

ARTIGO ORIGINAL

Caracterização fenotípica e genotípica de *Escherichia coli*, potencialmente patogênicas oriundas de estação de tratamento de água

Phenotypic and genotypic characterization of potentially pathogenic Escherichia coli from water treatment plants

Paulo Alfonso Schuroff¹; Tatiane das Neves Burgos²; Nicole Ribeiro de Lima³; Angélica Marim Lopes⁴; Jacinta Sanchez Pelayo⁵

¹ Biomédico, Graduado pela Universidade Estadual de Londrina-UEL.

² Mestre em Microbiologia pela Universidade Estadual de Londrina-UEL.

³ Biomédica, Graduada pela Universidade Estadual de Londrina-UEL.

⁴ Farmacêutica, Graduada pela Universidade Estadual de Londrina-UEL.

⁵ Biomédica, Professora Doutora do Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina-UEL.

Resumo

Introdução: As estações de tratamento de água têm por função captar água, tratar e a distribuir na forma potável. Neste processo, são originados resíduos como lodo de decantador e água de lavagem de filtros. Entre as bactérias encontradas nos resíduos, destacamos a *Escherichia coli*. Embora comensal, algumas cepas podem causar gastroenterites, sendo um dos principais agentes causais de diarreia em crianças e em adultos nos países em desenvolvimento. **Objetivo:** Considerada a importância das diarreias causadas por *E. coli*, esse trabalho teve como objetivo avaliar genotipicamente e fenotipicamente 171 cepas de *E. coli* isoladas de água bruta e resíduos (lodo e água de lavagem de filtros) de duas estações de tratamento de água (Cafezal e Tibagi) da cidade de Londrina, PR. **Materiais e Métodos:** Genotipicamente estas cepas foram investigadas para a presença dos marcadores de virulência *stx1*, *stx2*, *eae*, *bfpA* e *hlyA* pela técnica da Reação da Polimerase em Cadeia. Na caracterização fenotípica foi utilizado o testes de adesão em células HEp-2. **Resultados:** Cinco isolados (2,9%) foram positivos para o gene *eae* classificados como *E. coli* enteropatogênica atípica. Oito cepas (4,7%) foram classificadas como *E. coli* produtora de toxina Shiga destas, sete foram positivas para *stx1* e uma positiva para *stx1*, *stx2* e *hlyA*. Nenhum isolado foi positivo para o gene *bfpA*. No teste de adesão 126 cepas (73,7%) apresentaram padrão de adesão agregativa, 36 (21%) padrão de adesão misto (adesão agregativa com adesão difusa) e nove isolados (5,3%) foram classificados como não aderentes. Todas as cepas de *E. coli* enteropatogênica atípica apresentaram adesão agregativa e as *E. coli* produtora de toxina Shiga apresentaram padrão agregativo e misto. **Conclusões:** A presença de *E. coli* patogênicas nas estações de tratamento de água pode ser considerado uma ameaça a saúde pública e novas estratégias de gestão sobre tais resíduos precisam ser implementadas, a fim de proteger ambiente e a saúde da população.

Descritores: Resíduos; *Escherichia coli*; *Escherichia coli* enteropatogênica; *Escherichia coli* shiga toxigênica.

Abstract

Introduction: Water treatment plants are designed for receiving, treating, and distributing drinkable water. This process generates wastes like sludge from sedimentation tanks and filter backwash water. *Escherichia coli* is one of the major bacterial species found in the water treatment wastes. Although *E. coli* is a commensal organism, some strains can cause gastroenteritis. It has been considered one of the main causative agents of diarrhea in children and adults in developing countries. **Objective:** Regarding the importance of diarrhea caused by *E. coli*, this trial aimed to analyze 171 strains of *E. coli* by phenotype and genotype, isolated from receiving water and wastes (sludge and filter backwash water) from two water treatment plants (Cafezal and Tibagi) in Londrina, PR. **Materials and Methods:** Genotypic characteristics were determined by the presence of *stx1*, *stx2*, *eae*, *bfpA*, and *ehxA* virulence markers using Polymerase Chain Reaction. Phenotypic characteristics were determined by adhesion test on HEp-2. **Results:** Five strains (2.9%) were positive for *eae* gene and classified as atypical enteropathogenic *E. coli*. Eight strains (4.7%) were classified as Shiga toxin-producing *E. coli* and seven of those were positive for *stx1* and one positive for *stx1*, *stx2* and *hxA* sequences. All isolated showed positive for *bfpA* gene. One hundred twenty-six (126) strains (73.7%) showed aggregative adhesion, 36 strains (21%) showed mixed adherence (aggregative adherence with diffuse adherence), and 9 strains (5.3%) were classified as non

Recebido em 28/02/2014

Aceito em 27/04/2014

Não há conflito de interesse

adherents. All strains of atypical enteropathogenic *E. coli* showed aggregative adherence and Shiga toxin-producing *E. coli* showed an aggregative and mixed pattern. **Conclusion:** The presence of pathogenic *E. coli* in water treatment plants may be considered a threat to public health. New management strategies related to these wastes must be implemented to protect the environment and public health.

Descriptors: Waste products; *Escherichia coli*; Enteropathogenic *Escherichia coli*; Shiga-toxigenic *Escherichia coli*

Introdução

Estações de tratamento de água (ETAs) têm por objetivo captar a água disponível superficialmente dos rios, lagos e reservatórios, realizar o tratamento e abastecer a população sob a forma de água potável de acordo com a Portaria 2914/2011 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011). As impurezas contidas na água são removidas durante o processo de potabilização, originando assim, como resíduos principais, os lodos de decantadores e a água de lavagem dos filtros⁽¹⁾.

Os lodos gerados nos decantadores das ETAs são potencialmente tóxicos para plantas, seres humanos e organismos aquáticos. O descarte em rios altera consideravelmente as características da água do corpo receptor, provocando assoreamento, turbidez, mudança na cor e na composição química, além da possibilidade de contaminação do lençol freático⁽²⁾. Além do lodo do decantador, outra forma de gerar resíduos encontrados nas ETAs é por meio da lavagem dos filtros. Os filtros são normalmente lavados por fluxo de água que resulta na produção de grande volume de água residuária e baixas concentrações de sólidos num curto espaço de tempo. Os índices de produção de águas residuais nesse processo podem chegar a 5% ou mais⁽³⁾.

A avaliação da presença de microrganismos indicadores fecais é o modo mais sensível e específico de avaliar a qualidade sanitária da água de efluentes. Indicadores microbiológicos são utilizados mundialmente para verificar a contaminação por resíduos humanos e animais. Os indicadores geralmente utilizados incluem coliformes totais, *Escherichia coli* e *Enterococcus spp.* *E. coli* é de grande importância clínica, pois trata-se de um dos principais agentes causais de diarreia em crianças nos países em desenvolvimento⁽⁴⁻⁶⁾.

Embora *E. coli* seja um microrganismo comensal em humanos, algumas cepas estão associadas à infecção intestinal, tanto em crianças como em adultos, conhecidas como *E. coli* diarreio gênicas (DEC). Estão agrupadas em oito categorias, considerando os seus mecanismos de virulência específicos, as síndromes clínicas que causam, os sorotipos O, H, os aspectos epidemiológicos e/ou os tipos de interações com linhagens. Esses grupos de DEC são classificados como: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* que adere difusamente a células epiteliais (DAEC), *E. coli* aderente invasora (AIEC) e *E. coli* enteroagregativa produtora de toxina Shiga (STEAEC)⁽⁷⁾.

A infecção provocada por STEC tem a capacidade de causar casos esporádicos de diarreia, colite hemorrágica e Síndrome Hemolítica Urêmica (SHU), constituindo-se em um dos principais causadores de insuficiência renal. A habilidade das STEC em

provocar doenças em humanos é associada principalmente à produção de dois tipos de citotoxinas denominadas toxinas Shiga (Stx1 e Stx2), cujo mecanismo de ação inclui a inibição da síntese proteica nas células alvo⁽⁸⁾. Um grande número de cepas de STEC é capaz de produzir enterohemolisina (Ehly), codificada pelo gene *hlyA* que está presente em um plasmídeo de virulência de 90kb (pO157). A produção de enterohemolisina também está associada a doenças de maior gravidade, mas a maneira como contribui para a patogênese de STEC ainda não é bem compreendida. Uma possibilidade é que a liberação da hemoglobina, por causa da lise dos eritrócitos, sirva como fonte de ferro estimulando o crescimento do microrganismo⁽⁹⁾.

E. coli enterohemorrágica (EHEC) compreende um subgrupo de STEC que inclui cepas altamente patogênicas e de grande relevância clínico-epidemiológica. Além de produzir um ou ambos os tipos de toxina Shiga, essas cepas também têm a capacidade de aderir firmemente aos enterócitos por meio da proteína intimina, codificada pelo gene *eae*, na qual está associado à formação de uma lesão histopatológica conhecida como *attaching and effacement* (A/E), na mucosa intestinal, caracterizada pela destruição das microvilosidades, aderência íntima da bactéria à membrana apical da célula epitelial e formação de estruturas celulares semelhantes a pedestais⁽¹⁰⁾. Dentro do grupo de *E. coli* causadoras da lesão A/E (AEEC), portadoras da região LEE, também se encontra o grupo EPEC, importante causador de diarreia infantil, principalmente, nos países em desenvolvimento⁽¹¹⁾.

EPEC típicas (tEPEC) são cepas que apresentam, além do gene *eae*, um plasmídeo de 60 MDa denominado EAF (EPEC *adherence factor*), contendo o gene *bfpA* que participa da biogênese de uma adesina fimbrial denominada *bundle-forming pilus* (BFP), além da sequência genética referente ao fragmento sonda EAF e do operon *per* (*plasmid encoded regulator*), que codifica genes reguladores de fatores de virulência de EPEC. Já as cepas que não apresentam o plasmídeo EAF são denominadas EPEC atípicas (aEPEC). Além disso, tEPEC e aEPEC também diferem quanto ao padrão de adesão a células epiteliais: tEPEC mostram apenas o padrão de adesão localizada (LA), enquanto que aEPEC podem apresentar, além de LA, o padrão de adesão localizada-like (LAL), adesão difusa (DA), adesão agregativa (AA), além de padrões de adesão não definidos (ND) e amostras não aderentes (NA)⁽¹²⁾.

Nos últimos anos, vários estudos epidemiológicos vêm demonstrando que aEPEC é mais prevalentes do que tEPEC em casos de diarreia em todo o mundo, colocando aEPEC como um patógeno emergente^(13,7).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a presença genotípica e fenotípica de fatores de virulência associados à diarreia em amostras de *E. coli* diarreio gênicas (EPEC e STEC) isoladas de

água bruta e resíduos (lodo e água de lavagem de filtros) de ETAs (Cafezal e Tibagi) da cidade de Londrina, PR.

Material e Métodos

Cinco amostras, com volume de 5 L cada, da água bruta, lodo de decantadores e da água de lavagem de filtros (ALF) foram coletadas de cada ETA (Tibagi e Cafezal), pertencentes à cidade de Londrina-PR, no período de Setembro de 2011 à Julho de 2012. As amostras foram transportadas para a Universidade Estadual de Londrina (UEL) e mantidas a 4°C. As análises foram realizadas em até 24 horas. A técnica utilizada para detecção e quantificação de *E. coli* foi a do substrato cromogênico Colilert (SOVEREIGN – USA).

As amostras foram analisadas segundo procedimento descrito a seguir. Em um frasco estéril, contendo 100 mL da amostra a ser analisada, acrescentou-se asépticamente uma ampola do substrato Colilert, homogenizou-se levemente e a água foi transferida para a cartela Quanti-Tray (WP2000) constituída por 49 poços grandes e 48 pequenos. Selou-se a cartela com a água adicionada previamente com a seladora Quanti Tray Sealer (IDEXX/SOVEREIGN - USA). Incubou-se a cartela a 35°C (+/-

2°C) por 24 horas. Posteriormente, realizou-se a leitura dos poços. Os que apresentaram a coloração amarela, indicaram a presença de coliformes totais. Para verificar a presença de *E. coli*, a cartela foi observada na lâmpada de luz ultravioleta (365 nm), e os poços amarelos que adquiriram coloração azul-fluorescente foram determinados como positivos.

Alíquotas dos poços positivos para *E. coli* foram retiradas da cartela e semeadas em ágar MacConkey (Difco, USA) e incubadas a 37°C por 18 horas, colônias de *E. coli* foram selecionadas do crescimento bacteriano de cada placa e submetidas à identificação bioquímica através do Enterokit B (Probac, Brasil).

Foram caracterizados genotipicamente pela técnica de PCR com oligonucleotídeos iniciadores específicos os 171 isolados de *E. coli* obtidos na identificação bioquímicas, (31 oriundos da água bruta, 80 do lodo e 60 da ALF). Destes 103 eram provenientes das amostras coletadas na ETA-Tibagi e 63 da ETA-Cafezal. As cepas foram cultivadas em ágar LB (Luria-Bertani) a 37°C por 24 horas. O DNA das amostras foi extraído por fervura e utilizado nos ensaios de PCR (Tabela 1).

Tabela 1- Sequência dos oligonucleotídeos pesquisados, tamanho dos fragmentos de DNA amplificados e temperatura de anelamento.

Gene	Sequência do oligonucleotídeo (5' → 3')	Tamanho (pb)*	Temperatura de anelamento
<i>bfpA</i>	(F) CAATGGTGGTTGCGCTTGGT (R) GCCGCTTTATCCAACCTGGT	326	60°C
<i>eae</i>	(F) CAATGGTGGTTGCGCTTGGT (R) GCCGCTTTATCCAACCTGGT	384	60°C
<i>stx1</i>	(F) CAATGGTGGTTGCGCTTGGT (R) GCCGCTTTATCCAACCTGGT	180	60°C
<i>stx2</i>	(F) CAATGGTGGTTGCGCTTGGT (R) GCCGCTTTATCCAACCTGGT	255	60°C
<i>hlyA</i>	(F) CAATGGTGGTTGCGCTTGGT (R) GCCGCTTTATCCAACCTGGT	534	60°C

* PB= pares de bases

A Tabela 1 mostra as sequências dos oligonucleotídeos iniciadores, tamanho dos fragmentos de DNA amplificados e temperatura de anelamento, já descritos na literatura⁽¹⁴⁻¹⁵⁾. As sequências gênicas: *eae*, *stx1*, *stx2* e *hlyA* foram testadas por meio de uma multiplex PCR. Nas cepas *eae* positivas, pesquisou-se o gene *bfpA* para a possível caracterização do patótipo EPEC típica.

Para cada reação, a amplificação do DNA bacteriano foi realizada em volumes de 25 μ L, contendo 2 μ L do lisado bacteriano, 0,2 mM de dNTPs, 2,0 mM de MgCl₂, 20 pmol de cada oligonucleotídeo iniciador, 1U de *Taq* DNA polimerase (InvitrogenTM), tampão de reação 1X e água Milli-Q (Millipore) esterilizada para o volume final de 25 μ L. Para observação do produto amplificado foi utilizada eletroforese em gel de agarose 2%, preparado em tampão Tris Borato EDTA (TBE). Na corrida eletroforética, utilizou-se um marcador de massa molecular

(100pb Ladder – Invitrogen™) para comparação da massa molecular do fragmento amplificado. Os géis foram corados com a solução SYBER SAFE (Invitrogen™) e observados em transluminador com luz ultravioleta.

A cepa EDL 933 (*E. coli* O157H7) foi utilizada como controle positivo para os genes *eae*, *stx1*, *stx2*, *hlyA* e a E2348/69 como controle positivo para o gene *bfpA*. A cepa HB101 (*E. coli* K-12) foi o controle negativo da reação.

A capacidade de aderência dos isolados às células epiteliais HEp-2 (carcinoma de laringe humana) foi verificada de acordo com a técnica já descrita na literatura⁽¹⁶⁾. Foram realizados ensaios de 6 horas de interação bactéria-célula HEp-2. Para a realização dos ensaios de adesão, as amostras bacterianas foram inoculadas em 3 mL de caldo triptico de soja (TSB) (Difco, USA) e incubadas a 37°C por 18 horas em condições estáticas.

Resultados

Dos 171 isolados de *E. coli*, 13 (7,60%) foram positivos para algum dos marcadores de virulência investigados. Cinco (2,9%) foram positivas para o gene *eae*, sendo classificadas como aEPEC. Oito cepas (4,7%) foram classificadas como STEC, sendo que destas, sete foram positivas para a sequência *stx1* e uma positiva para as sequências *stx1*, *stx2* e *hlyA*. Nenhum isolado foi positivo para o gene *bfpA*. Neste estudo, a detecção de marcadores de virulência específicos permitiu classificar oito cepas como STEC (*stx* positiva) e cinco como aEPEC (*eae* positiva).

Dentre o total de amostras estudadas neste trabalho, 126 (73,7%) possuíam um perfil de adesão agregativo (AA), com cinco destas (2,9%) apresentando adesão agregativa do tipo “chain-like adhesion” (CLA). Outras variações do padrão de adesão agregativo também foram observadas, sendo encontradas amostras que aderiram de forma agregativa somente na lamínula, adesão somente nas células, adesão tanto na superfície celular quanto na lamínula.

Trinta e seis amostras (21%) apresentaram perfil de adesão misto, sendo encontradas células que aderiram de forma difusa e outras que aderiram de forma agregativa. Nove amostras (5,3%) de *E. coli* não aderiram nas células HEp-2, sendo, portanto, classificadas como não aderentes (NA). As adesões do tipo localizada (AL), localizada-like (LAL) e não característica (NC) não foram encontradas neste estudo.

Dentre as cinco amostras de aEPEC encontradas, todas apresentaram o padrão de adesão agregativo. Nas oito cepas de STEC, sete apresentaram padrão agregativo e uma apresentou um padrão misto de agregativo com difuso. Com relação à origem das cepas de aEPEC, duas foram isoladas do lodo de decantador da ETA Cafezal, três isolados são provenientes da ETA Tibagi, sendo duas cepas da ALF e uma do lodo de decantador. Todas as cepas de STEC foram isoladas da ALF da ETA Tibagi. A associação dos fatores de virulência e do padrão de adesão nas amostras de *E. coli* de diferentes ETAs é apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 - Associação dos fatores de virulência positivos pela PCR e do padrão de adesão em células HEp-2 com as amostras de *Escherichia coli* isoladas.

Isolado	PCR					Patotipo	Adesão	ETA*	Resíduo
	<i>eae</i>	<i>bfpA</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>hlyA</i>				
3			x	x	x	STEC+	AA+/AD§	Tibagi	ALF//
25	x					aEPEC	AA	Tibagi	Lodo
32	x					aEPEC	AA	Tibagi	Lodo
33	x					aEPEC	AA	Tibagi	Lodo
56			x			aEPEC	AA	Tibagi	Lodo
57			x			aEPEC	AA	Tibagi	Lodo
59			x			aEPEC	AA	Tibagi	Lodo
60			x			aEPEC	AA	Tibagi	Lodo
61			x			aEPEC	AA	Tibagi	Lodo
69			x			aEPEC	AA	Tibagi	Lodo
70			x			aEPEC	AA	Tibagi	Lodo
98	x					aEPEC	AA	Tibagi	Lodo
99	x					aEPEC	AA	Tibagi	Lodo

*ETA= Estação de tratamento de água; † STEC= *E. coli* produtora de toxina Shiga; ‡AA= Adesão agregativa; §AD= Adesão difusa; ||ALF= Água de lavagem de filtro; ¶aEPEC= *E. coli* enteropatogênica atípica

Discussão

E. coli é estudada em diversas fontes. Porém, o estudo dessa bactéria de fontes ambientais ainda é escasso, apesar de sua utilização como indicadora de contaminação fecal. Os fatores de virulência em amostras isoladas de ambiente são pouco relatados na literatura⁽¹⁷⁾. Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% das doenças que ocorrem nos países em desenvolvimento são ocasionadas pela contaminação da água. Estima-se que, aproximadamente, doze milhões de pessoas morrem, anualmente, em todo o mundo, por problemas relacionados à qualidade da água. No Brasil, os registros do Sistema Único de Saúde (SUS) mostram que 80% das internações hospitalares do país são decorrentes de doenças de veiculação hídrica⁽¹⁸⁾.

As águas tratadas pelas duas ETAs (que são distribuídas para a população de Londrina) provêm do Ribeirão Cafezal e do Rio Tibagi. A bacia do Ribeirão Cafezal, localizada na região sul do município, possui uma área de 67 Km² e se estende por aproximadamente 72 Km. Representa uma das principais bacias hidrográficas da área urbana. Enquanto isso, a bacia do rio Tibagi tem área aproximada de 25.000 km², o que corresponde a quase 13% da superfície do estado do Paraná, passando por cerca de 54 municípios. Segundo dados operacionais, em dezembro de 2006 os rios Tibagi e Cafezal contribuíram com 55% e 37% do volume de água distribuído pelas duas ETAs, respectivamente⁽¹⁹⁾.

O que se observa nos últimos anos nessas bacias hidrográficas é a contaminação de suas águas decorrente da descarga de resíduos domésticos, industriais e agropecuários. A crescente urbanização da região contribuiu para a diminuição da mata ciliar, aumento no número de aterros sanitários e um crescente assoreamento desses rios. Assim, a presença de *E. coli* diarréiogênicas pode ser um resultado da descarga de águas residuais doméstica e agropecuária em torno dessas bacias.

As águas tidas como superficiais (rios, lagos e represas) são comumente utilizadas como matéria prima para a produção de água potável nas ETAs, podendo muitas vezes estar contaminadas, representando assim grandes riscos à saúde da população. Alguns trabalhos mostram que a contaminação das águas superficiais com *E. coli* são associada a um aumento no número de surtos de doenças e mortes⁽²⁰⁻²¹⁾.

Em nosso estudo avaliamos tanto a água bruta quanto os resíduos, lodo e ALF, de duas ETAs da cidade de Londrina, PR, quanto a presença dos patótipos EPEC e STEC de *E. coli* diarréiogênicas. O número de cepas virulentas, tanto nas estações quando nos resíduos pesquisados, foi bastante influenciado pelo número de amostras isoladas.

Observou-se que a ETA Cafezal, apresentou apenas duas cepas de aEPEC, o número de isolados foi menor (n=68) quando comparado com a ETA Tibagi (n=103). O mesmo se notou nos resíduos, na qual a ausência de isolados virulentos na água bruta é decorrente do baixo número de amostras (n=31), enquanto que o lodo de decantador e a ALF apresentam maior quantidade de isolados (n=80 e n=60, respectivamente).

Vários fatores influenciaram no número de isolados nas diferentes ETAs. O fato da Estação de Cafezal realizar uma pré-

cloração na água bruta, na época das coletas das amostras, dificultou o isolamento de *E. coli*. Além disso, o isolamento de *E. coli* foi maior nos resíduos lodo e ALF do que da água bruta, em virtude principalmente da quantidade maior de microrganismos encontrados. Os resíduos, naturalmente, tendem a concentrar matéria orgânica, gerando assim uma maior quantidade de microrganismos quando comparada com a água bruta que entra na ETA

Nos ensaios de adesão observou-se maior prevalência do padrão de adesão agregativo (AA), em que 126 cepas de *E. coli* (73,7%) apresentaram esse padrão. Vários trabalhos descrevem a prevalência desse tipo de adesão em amostras de *E. coli* ambientais. A alta incidência de cepas agregativas indica uma adaptação dessas bactérias com o intuito de maior resistência e persistência no meio ambiente (considerado muitas vezes um ambiente hostil)^(17,22-23).

Além de cepas agregativas, outro fato que chamou a atenção foi a presença de padrões de adesão misto (agregativo e difuso) em um número alto de amostras (21%). Na literatura já foi demonstrado que é comum algumas cepas sofrerem variações de padrão de adesão, exibindo muitas vezes mais de um padrão⁽²⁴⁾. A ocorrência de *E. coli* patogênica em ETAs é ainda pouco pesquisado e descrito na literatura⁽²⁵⁾. De acordo com a literatura pesquisada este trabalho representa o primeiro relato de EPEC e STEC isoladas de resíduos em ETAs no Brasil. A presença de *E. coli* diarréiogênicas em resíduos de ETAs pode representar um risco, pois, presente nesses resíduos que normalmente são lançados em rios e lagos, prejudicam a qualidade da água do corpo receptor e a saúde da população.

Conclusões

O presente estudou constatou que a investigação da prevalência de genes de *E. coli* diarréiogênicas (EPEC e STEC), em resíduos de estações de tratamento de água (ETAs), são importantes para prevenir possíveis contaminações de fontes de água e a disseminação de bactérias potencialmente patogênicas no ambiente. A presença de *E. coli* patogênicas nas ETAs deve ser considerada uma ameaça à saúde pública e novas estratégias de gestão sobre tais resíduos precisam ser implantadas para proteger, não só o meio ambiente, mas a saúde da população.

Referências

1. Achon CL, Barroso MM, Cordeiro JS. Resíduos de estações de tratamento de água e a ISO 24512: desafio do saneamento brasileiro. *Eng Sanit Ambient.* 2013;18(2):115-22.
2. Reis ELT, Cotrim MEB, Rodrigues C, Pires MAF, Beltrame Filho O, Rocha SM, et al. Identificação da influência do descarte de lodo de estações de tratamento de água. *Quím Nova.* 2007;30(4):865-72.
3. Freitas GA, Bastos RXX, Bevilacqua PD, Pádua VL, Pimenta JFP, Andrade RC. Recirculação de água de lavagem de filtros e perigos associados a protozoários. *Eng Sanit Ambient.* 2010;15(1):37-46.
4. Cabral JPS. *Water microbiology. Bacterial pathogens and water.* *Int J Environ Res Public Health.* 2010;7(10):3657-703.
5. Ministério da Saúde [homepage na Internet]. Brasília (DF)

- [acesso em 2014 Jan 10]. Portaria n.2914, 12 dezembro 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade; [aproximadamente 11 telas]. Disponível em: http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html
6. Nunes MR, Magalhães PP, Macêdo AS, Franco RT, Penna FJ, Mendes EN. Attaching and effacing *Escherichia coli* and Shiga toxin-producing *E. coli* in children with acute diarrhea and controls in Teresina/PI, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2012;106(1):43-7.
7. Clements A, Young JC, Constantinou N, Frankel G. Infection strategies of enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Gut Microbes.* 2012;3(2):71-87.
8. O'loughlin EV, Robins-Browne RM. Effect of Shiga toxin and Shiga-like toxins on eukaryotic cells. *Microbes Infect.* 2001;3(6):493-507.
9. Law D, Kelly J. Use of heme and hemoglobin by *Escherichia coli* O157 and other Shiga like toxin producing *E. coli* serogroups. *Infect Immun.* 1995;63(2):700-2.
10. Garmendia J, Frankel G, Crepin VF. Enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections: translocation, translocation, translocation. *Infect and Immun.* 2005;73(5):2573-85.
11. Pérez C, Gómez-Duarte OG, Arias ML. Diarrheagenic *Escherichia coli* in children from Costa Rica. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;83(2):292-7.
12. Abe CM, Blanco M, Dhahi G, Blanco JE, Blanco J, Franzolin MR, et al. Virulence features of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* identified by the *eae*(+) EAF negative *stx*(-) genetic profile. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009;64(4):357-65.
13. Moreno AC, Fernandes Filho A, Gomes TD, Ramos ST, Montemor LP, Tavares VC, et al. Etiology of childhood diarrhea in the northeast of Brazil: significant emergent diarrheal pathogens. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2010;66(1):50-7.
14. Paton AW, Paton JC. Detection and characterization of Shiga toxinogenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for *stx*₁, *stx*₂, *eaeA*, enterohemorrhagic *E. coli hlyA*, *rfb*_{O111}, and *rfb*_{O157}. *J Clin Microbiol.* 1998;36(2):598-602.
15. Gunzburg ST, Tornieporth NG, Riley LW. Identification of enteropathogenic *Escherichia coli* by PCR-based detection of the bundle-forming pilus gene. *J Clin Microbiol.* 1995;33(5):1375-7.
16. Cravioto A, Gross R.J, Scotland SM, Rowe B. An adhesive factor found in strains of *Escherichia coli* belonging to the traditional infantile enteropathogenic serotypes. *Curr Microbiol.* 1979;3:95-9.
17. Ribeiro DA. *Escherichia coli* isoladas de água para consumo: caracterização fenotípica e genotípica das propriedades de virulência [dissertação]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2006.
18. World Health Organization. Guidelines for drinking water quality: recommendations. Geneva: World Health Organization; 2000.
19. Barros MVF, Archela RS, Barros ONF, Gratão LH, Théry H, Mello NA. Atlas ambiental da cidade de Londrina [homepage na Internet]. [acesso em 2004 Abr 14]. Curso e (per) curso das águas; [aproximadamente 2 telas]. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/atlasambiental/NATURAL/CURSODASAGUAS.htm>
20. Mccall BJ, Slinko VG, Smith HV, Heel K, Culleton TH, Kelk VR, et al. An outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection associated with a school camp. *Commun Dis Intell.* 2010;34(1):54-6.
21. Lienemann T, Pitkanen T, Antikainen J, Molsa E, Miettinen I, Haukka K, et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O100:H-:stx 2e in drinking water contaminated by waste water in Finland. *Curr Microbiol.* 2011;62(4):1239-44.
22. Lascowski KMS, Guth BEC, Martins FH, Rocha SPD, Irino K, Pelayo JS. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in drinking water supplies of north Paraná State, Brazil. *J Appl Microbiol.* 2013;114(4):1230-9.
23. Nataro JP, Kaper JB, Browne RR, Prado V, Vial P, Levine MM. Patterns of adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells. *Pediatric Infect Dis J.* 1987;6(9):829-31.
24. Nishikawa Y, Zhou Z, Hase A, Ogasawara J, Kitase T, Abe N, et al. Diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from stools of sporadic cases of diarrheal illness in Osaka city, Japan between 1997 and 2000: prevalence of Enterotoxigenic *E. coli* Heat-stable enterotoxin 1 gene-possessing *E. coli*. *Jpn J Infect Dis.* 2002;55(6):183-90.
25. Huang SW, Hsu BM, Su YJ, Ji DD, Lin WC, Chen JL, et al. Occurrence of diarrheagenic *Escherichia coli* genes in raw water of water treatment plants. *Environ Sci and Pollut Res Int.* 2012;19(7):2776-83.

Apoio financeiro da Fundação Araucária e da Secretaria de Estado da Saúde do Estado do Paraná – SESA.

Endereço para correspondência: Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380, Campus Universitário, Caixa Postal 10.011, CEP 86.057-970, Londrina – PR. E-mail: jspelayo@gmail.com