondo	Paraíso	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGVII001	R2	28_11_2017	Bacia do Rio Imboaçú	Brasilândia	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGVII002	R2	28_11_2017	Bacia do Rio Imboaçú	Brasilândia	neg	neg	pos	neg	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGVII003	R2	28_11_2017	Bacia do Rio Imboaçú	Brasilândia	neg	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGVII004	R2	28_11_2017	Bacia do Rio Imboaçú	Brasilândia	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGVII005	R2	28_11_2017	Bacia do Rio Imboaçú	Brasilândia	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGVII006	R2	28_11_2017	Bacia do Rio Imboaçú	Brasilândia	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGVII001	R2	28_11_2017	Bacia do Rio Imboaçú	Boaçú	neg	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGVII002	R2	28_11_2017	Bacia do Rio Imboaçú	Boaçú	neg	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGVII003	R2	28_11_2017	Bacia do Rio Imboaçú	Boaçú	neg	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGVII004	R2	28_11_2017	Bacia do Rio Imboaçú	Boaçú	neg	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGVII005	R2	28_11_2017	Bacia do Rio Imboaçú	Boaçú	neg	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGVII006	R2	28_11_2017	Bacia do Rio Imboaçú	Boaçú	neg	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGVII007	R2	28_11_2017	Bacia do Rio Imboaçú	Boaçú	neg	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGVII008	R2	28_11_2017	Bacia do Rio Imboaçú	Boaçú	neg	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGVII009	R2	28_11_2017	Bacia do Rio Imboaçú	Boaçú	neg	pos	pos	neg	neg	neg	B2	<i>uidA</i>	
SGVIII	R2	28_11_2017	Bacia do Rio Bomba	Venda da Cruz	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SGIX1001	R2	09_01_2018	Bacia do Rio Imboaçú	Brasilândia	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGIX1002	R2	09_01_2018	Bacia do Rio Imboaçú	Brasilândia	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGIX1003	R2	09_01_2018	Bacia do Rio Imboaçú	Brasilândia	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGIX1004	R2	09_01_2018	Bacia do Rio Imboaçú	Brasilândia	neg	pos	neg	neg	neg	neg	F	<i>uidA</i>	

Continuação...

ID Laboratório	Risco	Data da coleta	Local de coleta	Bairro	<i>arpA</i>	<i>chuA</i>	<i>yjaA</i>	TspE4_C2	<i>trpAgpC.1(A/C)</i>	<i>ArpAgpE</i>	Filogrupo	Genes enterovirulência detectados	Patotipo
SGIX1005	R2	09_01_2018	Bacia do Rio Imboaçú	Brasilândia	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGIX1006	R2	09_01_2018	Bacia do Rio Imboaçú	Brasilândia	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGX1001	R1	09_01_2018	Bacia do Rio Alcântara	Bom Retiro	neg	pos	pos	pos	neg	neg	B2	<i>uidA</i>	
SGX1002	R1	09_01_2018	Bacia do Rio Alcântara	Bom Retiro	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGX1003	R1	09_01_2018	Bacia do Rio Alcântara	Bom Retiro	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGX1004	R1	09_01_2018	Bacia do Rio Alcântara	Bom Retiro	pos	pos	neg	pos	neg	pos	E	<i>uidA</i>	
SGX1005	R1	09_01_2018	Bacia do Rio Alcântara	Bom Retiro	neg	neg	neg	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGX1006	R1	09_01_2018	Bacia do Rio Alcântara	Bom Retiro	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXII1001	R1	09_01_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jardim Catarina	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXII1002	R1	09_01_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jardim Catarina	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXII1003	R1	09_01_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jardim Catarina	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA, escV, aggR, astA</i>	EAECt
SGXII1004	R1	09_01_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jardim Catarina	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, astA</i>	aEAEC
SGXII1001	R2	09_01_2018	Bacia do Rio Marimbondo	Gradim	neg	pos	pos	pos	neg	neg	B2	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXII1002	R2	09_01_2018	Bacia do Rio Marimbondo	Gradim	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, aggR</i>	EAECt
SGXII1003	R2	09_01_2018	Bacia do Rio Marimbondo	Gradim	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXII1004	R2	09_01_2018	Bacia do Rio Marimbondo	Gradim	neg	pos	pos	neg	neg	neg	B2	<i>uidA</i>	
SGXII1005	R2	09_01_2018	Bacia do Rio Marimbondo	Gradim	neg	neg	neg	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXII1006	R2	09_01_2018	Bacia do Rio Marimbondo	Gradim	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXII1007	R2	09_01_2018	Bacia do Rio Marimbondo	Gradim	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXIII1001	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Tribobó	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXIII1002	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Tribobó	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXIII1003	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Tribobó	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXIII1004	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Tribobó	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXIII1005	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Tribobó	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXIII1006	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Tribobó	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXIII1007	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Tribobó	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	

Continuação...

ID Laboratório	Risco	Data da coleta	Local de coleta	Bairro	<i>arpA</i>	<i>chuA</i>	<i>yjaA</i>	TspE4_C2	<i>trpAgpC.1(A/C)</i>	<i>ArpAgpE</i>	Filogrupo	Genes enterovirulência detectados	Patotipo
SGXIII1008	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Tribobó	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXIV1001	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXIV1002	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA, aggR, stx2</i>	EAECT_STEC
SGXIV1003	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXIV1004	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXIV1005	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXIV1006	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXIV1007	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXIV1008	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXIV1009	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXIV1010	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SG XV	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SGXVI1001	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Coelho	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXVI1002	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Coelho	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXVI1003	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Coelho	pos	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXVI1004	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Coelho	pos	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXVI1005	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Coelho	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B2	<i>uidA</i>	
SGXVI1006	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Coelho	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXVI1007	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Coelho	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXVI1008	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Coelho	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA, astA</i>	
SGXVI1009	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Coelho	pos	pos	neg	neg	neg	pos	F	<i>uidA</i>	
SGXVI1010	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Coelho	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXVI1011	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Coelho	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXVII	R1	12_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Alcântara	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SGXVIII1001	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Maria Paula	neg	pos	neg	neg	neg	pos	F	<i>uidA</i>	
SGXVIII1002	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Maria Paula	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	

Continuação...

ID Laboratório	Risco	Data da coleta	Local de coleta	Bairro	<i>arpA</i>	<i>chuA</i>	<i>yjaA</i>	TspE4_C2	<i>trpAgpC.1(A/C)</i>	<i>ArpAgpE</i>	Filogrupo	Genes enterovirulência detectados	Patotipo
SGXIX1001	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Maria Paula	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXIX1002	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Maria Paula	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXIX1003	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Maria Paula	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXIX1004	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Maria Paula	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXIX1005	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Maria Paula	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXX1001	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Alcântara	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXX1002	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Alcântara	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXX1003	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Alcântara	pos	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXX1004	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Alcântara	pos	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXXI1001	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Alcântara	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXI1002	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Alcântara	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXI1003	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Alcântara	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXI1004	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Alcântara	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXII1001	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Mutondo	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXII1002	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Mutondo	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXII1003	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Mutondo	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXII1004	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Mutondo	pos	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXII1005	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Mutondo	pos	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXII1006	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Mutondo	pos	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXII1007	R1	20_03_2018	Bacia do Rio Alcântara	Mutondo	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXIII1001	R2	02_04_2018	Bacia do Rio Aldeia	Ipiúba	neg	pos	neg	neg	neg	neg	D	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXXIII1002	R2	02_04_2018	Bacia do Rio Aldeia	Ipiúba	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXIII1003	R2	02_04_2018	Bacia do Rio Aldeia	Ipiúba	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXXIII1004	R2	02_04_2018	Bacia do Rio Aldeia	Ipiúba	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, pic, astA</i>	EAECa
SGXXIV1001	R1	02_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jardim Catarina	neg	pos	neg	neg	neg	pos	F	<i>uidA</i>	
SGXXIV1002	R1	02_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jardim Catarina	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	

Continuação...

ID Laboratório	Risco	Data da coleta	Local de coleta	Bairro	<i>arpA</i>	<i>chuA</i>	<i>yjaA</i>	TspE4_C2	<i>trpAgpC.1(A/C)</i>	<i>ArpAgpE</i>	Filogrupo	Genes enterovirulência detectados	Patotipo
SGXXIV1003	R1	02_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jardim Catarina	pos	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXIV1004	R1	02_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jardim Catarina	pos	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXIV1005	R1	02_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jardim Catarina	neg	pos	pos	pos	neg	neg	B2	<i>uidA</i>	
SGXXIV1006	R1	02_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jardim Catarina	pos	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXV1001	R2	02_04_2018	Bacia Porto do Rosa	Mutuaguaçu	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXXV1002	R2	02_04_2018	Bacia Porto do Rosa	Mutuaguaçu	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXV1003	R2	02_04_2018	Bacia Porto do Rosa	Mutuaguaçu	pos	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXV1004	R2	02_04_2018	Bacia Porto do Rosa	Mutuaguaçu	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXXV1005	R2	02_04_2018	Bacia Porto do Rosa	Mutuaguaçu	neg	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXV1006	R2	02_04_2018	Bacia Porto do Rosa	Mutuaguaçu	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXVI1001	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jóquei	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXVI1002	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jóquei	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXVI1003	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jóquei	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXVI1004	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jóquei	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXVI1005	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jóquei	neg	pos	pos	neg	neg	neg	B2	<i>uidA</i>	
SGXXVI1006	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jóquei	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXVI1007	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jóquei	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXVI1008	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Jóquei	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXVII1001	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Luiz Caçador	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXVII1002	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Luiz Caçador	neg	pos	neg	neg	neg	neg	D	<i>uidA</i>	
SGXXVII1003	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Luiz Caçador	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXVII1004	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Luiz Caçador	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXVII1005	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Luiz Caçador	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXVIII1001	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Palmeiras	pos	pos	pos	pos	neg	neg	B2	<i>uidA</i>	
SGXXVIII1002	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Palmeiras	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXVIII1003	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Palmeiras	neg	pos	pos	neg	neg	neg	B2	<i>uidA</i>	

Continuação...

ID Laboratório	Risco	Data da coleta	Local de coleta	Bairro	<i>arpA</i>	<i>chuA</i>	<i>yjaA</i>	TspE4_C2	<i>trpAgpC.1(A/C)</i>	<i>ArpAgpE</i>	Filogrupo	Genes enterovirulência detectados	Patotipo
SGXXVIII1004	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Palmeiras	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXVIII1005	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Palmeiras	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXIX1001	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Palmeiras	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXIX1002	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Palmeiras	neg	neg	neg	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXIX1003	R1	17_04_2018	Bacia do Rio Alcântara	Palmeiras	neg	pos	pos	neg	neg	neg	B2	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXXX1001	R1	24_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA</i>	
SGXXX1002	R1	24_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXX1003	R1	24_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXX1004	R1	24_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	pos	pos	pos	neg	neg	B2	<i>uidA</i>	
SGXXX1005	R1	24_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	pos	pos	pos	neg	neg	B2	<i>uidA</i>	
SGXXX1006	R1	24_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	pos	neg	neg	B1	<i>uidA</i>	
SGXXX1007	R1	24_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXXX1008	R1	24_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, astA</i>	EAECa
SGXXX1009	R1	24_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	pos	pos	neg	neg	neg	B2	<i>uidA</i>	
SGXXX1010	R1	24_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, stx2, astA</i>	STEC
SGXXX1011	R1	24_10_2017	Bacia do Rio Alcântara	Colubandê	neg	neg	pos	neg	neg	neg	A	<i>uidA, astA</i>	EAECa

## 6.5 Métodos estatísticos

Com a análise do teste Quiquadrado ( $X^2$ ) para investigar a associação dos resultados obtidos para filogrupagem entre as áreas de risco de inundação R1 e R2 foi verificado um p-valor de 0,8685, indicando que não houve associação significativa na distribuição de filogrupos conforme áreas de risco.

## 6.6 Análise Espacial

### 6.6.1 Mapas de Símbolos Proporcionais

#### 6.6.1.1 Agrupamento Filogenético

A análise da distribuição dos isolados revelou que filogrupos de *E. coli* apresentaram um padrão de distribuição espacial disperso sobre todo o território estudado. Entretanto, pontos de coleta específicos apresentaram maiores concentrações de isolados de *E. coli* em ambas as áreas com risco de inundação caracterizando *clusters* de microrganismos potencialmente virulentos (Figura 18).

A análise de distribuição espacial por filogrupo revelou um padrão diferenciado para cada grupo, de forma que não observada sobreposição (círculo vermelho) espacial para os mais frequentes (A, B1, B2) (Figura 19).

A Figura 20 representa os filogrupos de menor frequência (C, D, E e F). Apesar de reduzida representatividade por filogrupos foi possível observar a distribuição espacial cujos grupos predominantes (A, B1, B2) não apresentam suas maiores proporções.

#### 6.6.1.2 *Escherichia coli* potencialmente diarreio gênica (DEC)

O mapa da Figura 21 mostra que a distribuição espacial dos isolados de *E. coli* carreadores de determinantes de enteropatogenicidade ocorre tanto nas Áreas de Risco de Inundação R1 quanto em R2, com pontos que concentraram maior proporção em ambas as áreas de risco de inundação.

A Figura 22 apresenta localização conforme os patotipos EAEC (típica e atípica) e tEAEC/EPEC. O mapa mostra que o patotipo EAEC (perfis de enterovirulência I, II, III) apresentou ampla distribuição nas áreas pesquisadas, apresentando pontos de maior concentração tanto em R1 quanto em R2. Os isolados pertencentes ao patotipo tEAEC (perfil

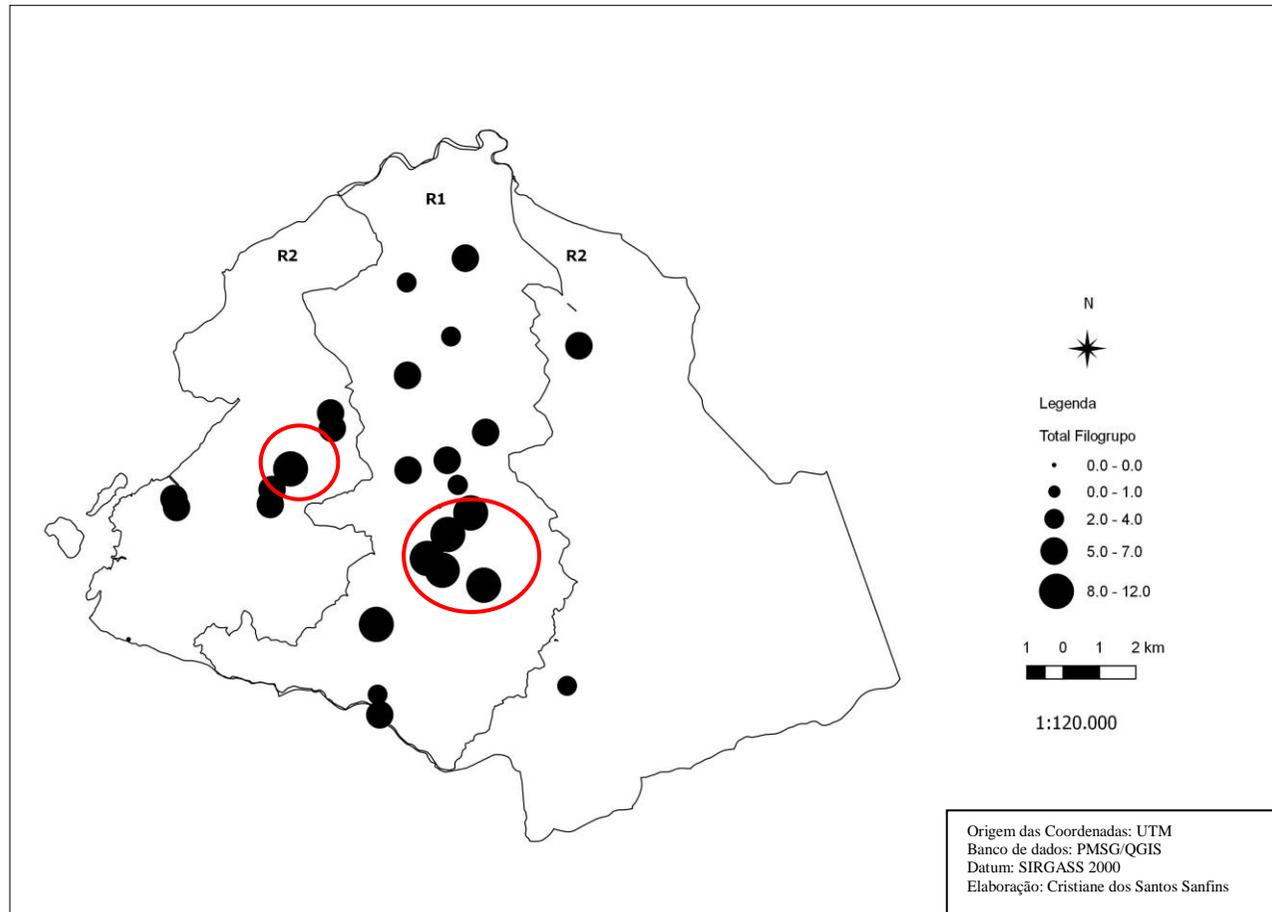
de enterovirulência IV e V) foram encontrados em dois pontos de coleta, localizado em Área de Risco de Inundação R1 e em R2. O isolado pertencente ao patotipo tEAEC/EPEC (perfil de enterovirulência VI) foi encontrado na Área de Risco de Inundação R1.

A Figura 23 representa os pontos onde foram detectados os patotipos ETEC, STEC e o híbrido STEC/tEAEC. O patotipo ETEC (perfil de enterovirulência VII) esteve presente em apenas um ponto em Área de Risco de Inundação R2, o patotipo STEC (perfil de enterovirulência VIII) e STEC/tEAEC (perfil de enterovirulência IX) também foram detectados em apenas um ponto, porém ambos em Área de Risco de Inundação R1.

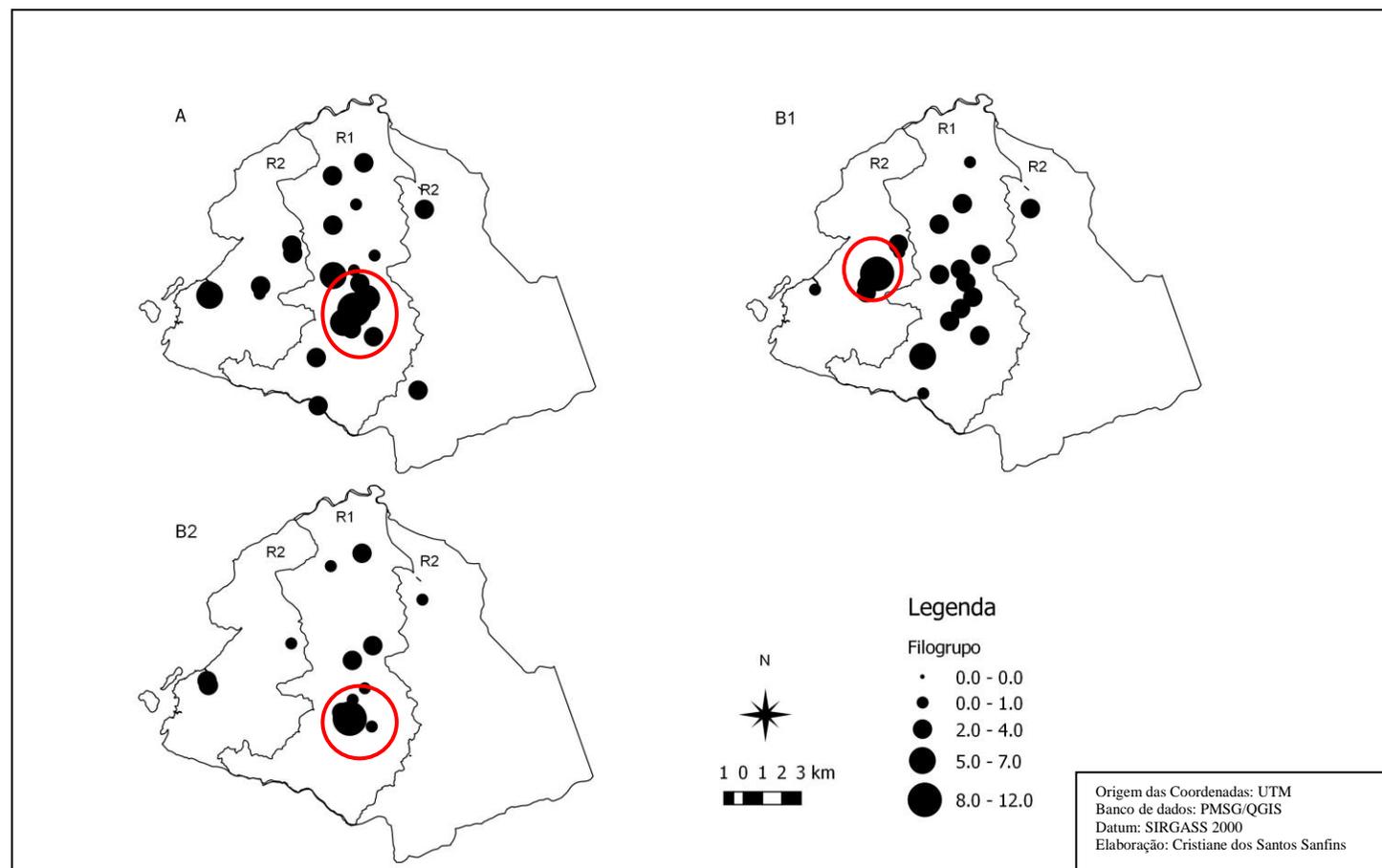
#### **6.6.1.3 Ocorrência de *Escherichia coli* e presença de animais**

A análise espacial permitiu observar que na área R1, onde houve maior isolamento de *E.coli* potencialmente virulenta, estão também distribuídos diversos animais domésticos, bovinos e suínos. Alguns desses animais como suínos e bovinos foram observados na área R1 em pontos diversos incluindo os pontos mais a montante dos rios da Bacia do Rio Alcântara, assim como nas imediações de aglomerados bacterianos potencialmente virulentos (Figura 24). Também foi realizada a análise de sobreposição dos dados laboratoriais quanto à presença de isolados carreadores de enterovirulencia e a presença de animais. Verificou-se o mesmo padrão espacial de distribuição quando considerando apenas os filogrupos (Figura 25).

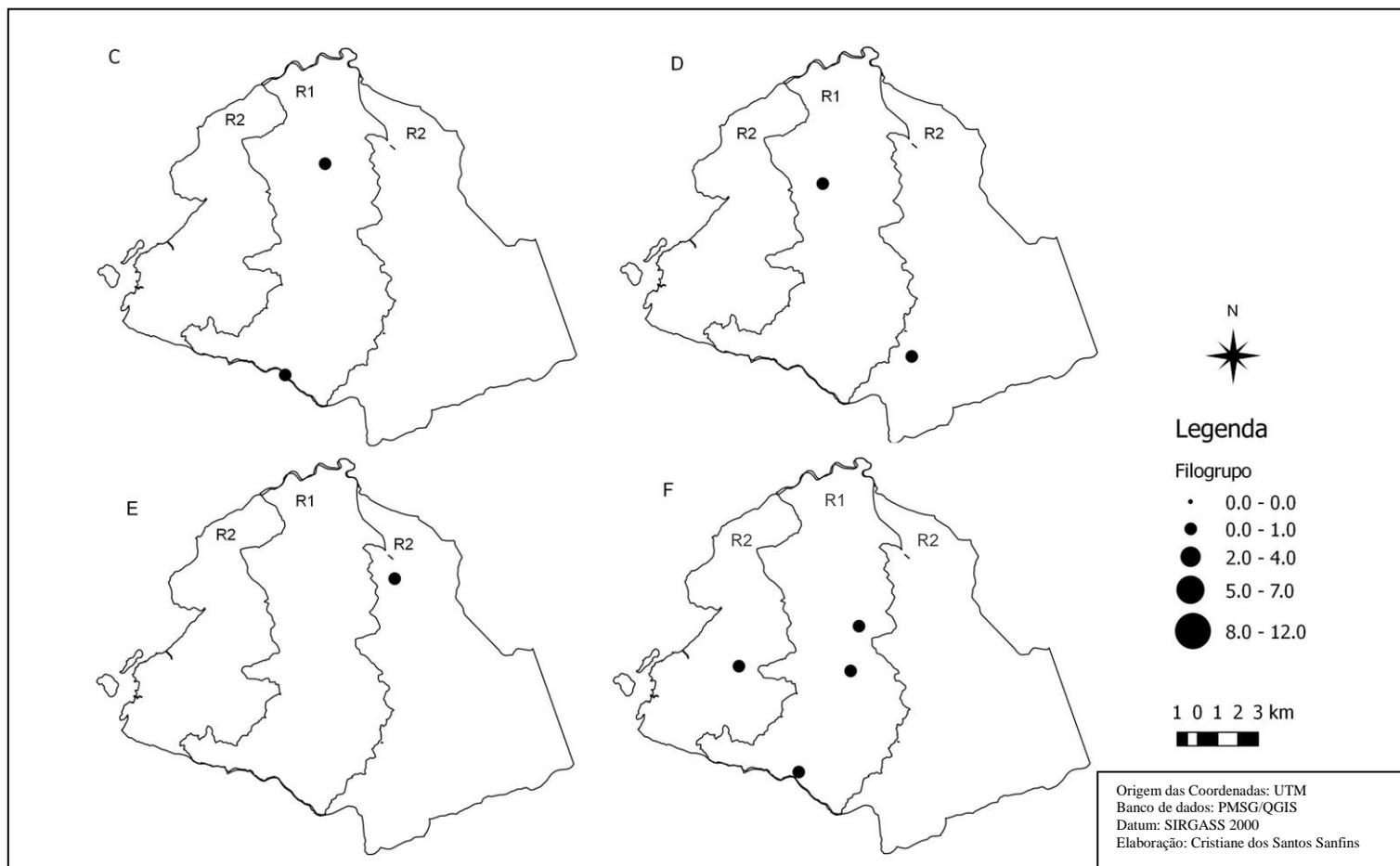
**Figura 18.** Mapa da distribuição espacial de filogrupos totais de *Escherichia coli*, São Gonçalo, RJ.



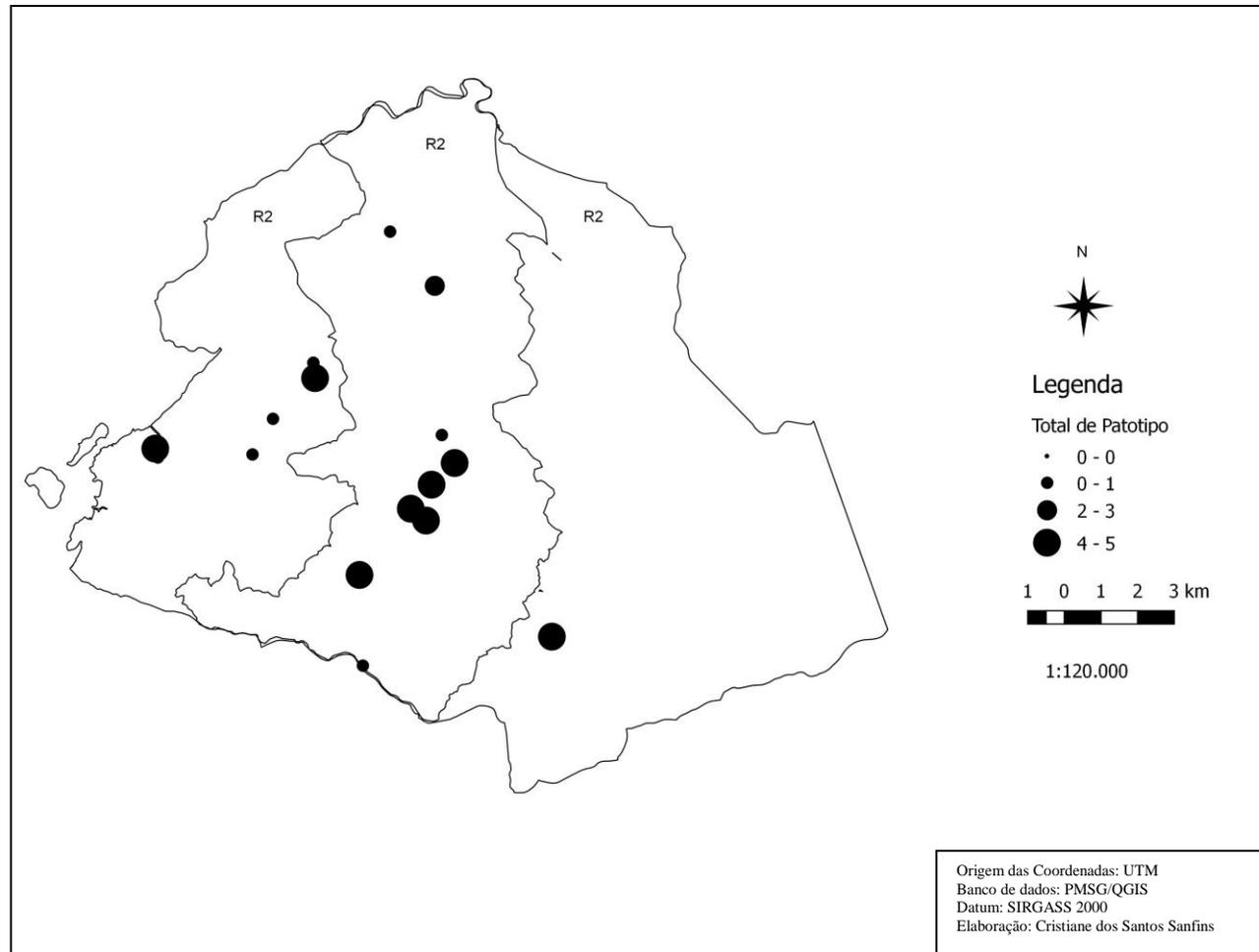
**Figura 19.** Mapa da distribuição espacial de isolados de *Escherichia coli* dos filogrupos A, B1 e B2, São Gonçalo, RJ.



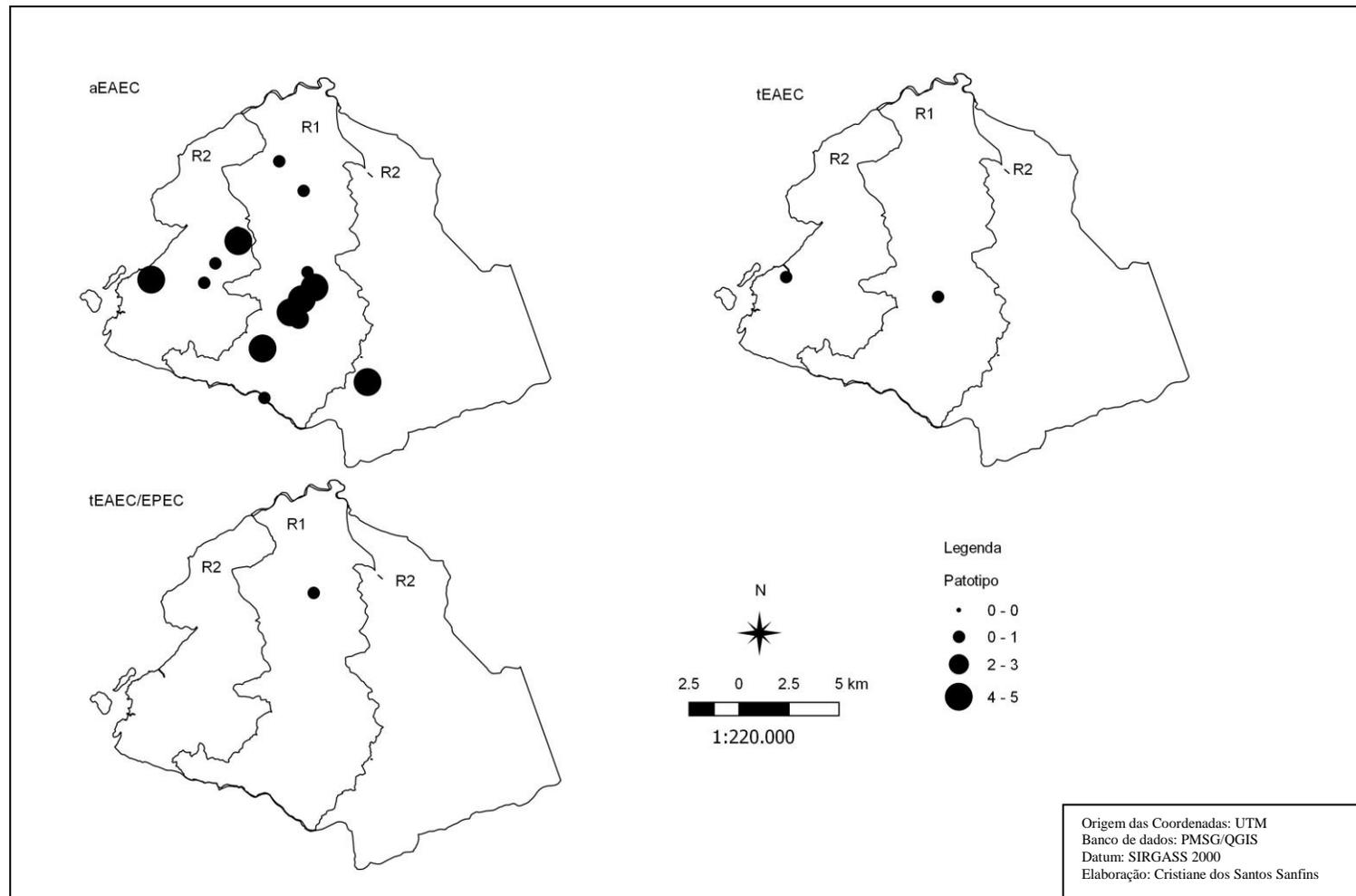
**Figura 20.** Mapa de distribuição espacial dos isolados de *Escherichia coli* dos filogrupos C, D, E e F, São Gonçalo, RJ.



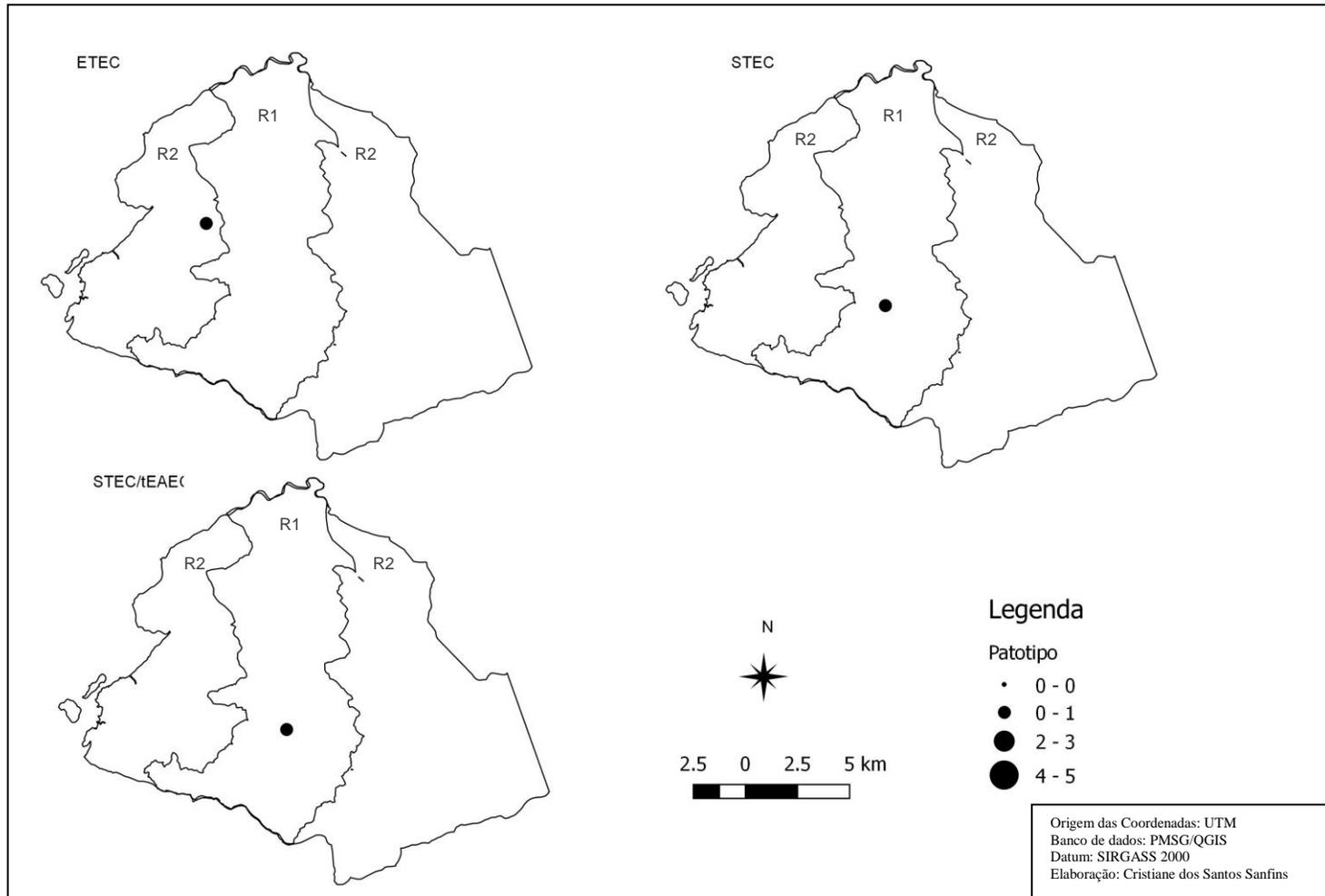
**Figura 21.** Mapa da distribuição espacial do total de isolados de *Escherichia coli* potencialmente diarreio gênica, município de São Gonçalo, RJ.



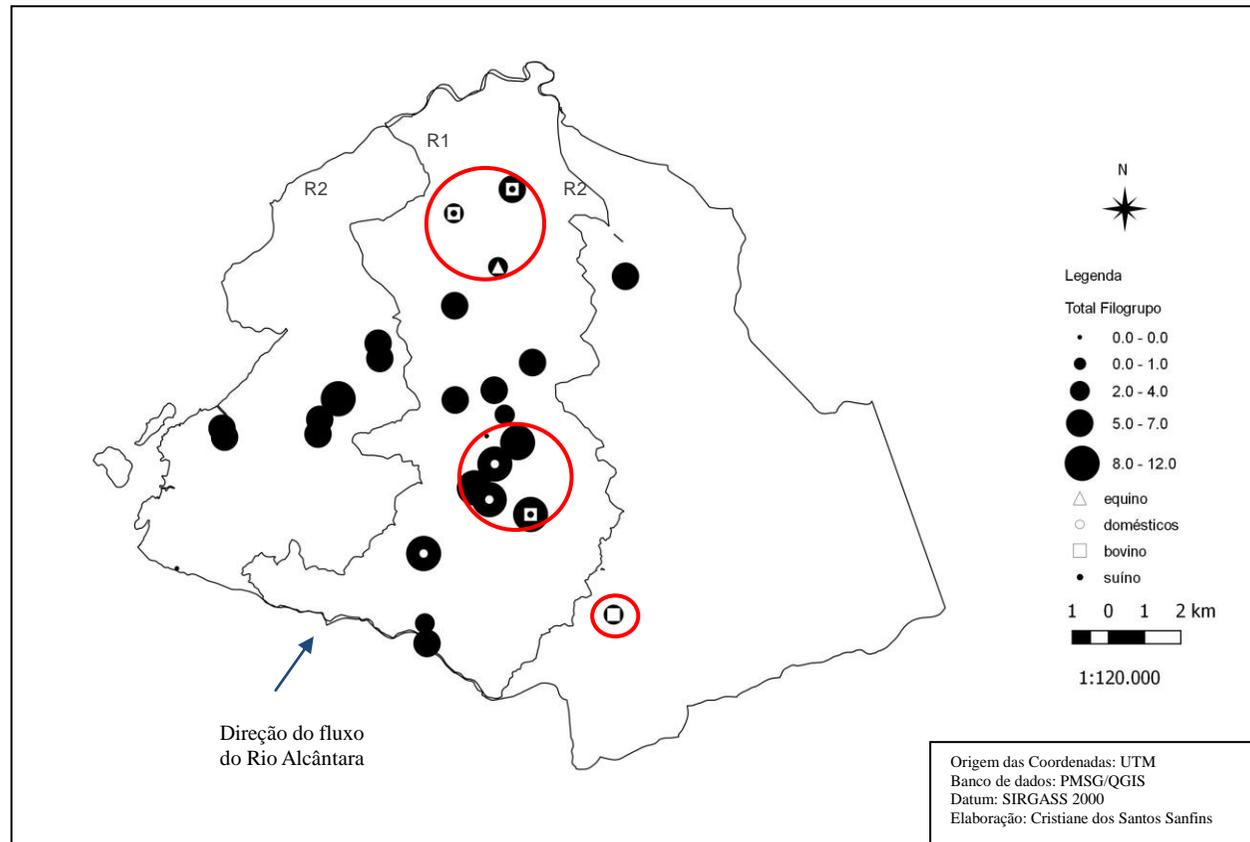
**Figura 22.** Mapa da distribuição espacial dos isolados de *Escherichia coli* pertencentes aos patótipos aEPEC, tEPEC, tEAEC/EPEC, município de São Gonçalo, RJ.



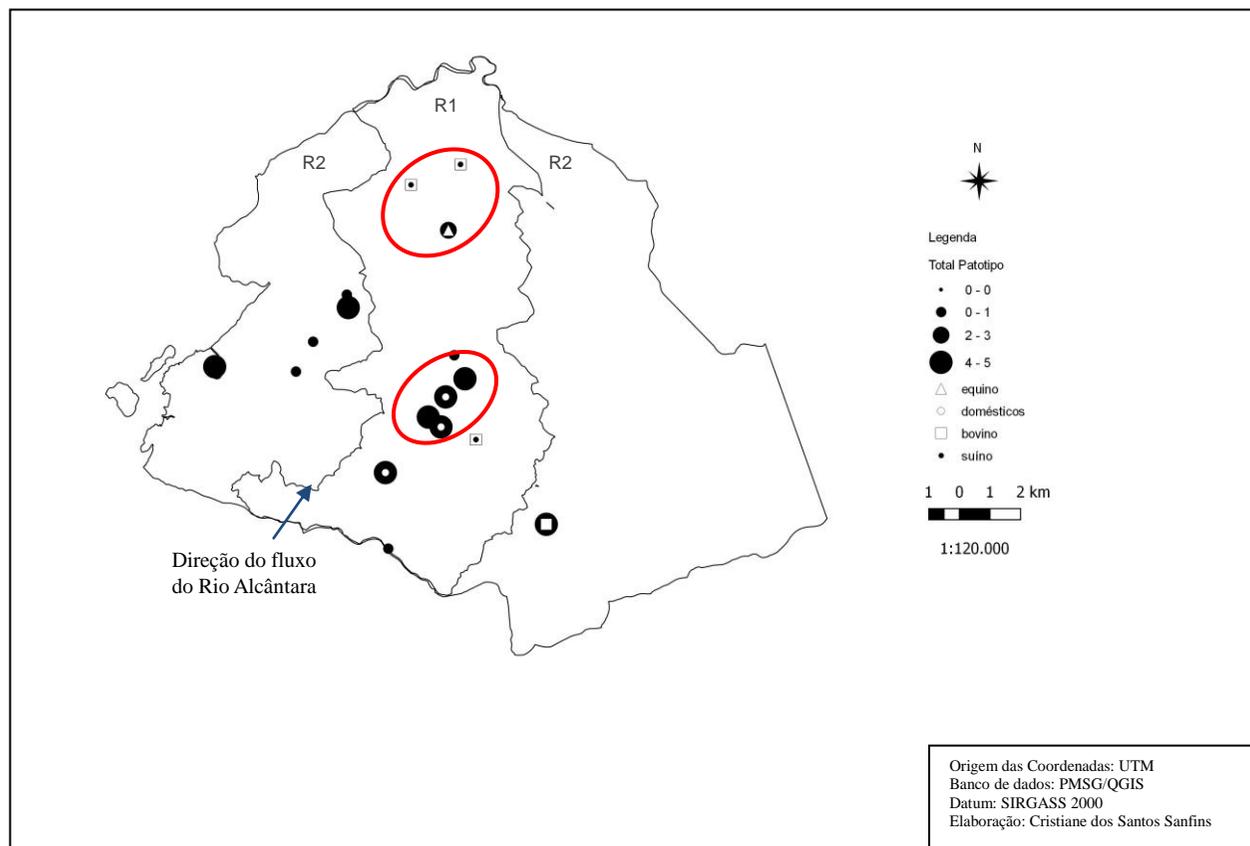
**Figura 23.** Mapa da distribuição espacial dos isolados de *Escherichia coli* pertencentes aos patotipos EPEC, STEC, STEC/tEAEC, município São Gonçalo, RJ.



**Figura 24.** Mapa da distribuição espacial do total de isolados de *Escherichia coli* potencialmente diarreigênicos e presença de animais no peridomicílio, município de São Gonçalo, RJ.



**Figura 25.** Mapa da distribuição espacial do total de isolados de *Escherichia coli* carreadoras de enteropatogenicidade e presença de animais no peridomicílio, município de São Gonçalo, RJ.



## 6.6.2 Mapa Temáticos

### 6.6.2.1 Abastecimento de Água e Esgotamento Sanitário

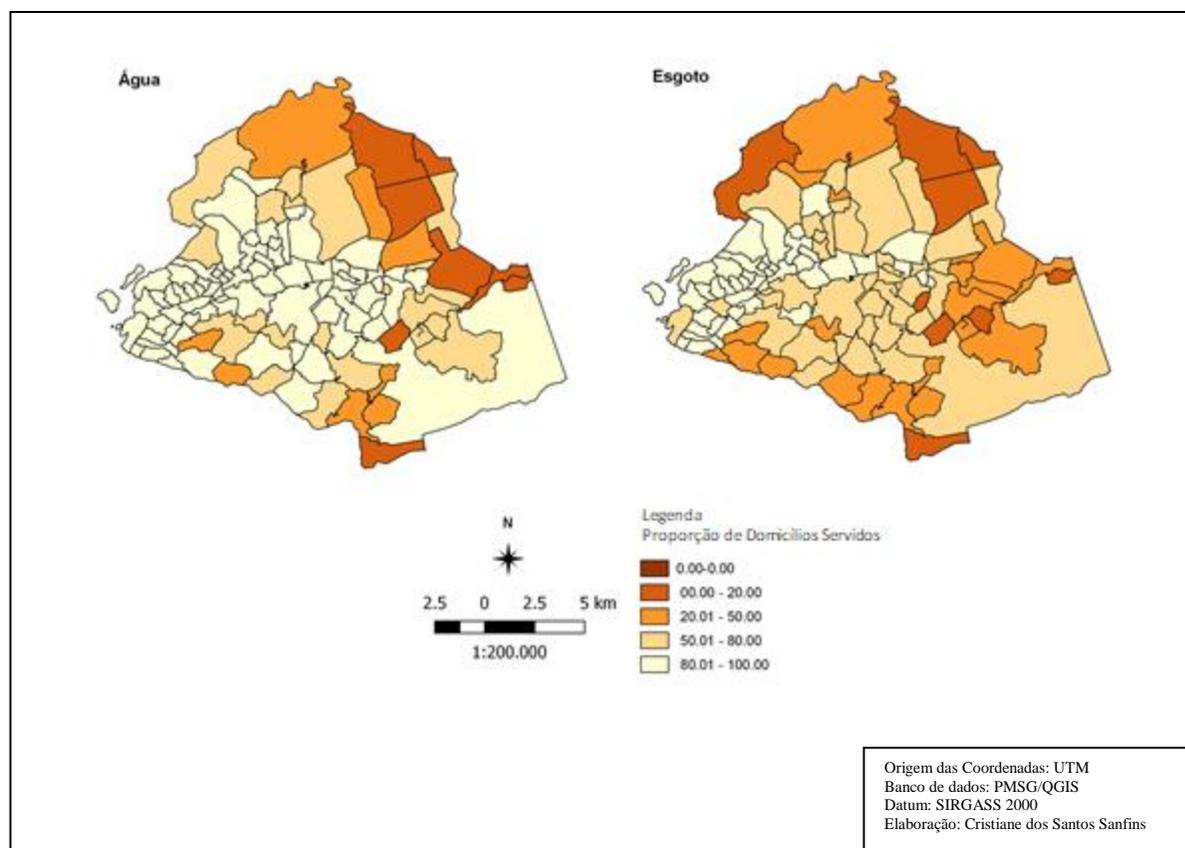
A partir dos dados do Censo do IBGE foi confeccionado o mapa que representa os indicadores da proporção de domicílios servidos por rede de abastecimento de água e por esgotamento sanitário, via rede geral de esgoto ou pluvial, por bairros no município de São Gonçalo no Estado do Rio de Janeiro (Figura 26).

O resultado da análise espacial sobre a proporção de domicílios servidos por rede de abastecimento de água mostrou que os bairros a norte do município são abastecidos, porém apresentam percentuais mais baixos. Por outro lado, foi observado maior abastecimento da população residente na região central de leste a oeste do município. Alguns bairros periféricos apresentam baixos percentuais de abastecimento de água preferencialmente a sul do município. Quanto ao indicador da proporção de domicílios servidos por esgotamento sanitário, via rede geral de esgoto, a análise espacial revelou percentuais menos favoráveis à população em toda a extensão do território. Áreas mais críticas de esgotamento sanitário foram observadas ao norte do município.

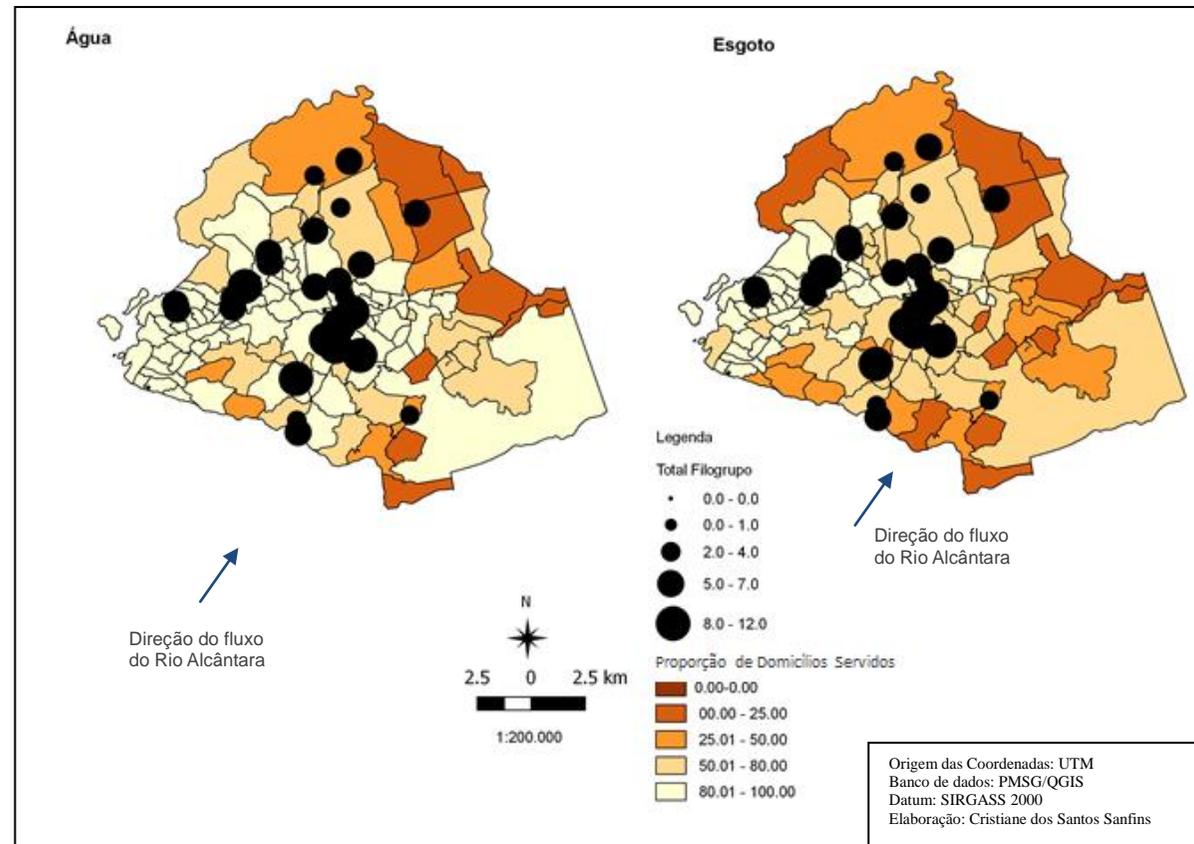
Na Figura 27, o mapa mostra a distribuição espacial dos indicadores da proporção de domicílios servidos por rede de abastecimento de água e por esgotamento sanitário, via rede de esgoto ou pluvial, por bairros, sobrepostos aos dados laboratoriais de filogrupagem por ponto de coleta. Observou-se que as maiores proporções de isolados de *E. coli* potencialmente virulentas estão espacialmente localizados em bairros com condições mais satisfatórias tanto de abastecimento quanto esgotamento sanitário. Em regiões com condições sanitárias mais precárias, especialmente rede de esgoto, localizadas mais a montante da bacia do rio Alcântara (Área R1), foi observada sobreposição espacial com isolados de *E. coli* potencialmente diarreiogênica (Figura 27).

Na Figura 28 o mapa mostra a distribuição espacial dos indicadores da proporção de domicílios servidos por rede de abastecimento de água e por esgotamento sanitário, via rede geral de esgoto ou pluvial, por bairros, sobrepostos ao resultado laboratorial de enterovirulência. Os resultados considerando a sobreposição desses dados revelaram o mesmo padrão espacial de distribuição, salientando a ocorrência de isolados diarreiogênicos a montante do rio Alcântara onde estão áreas críticas de esgotamento sanitário (Figura 28).

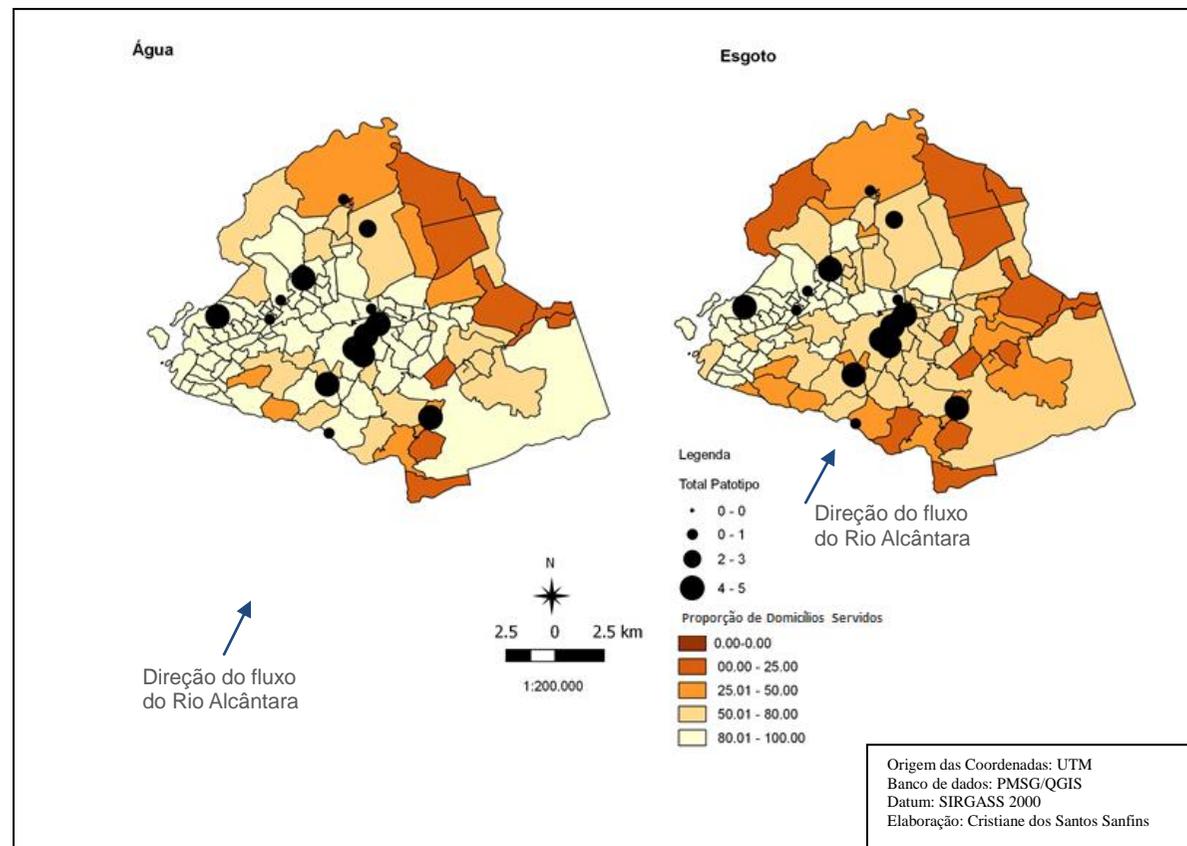
**Figura 26.** Mapa de domicílios servidos por rede de abastecimento de água e de esgotamento sanitário via rede geral de esgoto ou pluvial, município de São Gonçalo, RJ (Fonte IBGE/Censo, 2010).



**Figura 27.** Mapa de domicílios servidos por rede de abastecimento de água e por esgotamento sanitário via rede geral de esgoto ou pluvial e total de isolados de *E. coli* potencialmente virulenta, por ponto de coleta, município de São Gonçalo, RJ.



**Figura 28.** Mapa da proporção de domicílios servidos por rede de abastecimento de água e por esgotamento sanitário via rede geral de esgoto ou pluvial e total de isolados de *E. coli* potencialmente diarreiogênica por ponto de coleta, município de São Gonçalo, RJ.



### 6.6.2.2 Densidade Populacional

A partir dos dados do Censo do IBGE foi confeccionado o mapa que representa a densidade populacional por bairros no município de São Gonçalo no Estado do Rio de Janeiro (Figura 29). Verificou-se que a população do município está concentrada na região mais central, direção de leste a oeste. Nessa concentra-se bairros com melhores condições de infraestrutura sanitária tanto para abastecimento de água quanto para esgotamento sanitário (Figura 26).

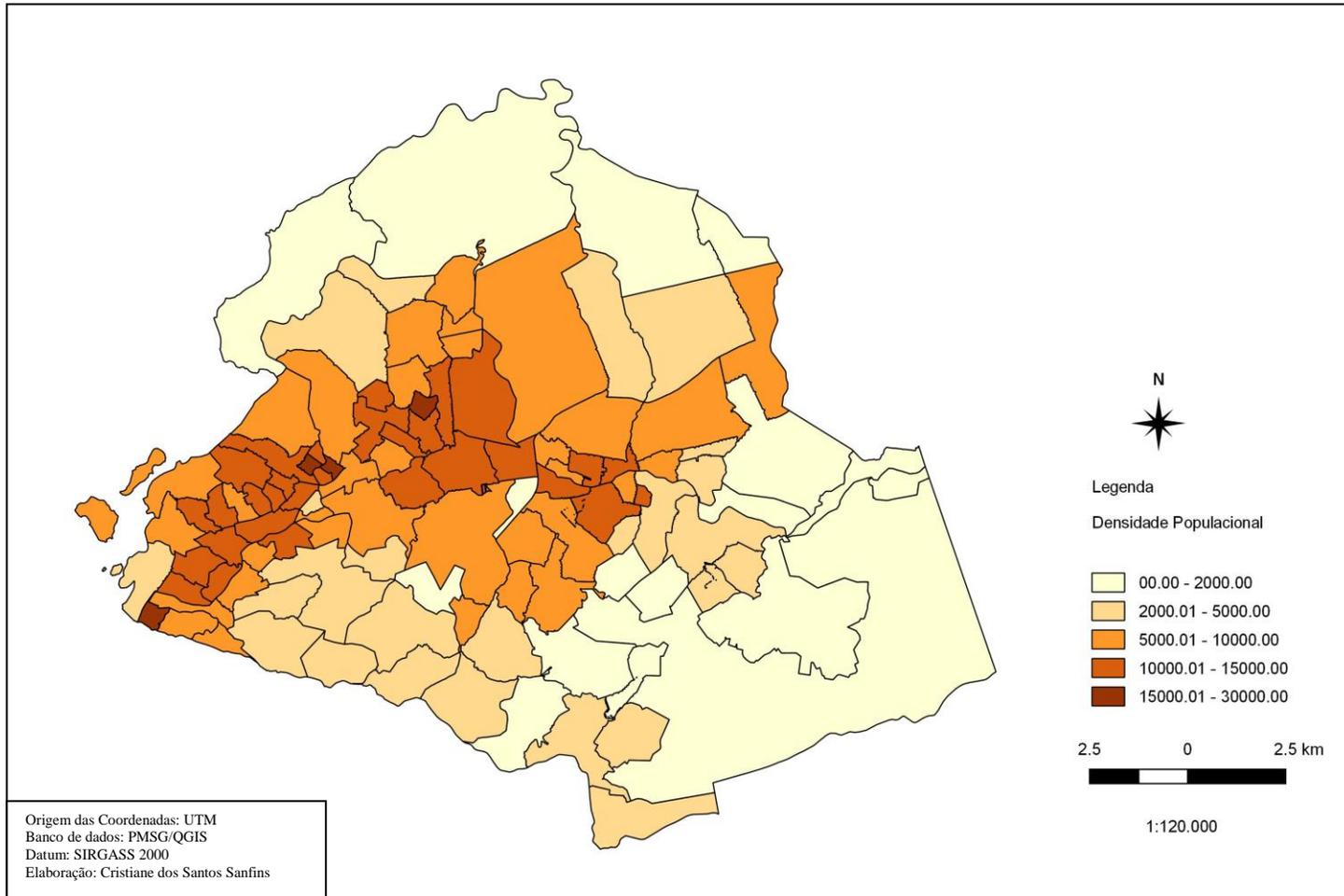
Com a sobreposição espacial dos dados do indicador de densidade populacional e laboratoriais de filogrupagem de *E. coli* observou-se q esses isolados estão em regiões mais densamente povoadas no município (Figura 30).

Na sobreposição do mesmo indicador de densidade populacional, porém, agora, com os dados laboratoriais sobre a ocorrência de *E. coli* enterovirulenta verificou-se que a maioria dos pontos em que foram isolados patotipos diarreiogênicos de *E.coli* estão nas áreas populacionais mais densas (Figura 31) sugerindo o papel dos seres humanos e animais do peridomicílio como potenciais transmissores desses patógenos.

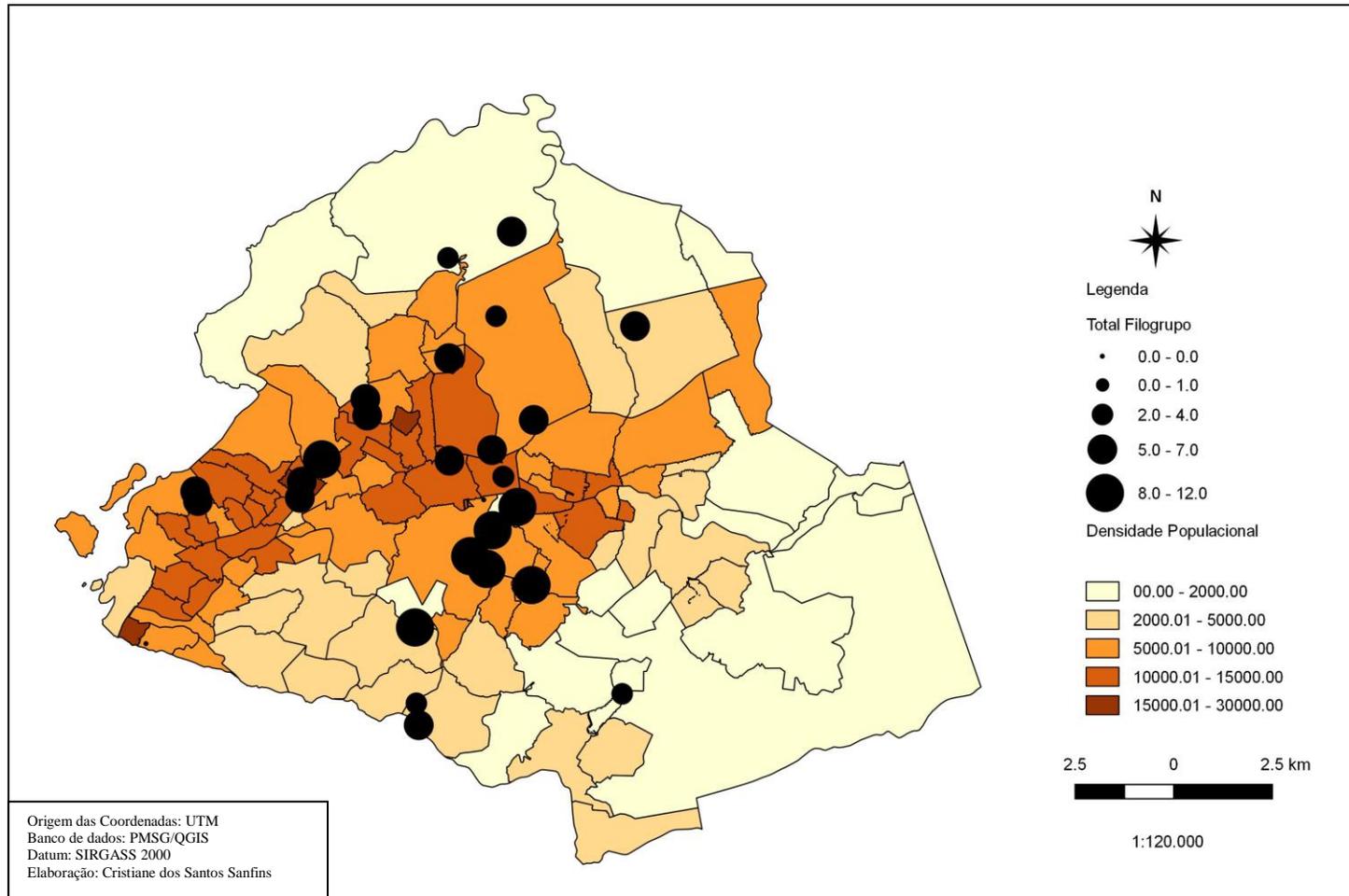
### 6.6.2.3 Perfil de elevação do terreno e longitudinal ao longo do Rio Alcântara (Área de Risco de Inundação R1)

A sobreposição do perfil de elevação do terreno do Rio Alcântara com dados espaciais de aglomerados bacterianos de *E. coli* virulenta revelou a co-localização de concentrados bacterianos na área do médio curso do rio até o início da transição para o baixo curso. O perfil de elevação produzido pela ferramenta do *Google Earth* mostrou que o revelo do leito do rio apresenta depressões nesses pontos, especialmente no médio curso (Figura 32).

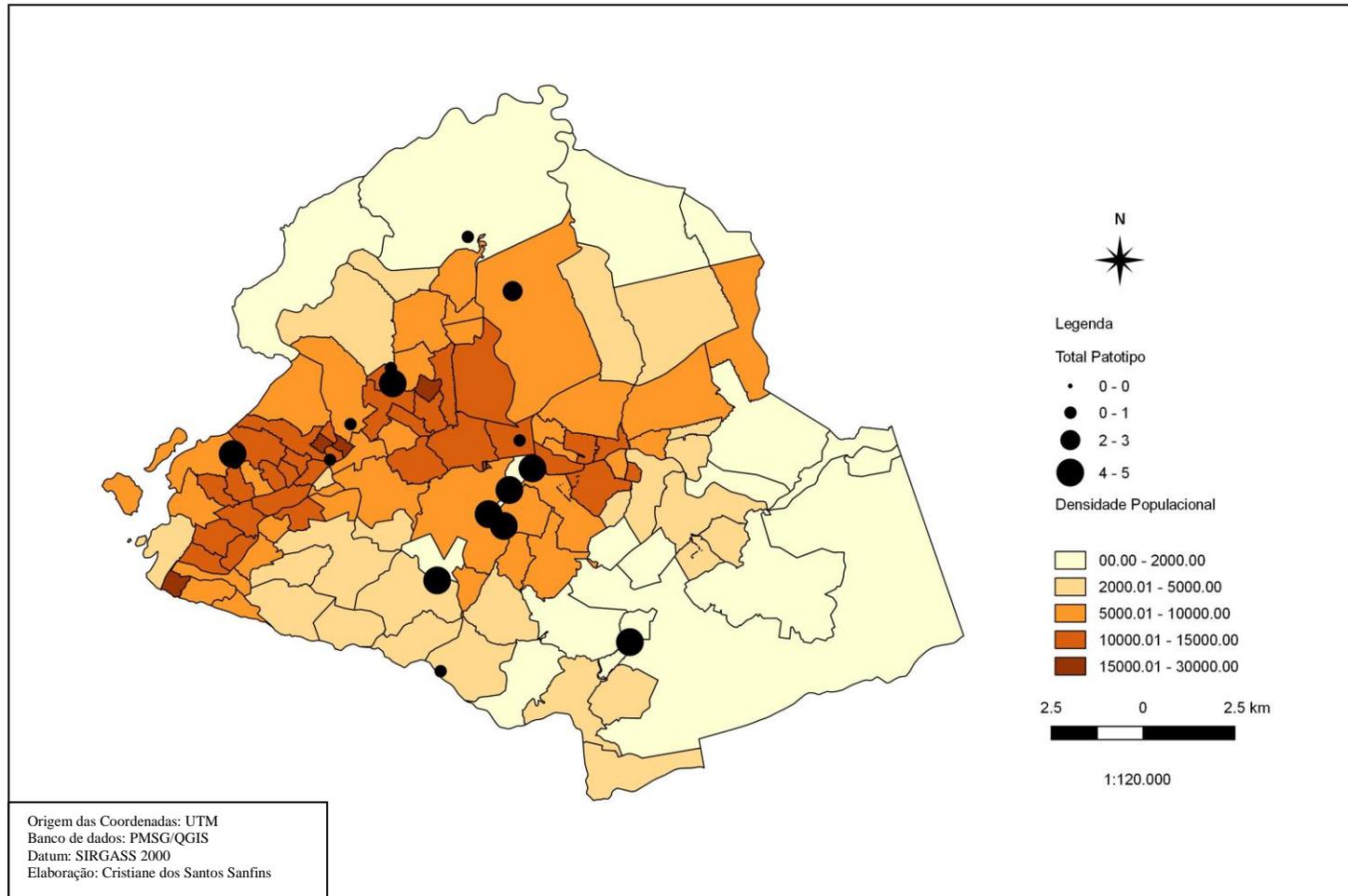
**Figura 29.** Mapa da proporção de domicílios servidos por bairros, no município de São Gonçalo, RJ, 2018



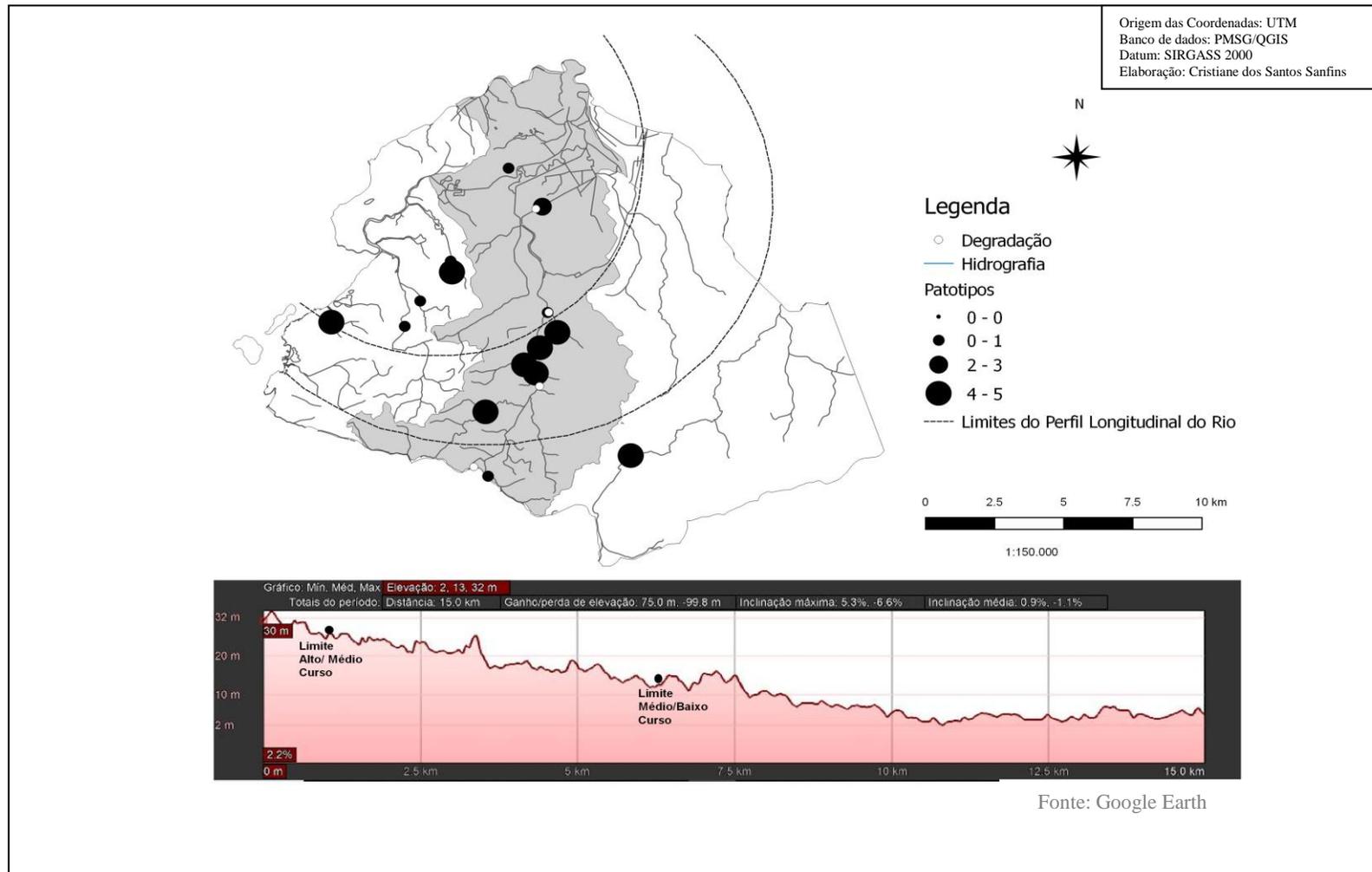
**Figura 30.** Mapa da densidade populacional e total de filogrupos por ponto de coleta, município, São Gonçalo, RJ, 2018.



**Figura 31.** Mapa da densidade populacional e total de patotipos por ponto de coleta, município São Gonçalo, RJ, 2018.



**Figura 32.** Mapa com limites do perfil longitudinal e de elevação da Bacia do Rio Alcântara.



## 7. Discussão

Diversas cidades possuem áreas que são susceptíveis a eventos de inundações, muitas vezes em decorrência ao crescimento sem planejamento provocando o aumento de áreas com superfície impermeável e a carga de poluentes resultando num cenário de degradação ambiental. A pressão exercida sobre ecossistemas aquáticos através da ocupação de margens dos rios e despejo de esgoto sanitário propicia impactos intensos e contribuem para intensificação de danos após inundações apresentando riscos à vida humana (Vieira, 2017; Ximenes, 2012; Guerra, 2012).

A deposição rotineira de fezes humanas e de animais em corpos d'água provoca alterações na população natural destes ambientes, o que possibilita que microrganismos entéricos possam estar presentes assim como agentes patogênicos que podem causar infecções como doenças diarreicas, promovendo impacto negativo na saúde com altas taxas de morbimortalidade. Um grande número de microrganismos patogênicos tem sido identificado, mas a espécie bacteriana *Escherichia coli* tem assumido papel de destaque como agente etiológico de diarreias, principalmente, em crianças nos primeiros anos de vida em países em desenvolvimento (Torres, 2016; Gomi, 2015; Rebello, 2014).

A partir desta perspectiva e considerando a ocorrência de eventos adversos de natureza hidrológica, esse estudo foi proposto usando uma abordagem laboratorial e espacial sobre a ocorrência de *E. coli* em áreas com risco de inundação no município de São Gonçalo.

### 7.1 As áreas de risco de inundação no município de São Gonçalo

O município de São Gonçalo apresenta ampla distribuição de ocorrências de inundação pelo seu território. Através da interpolação exploratória pelo método de *Kernel* foi possível observar que as chamadas para o evento de inundação à Coordenadoria Municipal de Defesa Civil estão amplamente distribuídas, mas foi observado que algumas áreas que coincidem com a bacia hidrográfica do Rio Alcântara apresentam mais intensidade/densidade, o que nos levou a denomina-las de Áreas de Alto Risco de Inundação (R1). As demais bacias hidrográficas, situadas a leste e a oeste da bacia hidrográfica do Rio Alcântara a denominação de Áreas de Baixo Risco de Inundação (R2).

Ressalta-se que estas áreas estão situadas majoritariamente na parte central seguindo o norte do município em áreas densamente ocupadas. O fato de apresentar maior intensidade de inundação já era esperado, pois estas áreas apresentam relevo mais plano, visto que o evento

de inundação está relacionado com transbordamento da calha dos rios em virtude de ocorrências de precipitações. Por conta dessas ocorrências a Prefeitura de São Gonçalo realizou mapeamento das áreas de risco e produziu no ano de 2005 o Plano Municipal de Redução de Riscos (PMSG, 2005), de forma que as localidades apontadas no referido documento coincidem com os pontos quentes (*hot spots*) encontrados na metodologia utilizada neste trabalho.

Segundo Carvalho (2017) a aplicação da técnica de georreferenciamento é importante para avaliação da distribuição espacial e no entendimento dos fatores que podem estar relacionados à ocorrência dos casos (eventos, doenças). Essa técnica possibilitou o mapeamento de determinados agravos e contribui na estruturação e análise de riscos. Para o presente trabalho a técnica permitiu atribuir diferença na ocorrência de eventos de inundação no município de São Gonçalo.

Dada à natureza do fenômeno, as áreas que apresentaram densidade de pontos quentes para ocorrência de inundações no município de São Gonçalo estão mais associadas com córregos e rios. Quando comparada com a base vetorial, formato arquivo *Shapefile*, da rede hidrográfica municipal, foi possível verificar que a mesma parece ter sofrido intervenções como retificações do curso d'água, especialmente, as situadas nas Áreas de Alto de Risco de Inundação (R1). Intervenções pretéritas para correções em pontos específicos podem ter propiciado a ocorrência de eventos de inundações mais a jusante (mais próximo a desembocadura do rio).

## **7.2 Coleta de água, isolamento e identificação de *Escherichia coli***

Foram obtidas 167 amostras de *E. coli*, a partir de 30 pontos de coleta de água superficial de córregos e rios localizados nas duas grande áreas de inundação definidas para este estudo, Áreas de Alto de Risco de Inundação (R1) e Área de Baixo de Risco de Inundação (R2), sendo também orientadas pelos resultados obtidos pelo georreferenciamento do banco de dados da Coordenadoria Municipal de Defesa Civil de São Gonçalo assim como pelas rotas das vistorias solicitadas pelos contribuintes.

Embora não tenha tido o isolamento de *E. coli* em quatro pontos de coleta entre as áreas R1 e R2, analisando o quantitativo de isolados obtidos verificamos que em média houve recuperação de 6 amostras de *E. coli* para as duas áreas propostas. A recuperação de cepas de *E. coli* revela que ambas as áreas com risco de inundação propostas para o estudo encontram-se contaminadas pela espécie bacteriana.

Considerando que *E. coli* é espécie indicadora de contaminação fecal cabe considerar que a qualidade destas águas é comprometida. Tal fato se deve a possíveis fontes humana e animal de contaminação, a capacidade de persistência, a multiplicação deste microrganismo no ambiente e a precariedade da infraestrutura sanitária do município de São Gonçalo. O estudo não teve como objetivo de quantificar e qualificar a potabilidade destes corpos d'água, já que foram utilizadas técnicas seletivas de isolamento para a *E. coli*, de forma certamente subestimamos a contaminação microbiológica real.

Os resultados deste estudo corroboram com relatos sobre a presença de contaminação fecal em águas ao redor de cidades e o isolamento de *E.coli*. A contaminação fecal é relacionada à falta de eficientes sistemas de tratamento de esgoto nas cidades, onde o investimento está muitas vezes restrito às fossas sépticas e tratamento primário (Perini, 2015; Fan, 2015; Rebello, 2014).

Segundo Perini (2015) a presença de outras possíveis fontes de contaminação não podem ser excluídas. A cidade de São Gonçalo está densamente urbanizada, entretanto é importante considerar que a existência de áreas rurais ou a transição destas para as áreas urbanas, também são abundantes no território deste município, de forma que podem abrigar animais que fazem parte do ciclo da *E. coli* o que podem contribuir para a contaminação das águas superficiais.

### **7.3 Caracterização Ambiental**

Dados da caracterização ambiental provenientes da Ficha de Observação de Campo permitiu verificar que nas Áreas Risco de Inundação R1 e R2 propostas para este estudo há intensa degradação ambiental quanto aos aspectos considerados no estudo.

Os locais visitados apresentavam despejo de esgoto por meio de conexões de canos das casas direto aos córregos. Também foi observado o descarte inadequado de resíduos sólidos nas margens e no leito dos córregos e rios. Assim, nas Áreas de Risco de Inundação R1 quanto em R2 observou-se deterioração dos corpos d'água, o que compromete qualidade deste recurso natural. A Política Nacional de Recursos Hídricos (Lei nº 9433/97) propõe medidas para a preservação da água para assegurar à atual e às futuras gerações a necessária disponibilidade de água, em padrões de qualidade adequados, também indica a necessidade de preservação das águas em qualidade compatível com os usos mais exigentes a que forem destinadas, de forma que este recurso deve abranger o uso múltiplo, entretanto foi constatado durante a atividade de campo a degradação da paisagem e o comprometimento da qualidade

das águas.

A degradação dos rios tem se tornado um grave problema ambiental, uma vez que, o crescimento das áreas urbanas tem proporcionado crescente deterioração das águas destes corpos hídricos e conseqüentemente das águas onde desaguam (Araújo, 2015).

São Gonçalo é a segunda cidade com maior número de habitantes do estado do Rio de Janeiro está a leste da Baía da Guanabara e possui diversos rios que contribuem para esta porção marinha (IBGE, 2010). Embora o município tenha recebido investimentos em infraestrutura nos últimos anos ainda é verificado, pelo menos nos pontos visitados, que as condições de impacto negativo à saúde e ao meio ambiente ainda estão presentes e que a caracterização realizada neste estudo também corroboram com resultados já publicados.

Araújo (2015) pesquisou seis rios do município de São Gonçalo (rio Marimbondo, Guaxindiba, Imboaçú, Brandoas, Bomba e Alcântara) e concluiu-se que são semelhantes em relação ao grau de contaminação observado pelos parâmetros estudados e contribuem negativamente para a qualidade das águas da Baía da Guanabara, levando risco potencial à vida marinha e à população humana que faz uso destas águas, no que diz respeito a contração de doenças por veiculação hídrica.

As intervenções visualizadas nas atividades de campo como o impacto na forma natural dos córregos e rios com ocupações ou intervenções estruturais podem ter intensificado o processo de assoreamento visualizado em diversos pontos de coleta. O assoreamento pode ser natural devido o acúmulo de sedimentos oriundos dos processos de intemperismo, mas também por diversos detritos dentre eles descarte inadequado de resíduos sólidos, interferindo na topografia do leito dos rios comprometendo o volume hídrico, provocando transbordamento em épocas de grande quantidade de chuvas resultando em desastres naturais como enchentes e inundações como principal ameaça para o município de São Gonçalo (PMRR, 2005). Este cenário associado ao despejo de esgoto sem tratamento ou com tratamento ineficaz possibilita que ambientes aquáticos lóticos se tornem mais lênticos, ricos em matéria orgânica que podem viabilizar a permanência e reprodução de *E. coli*.

A temperatura é provavelmente o fator mais importante que influencia a sobrevivência e crescimento de *E. coli* no ambiente. A temperatura para o crescimento de *E. coli* no ambiente natural é geralmente  $< 30^{\circ}\text{C}$  (Jang, 2017; Ishii et al, 2006, 2010). Durante a coleta de amostras de água superficial nos pontos selecionados a temperatura foi verificada e a mesma apresentou uma média de  $28^{\circ}\text{C}$  o que está dentro da faixa de temperatura apropriada para o crescimento da espécie. Além da temperatura outros fatores como a disponibilidade de nutrientes como carbono, nitrogênio e fósforo são importantes para a sobrevivência e

crescimento de *E. coli* no ambiente, entretanto, o estudo não investigou esses parâmetros (Jang, 2017).

Embora tenha sido inicialmente descrita como espécie comensal, *E. coli* possui linhagens reconhecidas como patogênicas (intestinais e extra intestinais) e muitos animais de sangue quente albergam esses microrganismos (Staji, 2017; Gomes, 2016; Varela-Hernandez, 2007). Como animais são potencialmente reservatórios de linhagens patogênicas de *E. coli* buscou-se investigar uma possível associação entre a presença desses animais e o isolamento da espécie bacteriana. A observação em atividades de campo constatou-se a presença de animais domésticos, suínos, equinos e bovinos em diversos pontos de coleta, o que sugere o possível papel desses animais como possíveis fontes de contaminação de *E. coli* no ambiente, contribuindo assim para o estabelecimento e persistência de *E. coli* virulenta no ambiente.

A saúde humana não está dissociada do meio ambiente, de forma que a degradação ambiental que afeta os ecossistemas tem potencial de provocar o desequilíbrio de várias formas de vida que integram a diversidade natural e, conseqüentemente, produz riscos e agravos à saúde humana. Neste contexto sob a perspectiva do *One Healthy*, que propõe a cooperação entre os eixos das ciências da saúde humana, animal e ambiental, torna-se imprescindível o combate às ameaças emergentes para a saúde pública. A observação de campo revelou características ambientais que põem em risco a saúde humana, e que possivelmente proporciona a manutenção de *E. coli* no ambiente, impactando ainda mais, a população que na ocorrência de inundação, se torna ainda mais vulnerável.

#### **7.4 Agrupamento filogenético de *Escherichia coli***

A existência de grupos filogenéticos em *Escherichia coli* é descrita na literatura (Clermont, 2013; Wirth, 2006; Clermont, 2000). O estudo sobre os aspectos da diversidade e evolução de *E. coli* começou a partir da aplicação da técnica de *multi-locus enzyme electrophoresis* (MLEE). Desde então, outras metodologias tem contribuído para o acúmulo de dados sobre sequências de nucleotídeos de genes essenciais ou de manutenção, os chamados genes *housekeeping* através do *multi-locus sequence typing* (MLST) ao sequenciamento total (Chaudhuri, 2012) e esclarecido a linha evolucionária da espécie.

*E. coli* exibe extensa variabilidade genética e variantes da espécie podem ser categorizadas em grupos filogenéticos. Os filogrupos clássicos são conhecidos como A, B1, B2 e D. As cepas representantes destes grupos exibem particulares características fenotípicas

e genóticas, nicho ecológico e propensão em causar doenças. Os filogrupos mais recentes são conhecidos como C, E, F e clado críptico I. Como foram descritos mais recentemente, a literatura disponibiliza restrita informação sobre sua distribuição geográfica, potenciais hospedeiros, características de virulência assim como propensão em causar doenças. A metodologia revisada por Clermont (2013) a partir do método clássico permitiu a detecção dessas novas linhagens que tem contribuído para elucidar os aspectos eco-epidemiológicos desses enteropatógenos (Vangchhia, 2016; Clermont, 2013; Tenailon, 2010; Clermont, 2000). Em nosso estudo o emprego dessa metodologia permitiu a identificação dessas novas linhagens circulando na área de estudo.

Isolados de *E. coli* responsáveis pela infecção extra-intestinal tem sido classificados como pertencentes aos filogrupos B2 ou D, principalmente. Os grupos A e B1 contemplam a maioria de isolados comensais, enquanto que cepas diarreiogênicas podem ser categorizadas nos grupos A, B1 mas classificam-se principalmente no D. O filogrupo F forma um grupo filogeneticamente muito próximo ao filogrupo B2. Mais recentemente, o filogrupo C foi proposto para um grupo de isolados intimamente relacionados, porém distintos, do filogrupo B1 (Clermont et al., 2011a; Tenailon et al., 2010).

Em nosso estudo, verificamos que o total de amostras coletadas tanto com Alto ou Baixo Risco de Inundação foram caracterizadas majoritariamente no filogrupo A, o que corrobora estudos prévios que caracterizaram isolados ambientais, como comensais ou potenciais agentes de infecção intestinal. Nesse contexto, é assumido o risco a população residente assim como para pessoas que em momentos de eventos de inundação possam estar nestes locais ou até onde o percurso fluvial alcançar (Corzo-Ariyama, 2019; Perini, 2015; Jang, 2014; Rebello, 2014).

A grande maioria dos trabalhos em filogrupagem ainda adota a metodologia PCR-triplex (Clermont, 2000). Entretanto Perini (2015), assim como o presente estudo, adotaram essa metodologia revisada de Clermont (2013) o que possibilitou maior informação sobre a ecologia desses filogrupos, contribuindo para reconhecer a importância e o impacto desses filogrupos na saúde humana. Os filogrupos A e B1 que representam amostras comensais foram mais abundantes na amostragem o que reforça a opinião de que esses grupos são mais adaptados para sobreviverem em ambientes aquáticos. A detecção do filogrupo B2 que representa isolados de *E. coli* agentes de doenças extraintestinais como meningites e infecções de trato urinário e, do filogrupo D que representam agentes de doenças diarreicas (Perini, 2015; Jang, 2014; Rebello, 2014; Chaudhuri, 2012) alertam para a preocupação devido à gravidade das doenças associadas e suas complicações decorrentes, sendo algumas associadas

com taxas de mortalidade. Portanto, a dispersão desses isolados no ambiente, especialmente em eventos de inundação, aumenta o risco de exposição e manifestação de doenças graves.

Analisando os filotipos encontrados na análise filogenética, foi verificado que as amostras classificadas para os filogrupos A, B1, B2 e F apresentaram mais de um genótipo (Tabela 03). O filogrupo B2 apresentou maior diversidade de genótipo. Segundo Tenailon (2010), essa variabilidade no grupo B2 é observada suportando sua emergência precoce na linhagem de espécies e sugerindo que possui status de subespécie. Isto é reforçado pela estrutura genética já observada neste grupo, que tem pelo menos nove subgrupos filogenéticos bem correlacionados com um pool genético flexível e, em menor grau, com o tipo de antígeno O (Tenailon, 2010).

Nas Áreas de Risco de Inundação R1 e R2 foi verificado que os filogrupos A, B1 e B2 apresentaram os maiores percentuais nas duas áreas de risco. Considerando as características ambientais encontradas durante o período de coleta e a habilidade de *E. coli* virulenta em persistir e se reproduzir no ambiente (Jang, 2014), assume-se que essas condições são propícias para a manutenção do ciclo da espécie e que esta questão somada ao risco de inundações deve ser objeto de atenção dos órgãos de vigilância em saúde e infraestrutura sobretudo as ações que se destinam minimizar impactos pós desastres.

## **7.5 ENTEROVIRULÊNCIA DE *Escherichia coli***

*Escherichia coli* foi inicialmente definida como um benéfico procarionte habitante do trato intestinal de animais de sangue quente. Entretanto, variantes a espécie podem adquirir fatores específicos de virulência responsáveis por uma variedade de doenças intestinais e extra intestinais (Torres, 2017; Bako, 2017; Gomes, 2016; Croxey, 2013).

Ensaio de amplificação utilizados para detecção de marcadores genéticos de *E. coli* são amplamente usados em amostras clínicas para fins de diagnósticos. Propostas eco-epidemiológicas, no entanto, que visam esclarecer a distribuição, sobrevivência, persistência e patogenia de *E. coli* em amostras ambientais são mais restritas mas tem revelado que isolados ambientais carreadores de genes de enterovirulência de *E. coli* são detectados no meio ambiente e parecem persistir e se reproduzir neste habitat (Rebello, 2014).

No presente estudo 167 cepas de *E. coli* foram isoladas de amostras de água superficial em áreas com risco de inundação (R1 e R2). Foram detectados genes de enterovirulência em 40 isolados (24%) de *E. coli* e exibindo nove (09) genótipos de enterovirulência. Outros estudos ambientais apresentam percentuais variados de isolamento.

Em um estudo realizado no continente Africano, DEC foi detectada em 10,76% dos isolados de fezes de gado, esterco e lama em mercados de gado predominância de EHEC (Bako, 2017). Harada e colaboradores (2018) detectaram DEC em 18,6% de amostras de esgoto e 1,7% em água reservadas para consumo em Bangladesh, Índia neste estudo o patotipo predominante também foi EHEC. No Brasil em 2014, um estudo sobre o potencial de enterovirulência de *E. coli* isoladas de ambientes aquáticos no Rio de Janeiro mostrou que 11,2% do total, *astA* foi o marcador de enterovirulência mais prevalente (7,3%) (Rebello, 2014). Dentre os genes de enterovirulência pesquisados neste estudo, *astA* foi o mais frequente com proporção de 75% (n=37/40) seguido de *aggR* e *pic* com 8% cada (n=4/40) caracterizando o patotipo EAEC (típico e atípico). Recentemente, uma divisão entre subgrupos típicos e atípicos de cepas EAEC foi proposta. Esta classificação foi baseada na presença do gene *aggR*, um gene que é um regulador de genes de virulência de EAEC (Sarantuya, 2004; Tokuda, 2010; Torres, 2016;). Segundo Müller (2007), a presença do gene *aggR* é condição para o isolado ser enquadrado como EAEC mas também utilizando como referência por Tokuda (2010) para discriminar as cepas do patotipo EAEC em típicas (*aggR+*) e EAEC atípicas (*aggR-*). Nesta perspectiva, o patotipo EAEC foi o mais encontrado no estudo, revelando distribuição tanto nas Áreas de Risco de Inundação R1 e R2.

EAEC é um patógeno emergente, infecta, criança e adulto ao redor do mundo. Estudos tem demonstrado forte associação deste patotipo com diarreia aguda e persistente. A diarreia persistente mediada por EAEC tem sido fortemente associada com a desnutrição e diminuição do desenvolvimento físico e intelectual (Torres, 2016).

A presença de EAEC isolada de amostras ambientais em áreas de risco de inundação, é preocupante pois pessoas que habitam áreas com risco de inundação, especialmente, crianças menores de cinco anos e em situação de vulnerabilidade social, podem ter mais risco de contaminação podendo sofrer com os danos decorrentes da infecção deste patógeno. Deste modo, além das ações sanitárias junto à vigilância em saúde também é preciso investimento em medidas para o saneamento ambiental, neste caso, abrangendo prioritariamente o tratamento de esgoto assim como o manejo de drenagens.

Estudos têm demonstrado que as EAEC são amplamente adaptadas a humanos, sugerindo que a população humana possa ser o reservatório. Além disso, pesquisas na tentativa de isolamento desse patotipo em gado e efluentes de abatedouros não obtiveram sucesso (Bibbal, 2014; Bako, 2017). Os pontos de coleta de água superficial no presente estudo estão majoritariamente situados em áreas de densa ocupação humana com condições precárias de saneamento ambiental. Tal condição pode viabilizar a contaminação do ambiente

e a ampla detecção de genes de enterovirulência que caracterizam EAEC pode ter ocorrido devido à presença de fezes humanas.

Já foi reportado que o gene *astA* está presente não só em amostras de EAEC, mas também pode ser detectado em outros patótipos de *E. coli* diarreio gênica como ETEC, EPEC e EHEC (Bako, 2017; Muller, 2007). Os resultados do presente estudo corroboram esta observação já que foi identificada um isolado do patótipo ETEC carreador do gene. A persistência e habilidade de ETEC de sobreviver em efluentes com fezes de gado, a quem está associada como seu reservatório, ainda é desconhecido. No entanto, estudos prévios revelam que ETEC pode sobreviver por mais de três meses em água superficial e formar biofilme em ambientes secos (Bako, 2017; Torres, 2016). As características ambientais observadas durante a coleta somadas a presença de animais em alguns pontos evidenciam condições propícias à manutenção do seu ciclo. A circulação do gene *estla* em cepas com potencial de virulência característico de ETEC, representam representando risco de infecção à população sendo ainda potencializado o contato já que são locais com permanente risco de eventos de inundação.

Em nossos estudo 2 (dois) isolados foram carreadores dos genes *stx2*, que caracteriza o patótipo STEC, e o gene *aggR*, que caracteriza o patótipo EAEC evidenciando um isolado híbrido. Em 2011, um grande surto causado por um novo sorotipo *E. coli* O104: H4 foi relatado em 16 países na Europa, envolvendo 4075 casos (incluindo 908 casos complicados por SHU) e 50 mortes. Este surto foi associado com o consumo de brotos. No início do surto, tornou-se evidente que uma vigilância internacional seria necessária para determinar o alcance do surto, caracterizar a doença e identificar a fonte. Nos Estados Unidos da América do Norte, a vigilância local conduziu seis casos ao surto, entretanto, nenhum dos pacientes neste país recordou definitivamente do consumo de brotos. Esses eventos destacam os desafios na investigação de surtos, particularmente aqueles causados por patógenos raros ou associados a veículos alimentícios que são consumidos em pequenas quantidades como parte de outros pratos (Torres, 2017; CDC, 2013).

Por fim, em um isolado foi detectada a presença do gene *escV* que possibilitou a caracterização do isolado como patótipo EPEC atípica, entretanto também houve a amplificação dos genes *astA* e *aggR*, de modo que foi evidenciado mais um híbrido. O padrão de aderência agregativa (AA) já foi encontrado em cepas de outros patótipos de *E. coli* diarreio gênica, como aEPEC. Entretanto, a literatura científica reporta que para defini-se EAEC como uma DEC que produz AA em cultura de células epiteliais com ausência dos principais marcadores genéticos que definem outros patótipos de *E. coli* com exceção do híbrido EAEC/STEC, cepa O104:H4, que é uma EAEC produtora de shigatoxina (Gomes,

2016).

Uma característica do patotipo EAEC é a sua natureza heterogênea quanto ao sorotipo, marcadores genéticos de virulência e grupos filogenéticos (Gomes, 2016; Okeke, 2010). No presente estudo, a filogrupagem das cepas em que foram detectados genes de enterovirulência se mantiveram nos grupos A e B1 com exceção dos isolados carreadores do gene *astA* que apresentaram-se dentro dos grupos A, B1, B2 e D revelando a elevada plasticidade da espécie bacteriana e intenso fluxo gênico entre os seus reservatórios.

Müller (2007) detectou co-ocorrência de genes de enterovirulência (*uidA*, *stla*, *astA*) que inicialmente foi categorizada como ETEC, entretanto após teste de padrão de aderência agregativa constatou que tratava-se de uma cepa de EAEC. Também submeteu os isolados que apresentaram algum gene determinante do patotipo EAEC ao mesmo ensaio em cultura de células e observou que 15% dos falso-positivos carregavam apenas o marcador *astA*. Estudos coincidem na questão de que bactérias comensais em algum momento podem carrear genes de virulência para auxiliar a sobrevivência e ampliar o sucesso na colonização de seu hospedeiro (Rebello, 2012; Hamelin, 2006). Observações controversas apontam a necessidade de mais estudos quanto à patogenicidade dessas bactérias e das condições em que elas estão submetidas que possam, por sua vez, contribuir para persistência e reprodução e, assim, defini-las de acordo com propriedades patogênicas já reconhecidas ou até mesmo observar a emergência de novos patotipos.

Os resultados deste estudo demonstram que os perfis de virulência de *E. coli* são diversos o que sugere o elevado potencial de intercâmbio desta espécie. O pangenoma de *E. coli* é considerado um genoma de mosaicos envolvendo trocas entre um patógeno e um comensal, envolvendo a aquisição e a diversificação gênica por meio de adição, rearranjos, excisões e transferência horizontal de genes. Neste contexto esta dinâmica plástica genômica causada por elementos genéticos móveis como plamídeos, bacteriófagos e ilhas de patogenicidade é considerada uma estratégia evolutiva de *E. coli*. Esta estratégia pode levar a a emergência de cepas altamente virulentas como ilustrado pela *E. coli* produtora de shigatoxina (O104:H4) causadora de eventos epidemiológicos graves como os surtos ocorrido na Alemanha e na França em 2011 que culminaram em elevadas taxas de morbidade e mortalidade (Staji, 2017; Schubert, 2009).

## 7.6 ANÁLISE ESPACIAL

Os dados laboratoriais georreferenciamento possibilitaram a construção de mapas temáticos que permitiram a localização dos isolados nas Áreas de Risco de Inundação. Com isso foi possível analisar espacialmente os isolados de *E. coli* nas áreas de risco considerando as demais variáveis do estudo.

### Grupos Filogenéticos

No Mapa do total de filogrupos detectados, verificou-se que há distribuição de pontos com recuperação desses isolados nas duas áreas de Risco de Inundação, revelando que as mesmas estão comprometidas com a degradação ambiental por conta do manejo inadequado do esgoto e impacto da ocupação sobre os rios da cidade. O fato de haver pontos com isolados tanto na Área de Risco de Inundação R1 quanto R2 demonstra que as duas oferecem condições preocupantes de contaminação para população residente assim como para transeuntes em eventuais episódios de enchentes ou inundações.

Estudos com isolados de intestinos de animais, observaram que a distribuição de cepas do filogrupos A, B1, B2 e D podem refletir diferenças intergrupos na habilidade de estabelecer uma população no intestino, como parece ser para os filogrupos B2 e D, considerados pelos estudiosos que estes grupos são mais restritos a animais endotérmicos, diferente dos filogrupos A e B1, que parecem ser mais generalistas e recuperados de qualquer grupo vertebrado. Embora estes questionamentos tenham considerado a interação de cepas de *E. coli* no intestino de animais, leva-se em consideração o ambiente externo onde é possível observar interações competitivas entre cepas.

### *Escherichia coli* Diarreiogênica (DEC)

Linhagens patogênicas de *E. coli* já foram associadas a muitos surtos de veiculação hídrica (Chandran & Mazumber, 2015). A contaminação patogênica por *E. coli* do meio ambiente pode ocorrer por meio de esterco e outros resíduos animais, águas residuais e efluentes de estações de tratamento (Balière, 2015; Jang, 2017).

O georreferenciamento dos dados laboratoriais de detecção de genes de enterovirulência de *E. coli* deste estudo demonstrou um padrão disperso por todo município de São Gonçalo, revelando que os locais amostrados apresentam-se contaminados e que todos oferecem risco de infecção a população por patótipos diarreio-genicos de *E. coli* tanto nas áreas R1 e R2. Entretanto, foi observado também que os pontos de coleta localizados na

região central do município apresentaram maior recuperação de isolados por ponto de coleta o que pode representar que nestes locais condições ambientais particulares podem estar contribuindo para a persistência da espécie.

Estudos recentes têm reportado que algumas cepas de *E. coli* podem sobreviver por longo período de tempo, podendo se reproduzir no meio ambiente. Além disso, pesquisas indicam que populações de *E. coli* no ambiente são afetadas por condições ambientais de modo a impactar na sua sobrevivência (Jang, 2017). Fatores bióticos e abióticos podem influenciar o crescimento e a sobrevivência de *E. coli* no ambiente natural (Rochell-Newall, 2015). Além da degradação ambiental devido ao despejo de esgoto sem tratamento e à ocorrência de animais constatados na atividade de campo assim como é possível que outros fatores ambientais podem estar contribuir para persistência assim como a diversidade dos isolados encontrados, das quais poderiam ainda serem capazes de causar patologias.

Vários patótipos diarréiogênicos tem sido reconhecidos com base nas propriedades de virulência e mecanismos de patogenicidade, dentre esses patótipos, STEC e EPEC são responsáveis por frequentes surtos de veiculação hídrica em todo o mundo (Chandran & Mazumber, 2015). Os resultados do presente estudo revelaram que isolados de *E. coli* oriundos da Área de Alto Risco de Inundação (R1) eram carreadores dos genes *stx2* e *escV*, genes específicos dos patótipos STEC e EPEC respectivamente. Os isolados caracterizados como patótipo STEC foram coletados na área onde houve maior recuperação de isolados por ponto de coleta o que contribui para o risco associado a esta área, assim como, possíveis fatores ambientais que possam estar contribuindo para persistência e diversidade encontrada. Esse resultado associado à alta infectividade do patótipo STEC e por se tratar de uma área de alta ocorrência de inundação (R1) representa uma ameaça ainda maior à saúde da população.

Os genes de detecção do patótipo EAEC foram os mais frequentes no estudo e o georreferenciamento revelou ampla dispersão no território estudado. Grande parte dos isolados eram carreadores do gene *astA* relativo ao patótipo EAEC atípico, porém dois isolados carreadores de *aggR*, que representa marcador genético para o patótipo EAEC típico, apresentaram co-ocorrência com os genes *stx2* e *escV* localizados na Área R1. Vale ressaltar, que o isolado carreador dos genes *aggR/stx2* foi coletado na região central do município onde houve maior recuperação de isolados por ponto de coleta o que reforça a diversidade detectada nesta área.

Esses resultados remetem a questão de que a sobrevivência de *E. coli* no ambiente e a sua reconhecida plasticidade genética somada as condições ambientais propícias podem contribuir para a emergência de novos padrões de virulência e alertam para necessidade da

adoção de ações para conter possíveis fontes poluidoras. O despejo de esgoto nos rios além de causar a degradação de corpos d'água e a perda da qualidade para usos mais exigentes, também contribui para o ciclo da espécie pesquisada, de modo que circulação de linhagens virulentas pode impactar na saúde pública. Além disso, deve ser considerada a facilidade com que as populações se deslocam atualmente e a possibilidade de indivíduos assintomáticos contribuírem para o ciclo da *E. coli* o que pode agravar ainda mais os impactos devido a possibilidade de maior alcance de cepas virulentas.

Para tanto, autoridades sanitárias devem desenvolver ações para conter este cenário em longo prazo através de intervenções para o saneamento ambiental. Além disso, em situações de ocorrências de inundação, medidas emergenciais pontuais de recuperação pós-desastres devem estar programadas com a finalidade de inviabilizar a disseminação de doenças associadas principalmente a *E. coli*. Desta forma o conhecimento das áreas de inundação propostas neste estudo podem ser utilizadas para gestão municipal.

### **Reservatórios Animais de *E. coli***

Os mapas sobre os dados laboratoriais referentes à filogrupagem e à enterovirulência foram sobrepostos à presença de animais domésticos, suínos e bovinos em campo. A região centro-sul da Área de Risco de Inundação R1 (Figura 23 e 24) foi o local em que mais foram recuperados isolados com classificação dos filogrupos A, B1 e B2, neste os grupos A e B2 tem os pontos de maior proporção. A mesma localidade também acumula as maiores proporções de amostras com enquadramento de patótipos de *E. coli*, sugerindo o papel desses animais na contaminação do ambiental, especialmente o patótipo STEC associado com a presença do patótipo STEC assim como a presença do híbrido STEC/EAEC.

O papel de diferentes espécies animais como carreadores assintomáticos de EHEC/STEC tem sido extensivamente estudado nos últimos anos (Gomes, 2016). Além de bovinos, que é o mais comum reservatório natural, a presença deste patógeno tem sido identificada em fezes de búfalos, carneiros, porcos, pássaros e peixes. A presença de EHEC/STEC no ambiente é outra fonte de preocupação já que eles podem sobreviver no solo, esterco, pastos e água, representando um importante veículo de transmissão (Lascowski, 2013; Gomes, 2016).

A presença do patótipo EAEC pode não estar associada aos animais, pelos menos, EAEC atípica encontrada nestes estudo. Resultados de algumas pesquisas apontam que animais podem não ser um reservatório de EAEC. O gene *stx* pode ser adquirido por transferência horizontal de genes levando a emergência de *E. coli* enteroagregativa produtora

de shigatoxina. Este modelo foi sugerido por Rasko e colaboradores para explicar a emergência da epidemia com a cepa 104:H4 (Bibbal, 2014; Bako, 2014; Rasko, 2011).

A presença de animais domésticos verificada no estudo pode ter contribuído para o isolamento da espécie estudada. A falta de comprometimento com posse responsável de animais no Brasil é um fato grave e é uma das mais urgentes construções jurídicas do Direito Ambiental (Bortolini, 2004; Santana, 2004), o abandono de animais e a falta de uma efetiva política pública de controle permite que animais vaguem por diversos ambientes muitas vezes submetidos a condições que viabilizam o ciclo de diversas zoonoses. *Escherichia coli* também está presente na microbiota intestinal de cães e gatos, e envolve cepas do patotipo STEC (Broes, 1993). No Brasil cepas de *E. coli* foram isoladas de cães e em todos os investigados houve a presença de genes *stx* (*stx1* e *stx2*) por PCR (Paula, 2009).

### **Abastecimento de Água e Esgotamento Sanitário**

Os mapas do indicador de Proporção de Domicílios Servidos por Rede de Abastecimento de Água e de Proporção de Domicílios Servidos por Esgotamento Sanitário referente aos dados disponibilizados pelo Censo 2010 (IBGE) apresentaram percentuais muito baixos nos bairros a norte do município de São Gonçalo. Segundo os dados da PMSG esta região está situada à jusante dos rios que cortam o município, trata-se de uma região de relevo plano que embora esteja antropizado apresenta fragmentos importantes de manguezal que gera uma espécie de zona de transição, muitos destas áreas fazem parte de unidades de conservação da natureza decretadas pelo governo federal e municipal, denominadas Área de Proteção Ambiental de Guapimirim e de Itaoca respectivamente.

Com a sobreposição dos dados pontuais laboratoriais deste estudo foi verificado que esta região apresentou isolamento de cepas de *E. coli* assim como genes de enterovirulência, o que demonstra que esta localidade apresenta contaminação fecal e risco de infecção para população que entra em contato com estas águas. Em eventos de inundações, fontes alternativas de água podem ter a qualidade de potabilidade comprometida, já que as águas do extravasamento dos rios podem atingir amplas áreas que podem estar ocupadas por residências.

Acredita-se que as taxas de sobrevivência de *E. coli* no ambiente aquático sejam afetadas por uma série de interações com o meio ambiente (grandes flutuações em suas características físico-químicas) e com a biota aquática (Jang, 2017). No entanto, enquanto um grande número de estudos que foram realizados em áreas marinhas costeiras e lagos (Alm, 2012) informações sobre os padrões espaciais, diversidade genética e distribuição temporal de

bactérias fecais em sistemas semi-fechados e ambientes de transição, caracterizada por movimentos de maré periódicos ainda são escassos. Na região mais central do município foi encontrada uma situação mais satisfatória em relação aos indicadores pesquisados, entretanto houve uma recuperação muito importante de isolamento de *E. coli* assim como enquadramento diversificado de patótipos. Esta região também apresenta relevo plano e está à montante da área supracitada (à norte próximo ao ambiente costeiro), de forma que aspectos relativos à contaminação destas áreas possam influenciar áreas logo a baixo desta região mais central como verificado por Perini (Penini, 2015).

A partir dos mapas foi possível verificar um agregado de bairros na porção central do município de leste a oeste com resultados mais satisfatórios de abastecimento de água, em relação ao esgotamento sanitário esta condição foi mais precária. Entretanto nesta mesma porção do município foi verificado que os resultados dos dados laboratoriais apresentaram um maior número de isolados por ponto de coleta, ou seja uma importante recuperação de isolados, assim como uma importante diversidade de patótipos de *E. coli*.

Nesta mesma região central, o relevo é bastante plano e está a montante da região supracitada o que possibilita a contribuição de sedimentos que possam carrear a contaminação encontrada neste local para áreas mais a jusante, trata-se de uma porção bastante antropizada do município (PMSG). Segundo Perini (2015), a observação de bactérias fecais também no compartimento bentônico sugere que sedimentos podem acumular *E. coli* por longos períodos, e assim distribuí-las em sedimentos costeiros e águas superficiais localizados próximos a áreas urbanizadas (Perini, 2015).

Em relação ao abastecimento de água, a porção mais a sul do município apresentou um padrão mosaico de situações em que bairros apresentam condições satisfatórias e outros vizinhos não. Nesta porção o saneamento apresentou resultados muito baixos retratando uma região com condições semelhantes às descritas para o norte do município.

Nesta região o relevo também é plano, mas está mais próximo de regiões mais elevadas como os maciços que fazem fronteira com municípios vizinhos, entretanto os vales apresentam urbanização em expansão (PMSG). A baixa infraestrutura em saúde ambiental e o fluxo dos rios podem contribuir como fontes poluidoras para a região mais a jusante, de forma que embora a área central do município tenha apresentado condições mais satisfatórias em relação aos indicadores de saneamento pesquisados, se não houver mudança nos padrões encontrados na região sul as intervenções realizadas mais a jusante poderão não surtir os efeitos esperados a população. Desta forma, a região central que apresenta indicadores com resultados mais satisfatórios e que apresenta aparente infraestrutura ainda pode sofrer com

impacto da contaminação mais a montante, vale ressaltar que nesta questão soma-se a situação de eventos associados a inundação que possibilita contato da população ainda que não habitem áreas de risco.

É importante considerar que existe um grande tempo já transcorrido desde o ultimo censo do IBGE e que é possível que melhorias possam ter ocorrido no município, entretanto, documentos oficiais apontam necessidade de ampliações de abastecimento de água e esgotamento sanitário (Atlas Brasil/ANA, 2017; PMSB, 2012). Os dados sobre a observação de campo nos remetem a uma situação de ampla degradação dos corpos d'água o que pode representar condições subestimadas que os dados censitários podem não contabilizar.

### **Densidade Populacional (IBGE)**

A urbanização é complexa e leva em conta a taxa de urbanização (porcentagem da população urbana total) e a taxa de crescimento urbano. A urbanização dos países subdesenvolvidos (em desenvolvimento) foi mais recente e mais rápida, efetuando-se num contexto econômico e político diferente daqueles dos países desenvolvidos. Tem características originais, que a diferenciam nitidamente da urbanização deste último (Santos, 1981).

Com o mapa que representa a densidade populacional do município de São Gonçalo foi visualizado um padrão espacial concentrado na região central distribuída numa direção de leste a oeste. Com a sobreposição dos dados proporcionais de isolados de *E. coli* por ponto de coleta que foram submetidos a análise laboratorial de filogrupagem e a detecção de gene de enterovirulência (enquadramento de patotipos de *E. coli*) verificou-se que as maiores proporções de recuperação de isolados estiveram presentes em bairros localizados nesta região de maior concentração populacional assim como dos patotipos enquadrados (figura 29 e 30), sugerindo a fonte humana como uma importante origem de contaminação por *E. coli*.

O estudo demonstrou que a filogrupagem das amostras isoladas de *E. coli* foram majoritariamente dos grupos A, B1 e B2, sendo estes dois primeiros grupos representados por cepas comensais podendo haver cepas com potencial diarreiogênico, refletindo que estas áreas estejam contaminadas devido ausência ou tratamento inadequado de esgoto doméstico, entretanto a ocorrência do filogrupo B2 é ainda mais preocupante devido a gravidade de desfecho clínicos que as cepas que pertencem este grupo tem o potencial de causar, como infecções com quadros de infecção extra intestinais graves (Müller, 2007). Quanto aos patotipos de *E. coli*, a diversidade e a presença majoritária de genes do patotipo EAEC representam também uma grave condição, assumindo grande relevância para Saúde Pública

alertando para necessidade de ações tanto para vigilância em saúde quanto para infraestrutura da cidade.

É importante ressaltar que as coletas foram orientadas pelo o georreferenciamento do banco de dados da série histórica de ocorrências de inundação do Município (Defesa Civil 1995-2005), o que permitiu uma proposição de áreas de risco de inundação, além disso, houve um direcionamento da coleta através das rotas de atendimento ao contribuinte pelas entradas de demanda de processos na Secretaria de Meio Ambiente/PMSG, entretanto levando-se em consideração que o estudo objetivava de forma exploratória pesquisar a ocorrência de *E. coli* nas áreas de inundação e que na análise espacial foi verificado que estas áreas se concentram também em áreas mais urbanas que coincidem com áreas mais ocupadas.

Este resultado pode levar a uma consideração importante de que as áreas que sofrem com recorrência de eventos adversos são áreas mais povoadas e impactadas negativamente pela urbanização sobretudo a ocupação de áreas marginais de córregos e rios que, por sua vez, como já mencionado anteriormente são áreas com intensa degradação que pode estar contribuindo para adaptação, persistência e reprodução da espécie pesquisada no ambiente e ainda permitindo condições propícias para sua evolução, como modificações genéticas que podem propiciar a emergência de cepas potencialmente virulentas carreadoras de genes de enterovirulência já reconhecidos para sua detecção ou até mesmo variações com co-ocorrência de genes de patotipos diferentes.

O geoprocessamento pode contribuir para verificar a espacialização de áreas de risco e distribuição da espécie *E. coli* no espaço possibilitando a investigação na área da vigilância em saúde. Na América Latina, a distribuição dos patotipos de *E. coli* é bastante regionalizada e o impacto da diarreia é bastante distinto de um país para o outro (Torres, 2010).

No Brasil, a distribuição de *E. coli* patogênica em diferentes populações e a diversidade em que reflete a variabilidade regional resultando em um cenário complexo desde a indústria de alimentos até o seu impacto nas rotas agrícolas, bem como a interconectividade de viagens. A concepção *One Health* (Saúde Única) pode ser aplicada para entender a doença diarreica oriunda de *E. coli*, pois reconhece a relação entre a saúde e a doença nas interfaces humana, animal e ambiental e tornou-se um viés importante nas ciências médicas e veterinárias. Além disso, essa iniciativa recomenda o uso de tratamento(s), se necessário, para combater os patógenos e promover uma mudança sistêmica no gerenciamento do risco (Torres, 2017).

### **Perfil de elevação do terreno e longitudinal ao longo do Rio Alcântara**

O Rio Alcântara sofreu grandes transformações com obras de engenharia (canalização, retificação, pontes, travessas etc.) para facilitar as edificações e aumentar a infraestrutura urbana. Segundo Vieira e Cunha (2001) as modificações feitas nos canais em áreas urbanas têm provocado mudanças nos processos fluviais, pois com o uso desordenado do solo, o aumento da erosão e das áreas impermeáveis aumenta o assoreamento do rio e as inundações (Vieira, 2017).

Neste estudo observou-se que na Bacia do Rio Alcântara foi encontrada as maiores concentrações de isolados. Utilizando a avaliação da degradação hidromorfológica das bacias dos rios Guaxindiba/Alcântara proposta por Damasco e Cunha (2014) foi possível identificar o perfil longitudinal fluvial que e verificar como se distribuiu os resultados laboratoriais encontrados no presente estudo.

Os pontos de coleta nesta região foram bem representativos devido à distribuição mais acentuada de áreas com maior densidade de pontos quentes (interpolação de Kernel), entretanto vale ressaltar que as rotas de atendimento a processos na Secretaria de Meio Ambiente/ PMSG foram utilizadas para direcionar a coleta. Com o trabalho de Damasco e Cunha (2014) foi possível analisar espacialmente e explorar os pontos coletados de acordo com os setores longitudinalmente ao longo do rio. Com isso foi possível observar que os pontos em que foram obtidas as maiores proporções de isolados por ponto de coleta estiveram presentes no médio curso do rio na transição com o baixo curso do rio, assim como foi acompanhado resultado semelhante para grande diversidade de patótipos de *E. coli*.

O relevo é um aspecto físico que pode possibilitar este resultado, aliado a degradação ambiental do canal que em diversos aspectos pode contribuir para tal ocorrência da espécie, levando em consideração o assoreamento do rio como um fator que modifica a dinâmica do rio, tornando-o mais lântico. Outras condições ambientais como fatores físico-químicos (pH, temperatura, DBO, DQO) podem estar alterados que talvez possam favorecer populações de microrganismos em detrimento de outras. Estas populações que se favorecendo podem ser aloctónes e neste sentido o despejo de esgoto sem tratamento pode alterar toda comunidade com populações de origem fecal que possam se adaptar, e cepas podem até mesmo se especializar ao ambiente aberto.

Damasco e Cunha (2014) realizaram análise hidromorfológica de pontos selecionados da Bacia do Guaxindiba/Alcântara. Os trechos considerados mais degradados apresentaram estágio crítico de degradação estes pontos estão mais a jusante, no baixo curso do rio. No

médio curso o ponto avaliado foi classificado como estágio avançado de degradação. Mais a montante da bacia foi o trecho mais preservado, muito embora esteja classificado como intermediário para a avaliação realizada.

Com o alto grau de comprometimento das planícies de inundação somado a análise de dados de inundação da Defesa Civil foi inferido pelo autor (Damasco e Cunha, 2014) que as inundações concentram-se nas proximidades dos trechos com morfologia degradada, os resultados sugerem que o avanço do grau de degradação dos canais seja diretamente proporcional ao aumento da ordem hierárquica.

Com o georreferenciamento dos dados do mapeamento realizado por Damasco e Cunha (2014) em articulação com os resultados encontrados no presente trabalho foi possível verificar que os pontos de coleta com grande recuperação de isolados que foram submetidos à filogrupagem e detecção de genes de enterovirulência para *E. coli* coincidem com os pontos de degradação avançada e críticas. Com a análise sobre o perfil de elevação de terreno também se verificou que a área apresenta relevo plano com poucos e sem elevações e que o trecho que vai da área de transição entre o médio ao baixo curso apresenta suaves depressões. É possível que intervenções estruturais ou até mesmo o impacto relativo à degradação possam estar propiciando tais variações.

Já é reconhecido que cepas de *E. coli* estão envolvidas em muitos surtos de infecção transmitidas pela água ao redor do mundo (Jang, 2017; Chandran e Mazumder, 2015). A contaminação do ambiente por *E. coli* patogênica pode ocorrer através de esterco, esgoto com fezes de animais, água residual de abatedouros e efluentes de plantas de tratamento de esgoto (Bako, 2017; Balière, 2015). Sua prevalência no ambiente não tem sido extensivamente examinada em grandes detalhes. Isto enfatiza a necessidade de estudos adicionais para entender a ecologia destas bactérias no ambiente (Jang, 2017).

Mugnai (2015) mostrou que enterobactérias viáveis estão presentes na zona hiporreica (ligação entre a superfície e as águas subterrâneas) e provavelmente onde se reproduzem, também demonstrou que as bactérias entéricas estão distribuídas de maneira heterogênea entre os locais amostrados. Sua variação espacial foi relacionada a fatores ambientais e parâmetros físico-químicos no interior da HZ e pode desempenhar um papel fundamental na diversidade e distribuição microbiana dentro desses ecossistemas. Nesta perspectiva o impacto negativo devido à contaminação de corpos d'água superficiais por esgoto pode ainda contribuir para a deterioração destes domínios podendo ser mais amplos devido à dinâmica hídrica, sendo um fator limitador ou tornando-o mais caro devido à necessidade de adoção de tratamentos cada vez mais custosos para o aproveitamento deste recurso essencial a vida como o direito

humano a água potável assim como para o uso em diversos processos produtivos.

No presente estudo foi possível detectar isolados potencialmente virulentos e patotipos diarréiogênicos STEC, ETEC, EAEC e EPEC. Foi verificada a presença majoritária de EAEC que alerta para o seu importante impacto na saúde humana devido relatos de quadros persistentes de diarreia e retardo no crescimento infantil. Soma-se ao fato que a co-ocorrência de genes deste patotipo com genes de enterovirulência para STEC e EPEC podem potencializar a expressão da virulência. Mais pesquisas são necessárias, mas nesse estudo foi sugerido que condições ambientais encontradas como o perfil do recheio associado a ampla degradação ambiental e falhas nas soluções para saneamento ambiental possam estar contribuindo para o ciclo e a preservação da bactéria pesquisada.

## 8 Conclusões

- Isolados de *Escherichia coli* com potencialidades de virulência circulam amplamente em áreas de Alto e Baixo Risco de Inundação no município de São Gonçalo. A contaminação dessas áreas por esses microrganismos representa um risco à saúde humana, especialmente, durante os eventos de inundação quando é maior a exposição por águas residuais resultantes do escoamento superficial;
- A tipagem de Clermont revelou que a população de *E. coli* isolada é filogeneticamente diversa, constituída por linhagens distintas, com potenciais habilidades em causar doenças diversas;
- A investigação de marcadores genéticos de enteropatogenicidade em isolados bacterianos permitiu detectar a circulação de patotipos diarreiogênicos, agentes de infecções intestinais de amplo espectro clínico, inclusive, podendo evoluir para quadros de grande severidade e morte. A diversidade de genótipos de enterovirulência e a ocorrência de patotipos híbridos reforçam a característica plasticidade genética da espécie;
- A observação de animais diversos em áreas urbanas e rurais, principalmente, nas áreas de alto risco de inundações, onde foram também obtidos isolados potencialmente virulentos, reforça o papel desses animais como potenciais reservatórios ambientais, especialmente, para as linhagens zoonóticas;
- A análise espacial mostrou que as áreas com maiores densidades demográficas e deficiência no esgotamento sanitário são as de maiores risco de contaminação por isolados *E. coli* potencialmente virulenta e correspondem, principalmente, às áreas de alto risco de inundação alertando para investimentos em saneamento e gestão ambiental;
- O mapa do perfil de elevação e longitudinal do Rio Alcântara (área de alto Risco de Inundação) revelou que padrões geomorfológicos como superfícies de aplanamentos e depressões, estão co-localizados com aglomerados bacterianos, sugerindo que o curso do rio e características do relevo fluvial podem favorecer o depósito de isolados

bacterianos e, conseqüentemente, contribuir para o risco de exposição humana a esses enteropatógenos;

- O geoprocessamento se mostrou uma ferramenta de análise de extrema importância para o mapeamento do território, permitindo definir a distribuição espacial de isolados de *E. coli* potencialmente virulentos e correlacionar esses dados com os indicadores ambientais dos espaços geográficos;
- O conjunto dos dados obtidos revelou que as águas superficiais de áreas de alto e baixo risco de inundação, localizadas no município de São Gonçalo estão contaminadas por *E. coli* potencialmente virulenta. Considerando as características de vulnerabilidade do território, especialmente, após eventos hidrológicos, nossos resultados visam alertar para ações específicas na área de gestão de riscos a desastres no município de São Gonçalo.

## Referências

AGUIAR, V.M.C.; NETO, J.A.B.; RANGEL, C.M. Eutrophication and hypoxia in four streams discharging in Guanabara Bay, RJ, Brazil, a case study. **Marine Pollution Bulletin**, 62: 1915–1919. 2011.

ALMEIDA A.S.; MEDRONHO, R.A.; WERNECK, G.L. Identification of risk areas for visceral leishmaniasis in Teresina, Piauí State, Brazil. **Am J Trop Med Hyg**, v.84, p.681–687, 2011.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater 19<sup>a</sup> ed. Washington: **American Public Health Association**, 1995.

ARAÚJO, S. et al. Characterization of antibiotic resistant and pathogenic *Escherichia coli* in irrigation water and vegetables in household farms. **International Journal of Food Microbiology**, v. 257, p. 192–200, set. 2017.

ARAÚJO, FV et al. Avaliação da qualidade das águas de seis rios de São Gonçalo e do risco de contaminação à Baía de Guanabara, RJ. **Revista Biociências**, v 21 no 1, p. 01-13. 2015.

AYULO AM, MACHADO RA, SCUSSEL VM. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fish and sea food from the Southern region of Brazil. **Int J Food Microbiol**. 1994; 24: 171-8.

AVILA-PIRES, FD, Ecologia, In: COURA, J. R. **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2005.

BAKER, C. A. et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in food: Incidence, ecology, and detection strategies. **Food Control**, v. 59, p. 407–419, jan. 2016.

BAKO, E. et al. Characterization of Diarrheagenic *Escherichia coli* Isolated in Organic Waste Products (Cattle Fecal Matter, Manure and, Slurry) from Cattle's Markets in Ouagadougou, Burkina Faso. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 10, p. 1100, 22 set. 2017.

BARBOSA, C. S. et al. Turismo de risco para esquistossomose mansônica em Porto de Galinhas, Estado de Pernambuco, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 6, n. 3, p. 51–58, set. 2015.

BARCELLOS, C.; RAMALHO, W. Situação atual do Geoprocessamento e da análise de dados espaciais em saúde no Brasil. IP: **Informática Pública, Belo Horizonte**, v. 4, n. 2, p. 221-230, 2002.

BAUDRY, B. et al. A sensitive and specific DNA probe to identify enteroaggregative *Escherichia coli*, a recently discovered diarrheal pathogen. **The Journal of infectious diseases**, v. 161, n. 6, p. 1249–1251, jun. 1990.

BEHIRY, I. K. et al. Enteropathogenic *Escherichia coli* associated with diarrhea in children in Cairo, Egypt. **TheScientificWorldJournal**, v. 11, p. 2613–2619, 2011.

BERALDO, L. G. et al. Detection of Shiga toxigenic (STEC) and enteropathogenic (EPEC) *Escherichia coli* in dairy buffalo. **Veterinary microbiology**, v. 170, n. 1–2, p. 162–166, 14 maio 2014.

BIBBAL, D. et al. Slaughterhouse effluent discharges into rivers not responsible for environmental occurrence of enteroaggregative *Escherichia coli*. **Veterinary microbiology**, v. 168, n. 2–4, p. 451–454, 31 jan. 2014.

BIELASZEWSKA, M. et al. Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. **The Lancet. Infectious diseases**, v. 11, n. 9, p. 671–676, set. 2011.

BLAUSTEIN, R. A. et al. *Escherichia coli* survival in waters: Temperature dependence. **Water Research**, v. 47, n. 2, p. 569–578, fev. 2013.

BLANCO, J. E. et al. Serotypes of *Escherichia coli* isolated from septicaemic chickens in Galicia (northwest Spain). **Veterinary microbiology**, v. 61, n. 3, p. 229–235, 31 mar. 1998.

BORGES, C. A. et al. Shiga toxigenic and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* in the feces and carcasses of slaughtered pigs. **Foodborne pathogens and disease**, v. 9, n. 12, p. 1119–1125, dez. 2012.

BORTOLOTTI, R & D'AGOSTINO, RG. Ações pelo controle reprodutivo e posse responsável de animais domésticos interpretadas à luz do conceito de metacontingência. **Revista Brasileira de Análise do Comportamento / Brazilian Journal of Behavior Analysis**, VOL. 3, NO. 1, 17-28. 2007.

BORZI, M. M. et al. Characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from free-range helmeted guineafowl. **Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]**, v. 49 Suppl 1, p. 107–112, nov. 2018.

BRASIL. MINISTERIO DO MEIO AMBIENTE. Lei nº 9433 de janeiro 1997. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/Leis/L9433.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L9433.htm). Acesso em 19 fev. 2019.

BRAY, J. Isolation of antigenically homogenous strains of *Bacterium coli neopolitimum* from summer diarrhoea of infants. **J Pathol Bacterium**. 57(2): 239-247. 1945.

BRENNAN, F. P. et al. Long-term persistence and leaching of *Escherichia coli* in temperate maritime soils. **Applied and environmental microbiology**, v. 76, n. 5, p. 1449–1455, mar. 2010.

BYAPPANAHALLI, M.N., NEVERS, M.B., WHITMAN, R.L. AND ISHII, S. Application of a microfluidic quantitative polymerase chain reaction technique to monitor

bacterial pathogens in beach water and complex environmental matrices. **Environ Sci Technol Lett** 2, 347–351.2015.

CÂMARA, G. Análise Espacial e Geoprocessamento. In: Druck, S.; Carvalho, M.S.; Câmara, G.; Monteiro, A.V.M. (eds). Análise Espacial de Dados Geográficos. Brasília, EMBRAPA, 2004. Disponível em: <http://www.dpi.inpe.br/gilberto/livro/>

CAP, M. et al. Frequency, characterization and genotypic analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef slaughterhouses of Argentina. **Revista Argentina de microbiologia**, v. 51, n. 1, p. 32–38, mar. 2019.

CAPRIOLI, A. et al. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. **Veterinary research**, v. 36, n. 3, p. 289–311, jun. 2005.

CARVALHO, MS & SOUZA-SANTOS, R. **Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro**, 21(2):361-378, mar-abr, 2005

CARVALHO, S.; MAGALHÃES, M. D. A. F. M.; MEDRONHO, R. D. A. Analysis of the spatial distribution of dengue cases in the city of Rio de Janeiro, 2011 and 2012. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, 1 jan. 2017.

CARVALHO, V. M. et al. Characterization of monkey enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and human typical and atypical EPEC serotype isolates from neotropical nonhuman primates. **Journal of clinical microbiology**, v. 41, n. 3, p. 1225–1234, mar. 2003.

CASTRO A.L.C. **Glossário de Defesa Civil**: estudo de riscos e medicina de desastres. Brasília: MPO/Departamento de Defesa Civil. 283 p. 1998.

CDC. Outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 infections associated with sprout consumption – Europe and North American, May-July 2011. **Morb Mortal Wkly Rep**, v 62: 1029-10231. 2013.

CDC. Diarrhea: Common Illness, Global Killer; CDC: Atlanta, GA, USA, p. 4. 2016

CHANDRAN, A.; MAZUMDER, A. Pathogenic Potential, Genetic Diversity, and Population Structure of *Escherichia coli* Strains Isolated from a Forest-Dominated Watershed (Comox Lake) in British Columbia, Canada. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 5, p. 1788–1798, 1 mar. 2015.

CHAIBLICH, J. V. et al. Estudo espacial de riscos à leptospirose no município do Rio de Janeiro (RJ). **Saúde em Debate**, v. 41, n. spe2, p. 225–240, jun. 2017.

CHANDRAN, A.; MAZUMDER, A. Pathogenic Potential, Genetic Diversity, and Population Structure of *Escherichia coli* Strains Isolated from a Forest-Dominated Watershed (Comox Lake) in British Columbia, Canada. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 5, p. 1788–1798, 1 mar. 2015.

CHANDRASEKARAN, R. et al. Geographic isolation of *Escherichia coli* genotypes in sediments and water of the Seven Mile Creek — A constructed riverine watershed. **Science of The Total Environment**, v. 538, p. 78–85, dez. 2015.

CHIACCHIO, R. M. G.-D. et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC): Zoonotic risks associated with psittacine pet birds in home environments. **Veterinary Microbiology**, v. 184, p. 27–30, fev. 2016.

CHERIFI, A. et al. Clonal relationships among *Escherichia coli* serogroup O78 isolates from human and animal infections. **Journal of clinical microbiology**, v. 32, n. 5, p. 1197–1202, maio 1994.

CLERMONT, O.; BONACORSI, S.; BINGEN, E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 10, p. 4555–4558, out. 2000.

CLERMONT, O. et al. Characterization of the cryptic *Escherichia* lineages: rapid identification and prevalence. **Environ Microbiol.** v.13, p. 2468–2477, 2011.

CLERMONT, O. et al. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups: A new *E. coli* phylo-typing method. **Environmental Microbiology Reports**, v. 5, n. 1, p. 58–65, fev. 2013.

COELHO, C. V. L. et al. Brazilian Indigenous Children as Carriers of Diarrheogenic &lt;i>Escherichia coli</i> Pathotypes. **Advances in Infectious Diseases**, v. 08, n. 04, p. 200–216, 2018.

CONCEIÇÃO RA, LUDOVICO MS, ANDRADE CGTJ, YANO T. Human sepsis-associated *Escherichia coli* (SEPEC) is able to adhere to and invade kidney epithelial cells in culture. **Braz J Med Biol Res.** 45:417–24. 2012.

CONRAD, C. C. et al. Farm Fairs and Petting Zoos: A Review of Animal Contact as a Source of Zoonotic Enteric Disease. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 14, n. 2, p. 59–73, fev. 2017.

CORZO-ARIYAMA, H. A. et al. Phylogroups, pathotypes, biofilm formation and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates in farms and packing facilities of tomato, jalapeño pepper and cantaloupe from Northern Mexico. **International Journal of Food Microbiology**, v. 290, p. 96–104, fev. 2019.

CROXEN, M. A.; FINLAY, B. B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 1, p. 26–38, jan. 2010.

CROXEN, M. A. et al. Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 822–880, 1 out. 2013.

CZECZULIN, JR. et al. Phylogenetic analysis of enteroaggregative and diffusely adherent *Escherichia coli*. **Infect Immun.** 2692-2699. 1999.

DALE AP, Woodford N. Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC): disease, carriage and clones. **J Infect**, 71:615–26. 2015.

DAMASCO, F. S.; CUNHA, S. B. DA. Avaliação da degradação hidromorfológica de canais como subsídio à gestão do risco de inundações urbanas: bacia dos rios Guaxindiba/Alcântara (Rio de Janeiro, Brasil). In: LOURENÇO, L. (Ed.). . **Multidimensão e territórios de risco**. 1. ed. [s.l.] Imprensa da Universidade de Coimbra, 2014. p. 297–302.

DEAN, P; KENNY, B. The effector repertoire of enteropathogenic *E. coli* gaining upon the host cell. **Curr Opin Microbiol**. 12 (1): 101-109. 2009.

DEFESA CIVIL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO. <http://www.rj.gov.br/web/imprensa/exibeconteudo?article-id=2862196> Acesso em [07/08/2016]

DENAMUR, E.; CLERMONT, O.; GORDON, D. Guide to the various phylogenetic classification schemes for *Escherichia coli* and the correspondence among schemes. **Microbiology**, v. 161, n. 5, p. 980–988, 1 maio 2015.

DESMARAIS, T. R.; SOLO-GABRIELE, H. M.; PALMER, C. J. Influence of Soil on Fecal Indicator Organisms in a Tidally Influenced Subtropical Environment. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 3, p. 1165–1172, 1 mar. 2002.

DIAS, D. et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in wild ungulates. **Science of The Total Environment**, v. 651, p. 203–209, fev. 2019.

DOS SANTOS, E.C.C et al. *Escherichia coli* O26 and O113:H21 on cand beef from a slaughterhouse located in Mato Grosso, **Brazil. Foodborne Pathog. Dis.** 2018.

ELIAS, W.P. et al. *Escherichia coli* Enteroagregativa (EAEC). In: Trabulsi LR & Alterthum F, editores. **Microbiologia**. 5ª ed. São Paulo: Atheneu. p. 295-299. 2008.

ELLIOTT, P.; WARTENBERG, D. Spatial Epidemiology: Current Approaches and Future Challenges. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 9, p. 998–1006, jun. 2004.

ESCHER, M. et al. A severe foodborne outbreak of diarrhoea linked to a canteen in Italy caused by enteroinvasive *Escherichia coli*, an uncommon agent. **Epidemiology and Infection**, v. 142, n. 12, p. 2559–2566, dez. 2014.

ESCOBAR, L. E.; CRAFT, M. E. Advances and Limitations of Disease Biogeography Using Ecological Niche Modeling. **Frontiers in Microbiology**, v. 07, 5 ago. 2016.

FAN, J. et al. Evaluating spatial-temporal variations and correlation between fecal indicator bacteria (FIB) in marine bathing beaches. **Journal of Water and Health**, v. 13, n. 4, p. 1029–1038, dez. 2015.

FERNANDES, R. A. N. Notas para uma história ambiental de São Gonçalo: o processo de ocupação do território gonçalense, In: Santos M.G. **Estudos ambientais em regiões metropolitanas: São Gonçalo**. Rio de Janeiro, RJ: Ed. UERJ. 2012.

FONSECA, E.M. et al. Study of pollutant distribution in the Guaxindiba Estuarine System SE Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, 82(1-2): 45–54. 2014.

FORMAL, SB; HALE, TI; SANSONETTI, PJ. Invasive enteric pathogens. **Rev Infect Dis**. 5, 702-707. 1983.

FRANZOLIN, MR et al. Prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* in children with diarrhea in Salvador, Bahia. **Mem Inst. Oswaldo Cruz**. 100 (4): 359-363. 2005.

GARABAL, J. I. et al. Serogroups of *Escherichia coli* isolated from piglets in Spain. **Veterinary Microbiology**, v. 48, n. 1–2, p. 113–123, jan. 1996.

GARCIA, BG; Ooka, T, et al. Genetic relatedness and virulence properties of enterogenic of enteropathogenic *Escherichia coli* strains of serotype O119:H6 expressing localized adherence or localized and aggregative adherence-like patterns on HeLa cells. **Int J Med Microbiol**. 306 (3): 152-164. 2016.

GIRÃO, DM et. al. Classifying *Escherichia coli*. **Emerging Infectious Diseases**. v.1, n.8, p. 1297-1298, 2006.

GUTH, BEC, Picheth CF, Gomes TAT. *Escherichia coli* situation in Brazil. In: Torres AG, ed. Pathogenic *Escherichia coli* in Latin America. Sharjah, United Arab Emirates: Betham Science Publishers Ltd. 162–178. 2010.

GUTH, BEC. *Escherichia coli* Enterotoxigênica (ETEC). In: Trabulsi LR & Alterthum F, editores. *Microbiologia*. 5ª ed. São Paulo: Atheneu. p. 301-305, 2008.

GOMES, T.A.T. et. al. *Escherichia coli* Enteropatogênica (EPEC). In: Trabulsi LR & Alterthum F, editores. **Microbiologia**. 5ª ed. São Paulo: Atheneu; p. 281-287, 2008.

GOMES, T. A. T. et al. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 3–30, dez. 2016.

GOMI, R. et al. Characterization of Pathogenic *Escherichia coli* in River Water by Simultaneous Detection and Sequencing of 14 Virulence Genes. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 11, p. 6800–6807, 2 jun. 2015.

GONÇALVES, N. V. et al. Distribuição espaço-temporal da leptospirose e fatores de risco em Belém, Pará, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 21, n. 12, p. 3947–3955, dez. 2016.

GONZALEZ, A.G. et al. Virulence markers and cell invasion ability of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from healthy dairy cattle. *J. Appl. Microbiol.* 121, 1130–1143. 2016.

GORDON, D. M. et al. Assigning *Escherichia coli* strains to phylogenetic groups: multi-locus sequence typing versus the PCR triplex method: MLST versus Clermont method. ***Environmental Microbiology***, v. 10, n. 10, p. 2484–2496, out. 2008.

HALE CR et al. Estimates of enteric illness attributable to contact with animals and their environments in the United States. ***Clin Infect Dis.*** 54:S472–S479. 2012.

HAMELIN, K. et al. A Virulence and Antimicrobial Resistance DNA Microarray Detects a High Frequency of Virulence Genes in *Escherichia coli* Isolates from Great Lakes Recreational Waters. ***Applied and Environmental Microbiology***, v. 72, n. 6, p. 4200–4206, 1 jun. 2006.

HAMILTON, M. J. et al. Large scale analysis of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from Avalon Bay, CA. ***Water Research***, v. 44, n. 18, p. 5463–5473, out. 2010a.

HAMILTON, M. J. et al. Large scale analysis of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from Avalon Bay, CA. ***Water Research***, v. 44, n. 18, p. 5463–5473, out. 2010b.

HARADA, H. et al. Pathotyping of *Escherichia coli* isolated from community toilet wastewater and stored drinking water in a slum in Bangladesh. ***Letters in Applied Microbiology***, v. 66, n. 6, p. 542–548, jun. 2018.

HERNANDES, R. T. et al. An overview of atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. ***FEMS Microbiology Letters***, v. 297, n. 2, p. 137–149, ago. 2009.

HU, J.; TORRES, A. G. Enteropathogenic *Escherichia coli*: foe or innocent bystander? ***Clinical Microbiology and Infection***, v. 21, n. 8, p. 729–734, ago. 2015.

HUANG, D.B. et al. Mohanty A, Dupont HL, Okhuysen PC, Chiang T. A review of an emerging enteric pathogen: enteroaggregative *Escherichia coli*. ***Journal of Medical Microbiology***. v. 55, p.1303-1311. 2006

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Censo Demográfico 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 5 dez. 2018.

INSTITUTO TRATA BRASIL. Disponível em: <<http://www.tratabrasil.org.br/>>. Acesso em: 19 fev. 2019.

ISHII, S.; SADOWSKY, M. J. *Escherichia coli* in the Environment: Implications for Water Quality and Human Health. ***Microbes and Environments***, v. 23, n. 2, p. 101–108, 2008.

ISHII, S. et al. *Cladophora* (Chlorophyta) spp. Harbor Human Bacterial Pathogens in Nearshore Water of Lake Michigan. ***Applied and Environmental Microbiology***, v. 72, n. 7, p. 4545–4553, 1 jul. 2006.

ISHII, S. et al. Factors controlling long-term survival and growth of naturalized *Escherichia coli* populations in temperate field soils. **Microbes and Environments**, v. 25, n. 1, p. 8–14, 2010.

JAMIESON, R. et al. Transport and deposition of sediment-associated in natural streams. **Water Research**, v. 39, n. 12, p. 2665–2675, jul. 2005.

JANG, J. et al. Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications-a review. **Journal of Applied Microbiology**, v. 123, n. 3, p. 570–581, set. 2017.

JANSEN, W. et al. Foodborne diseases do not respect borders: Zoonotic pathogens and antimicrobial resistant bacteria in food products of animal origin illegally imported into the European Union. **The Veterinary Journal**, v. 244, p. 75–82, fev. 2019.

JOFFRÉ, E. et al. Identification of new heat-stable (STa) enterotoxin allele variants produced by human enterotoxigenic *Escherichia coli* (EPEC). **International Journal of Medical Microbiology**, v. 306, n. 7, p. 586–594, nov. 2016.

KABIRU, L. et al. Detection of Pathogenic *Escherichia coli* in Samples Collected at an Abattoir in Zaria, Nigeria and at Different Points in the Surrounding Environment. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 12, n. 1, p. 679–691, 13 jan. 2015.

KAGAMBÈGA, A. et al. Prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* virulence genes in the feces of slaughtered cattle, chickens, and pigs in Burkina Faso. **MicrobiologyOpen**, v. 1, n. 3, p. 276–284, set. 2012.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 123–140, fev. 2004.

KAPER, J. B. Pathogenic *Escherichia coli*. **International Journal of Medical Microbiology: IJMM**, v. 295, n. 6–7, p. 355–356, out. 2005.

KHAN, K. et al. Prevalent fecal contamination in drinking water resources and potential health risks in Swat, Pakistan. **Journal of Environmental Sciences (China)**, v. 72, p. 1–12, out. 2018.

KÖHLER CD, DOBRINDT U. What defines extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*? **Int J Med Microbiol**. 301:642–64. 2011

KOLENDA, R.; BURDUKIEWICZ, M.; SCHIERACK, P. A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of pathogenic *Escherichia coli* of calves and the role of calves as reservoirs for human pathogenic *E. coli*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 5, 12 mar. 2015.

KONEMAN EW, ALLEN SD, DOWELL VR, SOMMERS HM. **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 6ª ed. São Paulo: Medicina panamericana editora do Brasil ltda; 1565 p. 2008.

KEMMETT, K. et al. The contribution of systemic *Escherichia coli* infection to the early mortalities of commercial broiler chickens. **Avian Pathology: Journal of the W.V.P.A**, v. 43, n. 1, p. 37–42, 2014.

LASCOWSKI, K. M. S. et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in drinking water supplies of north Paraná State, Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 114, n. 4, p. 1230–1239, abr. 2013.

LEVINE MM, EDELMAN R. Enteropathogenic *Escherichia coli* of classic serotypes associated with infant diarrhea: epidemiology and pathogenesis. **Epidemiol. Rev.** 6:31–51. 1984.

LEVINE M.M. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. **Journal of Infectious Diseases**. 155: 377-389. 1987.

MAJOWICZ, S. E. et al. Global Incidence of Human Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli* Infections and Deaths: A Systematic Review and Knowledge Synthesis. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 11, n. 6, p. 447–455, jun. 2014.

MALUTA, R. P. et al. Overlapped sequence types (STs) and serogroups of avian pathogenic (APEC) and human extra-intestinal pathogenic (ExPEC) *Escherichia coli* isolated in Brazil. **PloS One**, v. 9, n. 8, p. e105016, 2014.

MANGES, A. R.; JOHNSON, J. R. Food-borne origins of *Escherichia coli* causing extraintestinal infections. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 55, n. 5, p. 712–719, set. 2012.

MARION, J. W. et al. Association of gastrointestinal illness and recreational water exposure at an inland U.S. beach. **Water Research**, v. 44, n. 16, p. 4796–4804, set. 2010.

MARTINEZ, MB. *Escherichia coli* Enteroinvasora (EIEC). In: Trabulsi LR & Alterthum F, editores. **Microbiologia**. 5ª ed. São Paulo: Atheneu; p. 307-309. 2008.

MARTINS FH, GUTH BEC, PIAZZA RM, et al. Diversity of Shigatoxin-producing *Escherichia coli* in sheep flocks of Paraná State, Southern Brazil. **Vet Microbiol**. V. 175, p.150–156, 2015.

MARTINS, RP, SILAVA MC, DUTRA V, NAKAZATO, L, LEITE DS. Preliminary virulence genotyping and phylogeny of *Escherichia coli* from the gut of pigs at slaughtering stage in Brazil. **Meat Sci**. v. 93, p.437–440, 2013.

MELLATA, M.; JOHNSON, J. R.; CURTISS, R. *Escherichia coli* isolates from commercial chicken meat and eggs cause sepsis, meningitis and urinary tract infection in rodent models of human infections. **Zoonoses and Public Health**, v. 65, n. 1, p. 103–113, 2018.

MERCADO, E. C. et al. Isolation of shiga toxin-producing *Escherichia coli* from a South American camelid (*Lama guanicoe*) with diarrhea. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 10, p. 4809–4811, out. 2004.

MOURA, R. A. et al. Clonal relationship among atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from different animal species and humans. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 23, p. 7399–7408, dez. 2009.

MUGNAI, R. et al. A Survey of *Escherichia coli* and *Salmonella* in the Hyporheic Zone of a Subtropical Stream: Their Bacteriological, Physicochemical and Environmental Relationships. **PLOS ONE**, v. 10, n. 6, p. e0129382, 12 jun. 2015.

MÜLLER D. et al. Identification of unconventional intestinal pathogenic *Escherichia coli* isolates expressing intermediate virulence factor profiles by using a novel single-step multiplex PCR. **Applied and Environmental Microbiology**. 73(10): 3380-3390. 2007.

NANDAKAFLE, G. et al. Distribution of Diverse *Escherichia coli* between Cattle and Pasture. **Microbes and environments**, v. 32, n. 3, p. 226–233, 2017.

NARDI, S.M.T. et.al. Geoprocessamento em Saúde Pública: fundamentos e aplicações. Rev Inst Adolfo Lutz. São Paulo, 72(3):185-91. 2013.

Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **ClinMicrobiol Rev.**;11(1):142–201.7, 1998

NATARO, JP; Kaper, JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clin Microbiol Ver.** V.11, p. 142-201. 1998.

OCHOA, T.J.; BARLETTA, F.; CONTRERAS, C.; Mercado E. New insights into the epidemiology of enteropathogenic *Escherichia coli* infection. **Trans R Soc Trop Med Hyg.**102(9):852–856.113. 2008.

NATARO, J. P. Atypical enteropathogenic *Escherichia coli*: typical pathogens? **Emerging infectious diseases**, v. 12, n. 4, p. 696, abr. 2006.

OCHOA, T.J.; BARLETTA, F.; CONTRERAS, C.; Mercado E. New insights into the epidemiology of enteropathogenic *Escherichia coli* infection. **Trans R Soc Trop Med Hyg.**102(9):852–856.113. 2008.

OKEKE, I. N. et al. Multi-locus sequence typing of enteroaggregative *Escherichia coli* isolates from Nigerian children uncovers multiple lineages. **PloS One**, v. 5, n. 11, p. e14093, 23 nov. 2010.

ORSKOV, F; ORSKOV, I; VILLAR, J. Cattle as reservoir of verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. **Lancet** n. 2, p. 276. 1987

PASQUA, M. et al. The Intriguing Evolutionary Journey of Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) toward Pathogenicity. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 5 dez. 2017.

PARMA AE, SANZ ME, VIÑAS MR, ET AL. Toxigenic *Escherichia coli* isolated from pigs in Argentina. **Vet Microbiol.** 2000; 72: 269-76.

PARMA, AE. Conference: Reservoirs. Symposium: Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC): Epidemiology and prevention. In: IV Congresso Argentino de Infectologia. Mar del Plata. Argentina. May7-9. 2004.

PASQUA, M. et al. The Intriguing Evolutionary Journey of Enteroinvasive E. coli (EIEC) toward Pathogenicity. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 2390, 2017.

PATON, J.C. & PATON, AW. Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. **Clinical Microbiology Reviews**. 11(3): 450-479. 1998

PAULA, CJS; MARIN, JM. Multidrug-resistant Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in dogs with diarrhea. **Arq Bras Med Vet Zootec**. n. 61, p. 511-4. 2009.

PERINI, L. et al. Distribution of *Escherichia coli* in a coastal lagoon (Venice, Italy): Temporal patterns, genetic diversity and the role of tidal forcing. **Water Research**, v. 87, p. 155–165, dez. 2015.

PESTANA, AF; BENTANA, A; MERCADO, EC; CATALDI, A; PARMA, AF. *Escherichia coli* animal reservoirs, transmission route and animal disease. **Pathogenic Escherichia coli in Latin American**. 223-248. 2010.

PIORKOWSKI, G. et. al. Reach specificity in sediment E. coli population turnover and interaction with waterborne populations. **Sci. Total Environ**. 496, 402–413, 2014.

PLANO DE CONTINGÊNCIA PARA EMERGÊNCIA EM SAÚDE PÚBLICA POR INUNDAÇÃO. Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. Brasília : Ministério da Saúde. 2014

PLATELL, J. L. et al. Clonal group distribution of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* among humans and companion animals in Australia. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n. 9, p. 1936–1938, set. 2010.

PLATELL, J. L. et al. Multidrug-resistant extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* of sequence type ST131 in animals and foods. **Veterinary Microbiology**, v. 153, n. 1–2, p. 99–108, 21 nov. 2011.

PUÑO-SARMIENTO, et. al. Identification of diarrheagenic *Escherichia coli* strains from avian organic fertilizers. **Int J Environ Res Public Health**. 11:8924–8939, 2014.

QADRI F, et.al. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment and prevention. **Clinical Microbiology Reviews**. 18(3): 465-483. 2005.

RAMOS, C. Perigos naturais devidos a causas meteorológicas: o caso das cheias e inundações. e-LP **Engineering and Technology Journal**, [S.l.], v. 4, june. 2013.

REBELLO, R. C. DE L.; REGUA-MANGIA, A. H. Potential enterovirulence and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from aquatic environments in Rio de Janeiro, Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 490, p. 19–27, ago. 2014.

PREFEITURA DE SÃO GONÇALO. Lei Complementar nº 031/2018. Disponível em: [www.pmsg.gov.br](http://www.pmsg.gov.br). Acesso em 19 fev. 2019.

PREFEITURA DE SÃO GONÇALO. Plano Municipal de Redução de Riscos de São Gonçalo. Defesa Civil. 2005

REGUA-MANGIA, A. H. et al. Genotypic and phenotypic characterization of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) strains isolated in Rio de Janeiro city, Brazil. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 40, n. 2, p. 155–162, 8 mar. 2004.

RIBEIRO, LF, BARBOSA, MMC, PINTO, FR. Shiga toxigenic and enteropathogenic *Escherichia coli* in water and fish rom pay-to-fish ponds. **Lett Appl Microbiol**. 62:216–220, 2015.

RILEY, LW; RENIS, RS; HELGERSON, SD; etal. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. **N Engl J Med**. N. 308, p. 681-5. 1983.

RILEY, L. W. Pandemic lineages of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 5, p. 380–390, maio 2014.

RILEY, LW; RENIS, RS; HELGERSON, SD; etal. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. **N Engl J Med**. N. 308, p. 681-5. 1983.

ROCHELLE-NEWALL, E. A short review of fecal indicator bacteria in tropical aquatic ecosystems: knowledge gaps and future directions. **Front Microbiol** 6, 308, 2015.

PIORKOWSKI, G. S. et al. Characterizing spatial structure of sediment *E. coli* populations to inform sampling design. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 186, n. 1, p. 277–291, jan. 2014.

RAMADAN, H.; AWAD, A.; ATEYA, A. Detection of phenotypes, virulence genes and phylotypes of avian pathogenic and human diarrheagenic *Escherichia coli* in Egypt. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 10, n. 06, p. 584, 30 jun. 2016.

ROSARIO CC, PUENTE JL, VERDUGO-RODRÍGUEZ A, et al. Phenotypic characterization of ipaH+ *Escherichia coli* strains associated with yolk sac infection. **Avian Dis**. 2005; 49: 409-17.

SCHMIDT, M. A. LEEways: tales of EPEC, ATEC and EHEC: EPEC, ATEC, EHEC: LEE-positive *Escherichia coli*. **Cellular Microbiology**, v. 12, n. 11, p. 1544–1552, nov. 2010.

SOUSA, A. I. A. DE et al. Análise espacial e temporal dos casos de aids no Brasil em 1996-2011: áreas de risco aumentado ao longo do tempo. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 3, p. 467–476, set. 2016.

SAROWSKA J et al, Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from diferent sources: recent reports. **Gut Pathog** 2019, 11:10

SAKAZAKI, R.; TAMURA, K.; SAITO, M. Enteropathogenic *Escherichia coli* associated with diarrhea in children and adults. **Japanese Journal of Medical Science & Biology**, v. 20, n. 5, p. 387–399, out. 1967.

SCHAEFER EM. Chicken as reservoir for extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* in Humans, Canada. *J Urol*. 2013;189:153.

SCHMIDT, M.A. LEE ways: tales of EPEC, ATEC and EHEC. *Cellular Microbiology*; 12(11): 1544-1552, 2010.

SCHUBERT, S. et al. Role of intraspecies recombination in the spread of pathogenicity islands within the *Escherichia coli* species. **PLoS pathogens**, v. 5, n. 1, p. e1000257, jan. 2009.

SERRADO, L. São Gonçalo: histórico ambiental. In Anchieta, N et al. Escola e cidade: dos fragmentos da história à cidadania ambiental. S.l.: Interação Gráfica, 2000.

SOLO-GABRIELE, H.M., WOLFERT, M.A., DESMARAIS, T.R., PALMER, C.J., Sources of *Escherichia coli* in a coastal subtropical environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 230–237, 2000.

SOUSA, A.I.A.; PINTO JUNIOR, V.L. Análise espacial e temporal dos casos de aids no Brasil em 1996-2011: áreas de risco aumentado ao longo do tempo. *Epidemiol. Serv. Saúde*, Brasília, v. 25, n. 3, p. 467-476, 2016.

SUGUIO, K. *Geologia Sedimentar*. Ed. Edgard Blücher. 2006.

TABORDA, R. L. M. et al. Characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* among diarrheal children in western Brazilian Amazon. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 55, n. 4, p. 390–396, dez. 2018.

TENAILLON, O. et al. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 3, p. 207–217, mar. 2010.

TORRES, A. G. *Escherichia coli* diseases in Latin America—a ‘One Health’ multidisciplinary approach. **Pathogens and Disease**, v. 75, n. 2, 1 mar. 2017.

TENAILLON, O., SKURNIK, D., PICARD, B., AND DENAMUR, E. (2010) The population genetics of commensal *Escherichia coli*. **Nat Rev Microbiol** 8: 207–217.

TEOPHILO GN, DOS FERNANDES VIEIRA RH, DOS PRAZERES RODRIGUES D, et al. *Escherichia coli* isolated from seafood: toxicity and plasmid profiles. **Int Microbiol.** 2005; 5:11-4

TOMINAGA, L. K. Santoro, J.; Amaral, R. do (orgs). *Desastres naturais: conhecer para prevenir*. São Paulo: Instituto Geológico, 2009.

TRABULSI, L.R. et.al. Epidemiology of diarrhoea disease in South America. In: Tzipori S, ed. *Infectious Diarrhoea in the Young*. Amsterdam: Elsevier Biol. Med. Press:121–125.381, 1985.

TRABULSI, LR.; KELLER, R.; Gomes, TAT. Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. **Emerg Infect Dis**, 8(5):508–513.13. 2002.

TURNER, S.M. et al. Weapons of mass destruction: virulence factors of the global killer enterotoxigenic *Escherichia coli*. **FEMS Microbiology Letters**. 263: 10-20, 2006.

VAN ELSAS, J. D. et al. Survival of *Escherichia coli* in the environment: fundamental and public health aspects. **The ISME Journal**, v. 5, n. 2, p. 173–183, fev. 2011.

VENÂNCIO, T. S.; TUAN, T. S.; NASCIMENTO, L. F. C. Incidence of tuberculosis in children in the state of São Paulo, Brazil, under spatial approach. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 20, n. 5, p. 1541–1547, maio 2015.

XAVIER, D. R. et al. Organização, disponibilização e possibilidades de análise de dados sobre desastres de origem climática e seus impactos sobre a saúde no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 19, n. 9, p. 3657–3668, set. 2014.

## Apêndice – Ficha de Caracterização Ambiental

Ficha de Caracterização Ambiental		
Data:		
Nome do rio:		
Área de coleta:# (referente aos planos)		
Coordenada geográfica do ponto: X , Y		
Bacia Hidrográfica:		
Registro de Inundação:		
1. Serviços de Infraestrutura Sanitária		
Esgoto domestico in natura despejado no ambiente		
<input type="checkbox"/>	Sim	
<input type="checkbox"/>	Não	
Descarte irregular de lixo no ambiente		
<input type="checkbox"/>	Sim	
<input type="checkbox"/>	Não	
2. Caracterização do relevo		
Encosta	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Planície	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Manguezal	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
3. Ocupação Humana		
Próxima ao rio (menos de 30 m)		
<input type="checkbox"/>	Sim	<input type="checkbox"/> Não
Longe do Rio		
<input type="checkbox"/>	Sim	<input type="checkbox"/> Não
Sobre o rio		
<input type="checkbox"/>	Sim	<input type="checkbox"/> Não
4. Presença de animais no peridomicílio		
<input type="checkbox"/>	Sim	<input type="checkbox"/> Não
Especificar:		

## Anexo – Parecer de Dispensada da Comissão de Ética em Pesquisa



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz  
Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca  
Comitê de Ética em Pesquisa



Rio de Janeiro, 09 de abril de 2018.

**Parecer N° 02/2018**

**Título do Projeto:** “*Escherichia coli* potencialmente diarreio gênica em áreas de risco de inundação no Município de São Gonçalo, RJ: uma abordagem laboratorial e espacial”

**Classificação no Fluxograma:** Grupo III

**Será encaminhado à Conep (áreas temáticas especiais) e, portanto, deve aguardar a apreciação final desta para início da execução?** Não

**Pesquisadora Responsável:** Cristiane dos Santos Sanfins

**Orientador:** Dra. Adriana Hamond Regua Mangia

**Instituição Proponente:** Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca – ENSP/Fiocruz

**Tipo do projeto:** Projeto de Dissertação de Mestrado Acadêmico em Saúde Pública e Meio Ambiente – ENSP

**Data de qualificação:** 05/03/2018

**Data de recebimento no CEP-ENSP:** 04/04/2018

**Data de apreciação:** 06/04/2018

O projeto “*Escherichia coli* potencialmente diarreio gênica em áreas de risco de inundação no Município de São Gonçalo, RJ: uma abordagem laboratorial e espacial”, do pesquisador/aluno Cristiane dos Santos Sanfins, conforme versão encaminhada ao Comitê de Ética em Pesquisa da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, em 04/04/2018, não envolve direta ou indiretamente seres humanos, sendo, portanto, dispensado de apreciação ética pelo Sistema CEP-CONEP. Importante ressaltar que, caso haja necessidade de acesso a indivíduos ou a bases de dados ou documentos de acesso restrito no decorrer do desenvolvimento da pesquisa torna-se imprescindível a submissão do projeto ao CEP por meio da Plataforma Brasil, antes de efetuar as modificações.

*Jennifer Braathen Salgueiro*  
Jennifer Braathen Salgueiro

Coordenadora do CEP/ENSP

Jennifer Braathen Salgueiro  
Coordenadora  
Comitê de Ética em Pesquisa  
CEPI/ENSP  
Mat. 1363837

**ANEXO – Protocolo de Soluções Utilizadas no Estudo**

## 1) Reagentes e soluções utilizadas nos ensaios de PCR

## 1.1) Solução tampão Tris-EDTA (TE), pH 7.5

Tris-HCl (LGC Biotecnologia <sup>®</sup> )	10Mm
EDTA (LGC Biotecnologia <sup>®</sup> )	0,1mM

## 1.2) Gel de agarose 1,0% (p/v)

UltraPure Agarose (Invitrogen <sup>®</sup> )	1,3%
TBE 0,5X q.s.p.	100mL

## 1.5) Gel de agarose 1,2% (p/v)

UltraPure Agarose (Invitrogen <sup>®</sup> )	1,2%
TBE 0,5X q.s.p.	100mL