

Ocorrência de linhagens de *Pseudomonas aeruginosa* cloro resistentes em águas de diferentes origens

Lílian Vieira de Medeiros, Ulrich Vasconcelos* e Glícia Maria Torres Calazans

¹Departamento de Antibióticos, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, s/n, 50740-901, Recife, Pernambuco, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: ulvasco@gmail.com

RESUMO. *Pseudomonas aeruginosa* é conhecida por sua versatilidade metabólica e extrema capacidade de adaptação a diferentes ambientes, inclusive aquáticos. Para desinfecção de águas, o cloro e agentes que contêm cloro continuam sendo os mais usados no mundo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência ao cloro de linhagens de *P. aeruginosa*, isoladas de amostras de águas de diversos ambientes. Foram testados diferentes tempos de contato (1, 5, 10, 20, 30 e 40 minutos) e soluções aquosas de cloro, com concentrações definidas com base na legislação vigente no país para água potável: 0,5; 1,0 e 2,0 ppm. O teste de resistência ao cloro foi desenvolvido por meio da exposição direta das bactérias às soluções. Os resultados revelaram que *P. aeruginosa*, isoladas de diferentes fontes de água, têm a habilidade de sobreviver a diferentes concentrações de cloro. Na concentração de 1 ppm, a maioria das linhagens não foi inibida. As linhagens mais resistentes ao cloro também apresentaram relação de multirresistência à maioria dos antibióticos testados.

Palavras-chave: *Pseudomonas aeruginosa*, resistência ao cloro, ambientes aquáticos.

ABSTRACT. **Occurrence of chlorine resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* from different water sources.** The nutritional versatility and the adaptability of *Pseudomonas aeruginosa* to different environments, including water, are well known. Chlorine and other chlorine agents are used as water disinfecting all around the world. The aim of this work was to evaluate the possible chlorine resistance amongst *P. aeruginosa* strains isolated from different aquatic sources by using different contact time (1, 5, 10, 20, 30 and 40 minutes) in solutions with known chlorine concentrations according current legislation in the country to potable water: 0.5; 1.0 and 2.0 ppm. The chlorine resistance test was done by direct exposure of *P. aeruginosa* under a solution with known chlorine concentration. Results showed that *P. aeruginosa* strains isolated from different aquatic sources are able to survive in different chlorine concentrations. At 1 ppm, most of them were not inhibited. It was also observed that the most resistant strains were antibiotic multiresistant.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, chlorine resistance, aquatic environment.

Introdução

A bactéria *Pseudomonas aeruginosa* é bastante freqüente na natureza e pode ser isolada a partir do ambiente, incluindo água e até mesmo soluções desinfetantes (Hardalo e Edberg, 1997; Menezes *et al.*, 2004; Shrivastava *et al.*, 2004). Ela também é reconhecida como o principal microrganismo, não fermentador, responsável por infecções hospitalares (Brito *et al.*, 2003; Vasconcelos *et al.*, 2006). Em pacientes hospitalizados expostos a numerosos agentes antimicrobianos, as resistências intrínsecas e adquiridas deste organismo conferem vantagem seletiva e permitem colonização e infecção subsequente (Dubois *et al.*, 2001; Di Martinco *et al.*, 2002; Hauser e Sriram, 2005).

O cloro e agentes que contêm cloro são bastante empregados na desinfecção de água. O seu primeiro

uso data de 1850 e, até hoje, esse tratamento é considerado fator contribuinte para redução de doenças veiculadas pela água (Daniel, 2001). A Portaria nº 518/04 do Ministério da Saúde estabelece que as águas para consumo devam ser cloradas de forma a alcançar concentração de cloro residual final entre 0,5 a 2,0 ppm, em qualquer ponto da rede de distribuição (Brasil, 2004).

O hipoclorito de sódio é o agente de cloro mais utilizado. Seu mecanismo de ação compreende em aumentar o pH do meio, provocando mudanças na estrutura da célula, levando a danos na membrana externa, degeneração ou inibição irreversível das proteínas do citoplasma, além de reações de oxidação. Podem ocorrer, também, reações de cloraminação e saponificação (Estrela, 2000).

Há registro, na literatura, de que um considerável

número de bactérias tem desenvolvido resistência aos diversos agentes usados no tratamento de água, incluindo o cloro. A Organização Mundial da Saúde considera *P. aeruginosa* um microrganismo moderadamente resistente ao cloro (WHO, 2003). Sabe-se, também, que bactérias que sobrevivem à cloração parecem mostrar uma relação com multirresistência, indicando que o cloro pode selecionar as linhagens mais resistentes a antibióticos assim como a anti-sépticos e desinfetantes (Pellegrino et al., 2002; Orrett, 2004).

Os principais mecanismos apresentados por microrganismos para desenvolver resistências são: diminuição da permeabilidade da membrana, mecanismos de efluxo, mudança nos polissacarídeos, modificação de DNA-girase e inativação de estruturas de enzimas (Tenover et al., 1997; Loureiro et al., 2002).

O presente estudo teve como objetivo verificar a ocorrência de resistência ao cloro pelas linhagens de *P. aeruginosa*.

Material e métodos

Microrganismos-teste

Foram estudadas 10 linhagens de *P. aeruginosa* sendo nove isoladas de ambientes diversos: águas de poços, águas de consumo, água residuária, água mineral e água de torneiras de unidades hospitalares e acrescentada à linhagem-padrão ATCC 27853 para fins comparativos. A coleta, isolamento e identificação foram seguidos de acordo com as normas estabelecidas pela APHA et al. (1998), utilizando caldo asparagina e caldo acetamida. Testes complementares de oxidase e crescimento em ágar cetrimida foram incluídos na caracterização bioquímica da espécie. Todas linhagens receberam uma identificação iniciada pela letra P, seguida de um algarismo arábico e estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Origem das linhagens de *P. aeruginosa*.

Linhagens	Água de origem	Data do isolamento
P1	Poço de observação 1 (Cemitério da várzea, Recife, Estado de Pernambuco)	07/01/2004
P2	Água mineral (saída do poço)	18/02/2004
P3	Torneira de bebedouro (Escola)	16/02/2004
P4	Aterro Sanitário (Entrada do efluente)	05/07/2004
P5	Poço de abastecimento (Indústria)	12/07/2004
P6	Ambiente hospitalar* (Torneira da pia da UTI adultos)	07/06/2005
P7	Ambiente hospitalar* (Torneira da pia da UTI neonatal)	07/06/2004
P8	Ambiente hospitalar* (Reservatório)	07/06/2004
P9	Ambiente hospitalar* (Estação de tratamento do hospital)	07/06/2004
P10	ATCC 27853	

*Hospital da rede pública, Recife, Estado de Pernambuco.

Determinação do teor de cloro ativo e teste de contato

A determinação do teor de cloro ativo foi

realizada de acordo com o método volumétrico descrito na NBR 9425 da ABNT (2005). O teste de resistência ao cloro com população de *P. aeruginosa* padronizada em 10^2 UFC mL⁻¹ seguiu o protocolo empregado por Porto (2004).

Uma solução estoque de hipoclorito de sódio foi diluída até atingir o valor de cloro ativo de 0,5 ppm. Foram transferidos 0,5 mL da suspensão de *P. aeruginosa* para um tubo, contendo 4,5 mL da solução diluída de hipoclorito de sódio, e foram contados tempos de: 1, 5, 10, 20, 30 e 40 minutos após o contato. Para as linhagens que foram resistentes à concentração de cloro de 0,5 ppm nos diferentes tempos de contato até 40 minutos, novas soluções de hipoclorito de sódio foram preparadas com valores de cloro ativo nas concentrações de 1,0 e 2,0 ppm.

Após cada intervalo do teste de contato, uma alíquota de 0,5 mL foi transferida para tubos, contendo 4,5 mL de caldo Müller-Hinton com tiosulfato de sódio a 1%. Todos tubos foram incubados em estufa a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas e posteriormente foi verificado o desenvolvimento de turbidez, correspondente ao crescimento microbiano.

O teste foi realizado em triplicata e a confirmação do crescimento foi realizada por meio de semeadura de alíquotas da suspensão em ágar cetrimida. Os resultados foram reportados como presença ou ausência de células viáveis em função do tempo de contato.

Antibiograma

O antibiograma foi realizado com todas linhagens em estudo, de acordo com o método de difusão em disco de Kirby-Bauer modificado (Acar e Goldstein, 1986). Foram utilizados os seguintes antibióticos: norfloxacin (NOR), cefepima (COM), aztreonam (ATM), ciprofloxacina (CIP), gentamicina (GEN), tobramicina (TOB), amicacina (AMI), meropenem (MPM), imipenem (IPM), cefalotina (CFL), cefoxitina (CFO), cloranfenicol (CLO), ácido nalidíxico (NAL), tetraciclina (TET), nitrofurantoina (NIT), sulfametrim (SUT) e cefotaxima (CTX).

Resultados e discussão

O teor de cloro ativo na solução de hipoclorito de sódio comercial utilizada foi de 25.000 ppm. Na Tabela 2, são mostrados os resultados sobre o teste de resistência a cloro realizado com as 10 linhagens de *P. aeruginosa*, incluindo a linhagem-padrão ATCC 27853. As linhagens P1, P5, P6, P7 e P9 apresentaram resistência à solução da água sanitária diluída a 0,5 ppm nos diferentes tempos de contato: 1, 5, 10, 20, 30 e 40 minutos. A linhagem P2 resistiu de 1 a 20 minutos e as demais, P3, P4, P8 e a padrão ATCC 27853 sobreviveram de 1 a 30 minutos.

Tabela 2. Resultados do teste de contato na concentração de cloro de 0,5 ppm.

Linhagens (origem)	Tempo de contato (minutos)					
	1	5	10	20	30	40
P1 (Poço de observação)	+++	+++	+++	+++	+++	+++
P2 (Água mineral)	+++	+++	+++	+++	---	---
P3 (Bebedouro de escola)	+++	+++	+++	+++	+++	---
P4 (Água residuária)	+++	+++	+++	+++	+++	---
P5 Poço (Indústria)	+++	+++	+++	+++	+++	+++
P6 (UTI Adultos)	+++	+++	+++	+++	+++	+++
P7 (UTI Neonatal)	+++	+++	+++	+++	+++	+++
P8 (Reservatório)	+++	+++	+++	+++	---	---
P9 (Hospital)	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ATCC 27853	+++	+++	+++	+++	+++	---

(+) presença de crescimento; (-) ausência de crescimento.

Quando a concentração da solução de cloro foi elevada para 1,0 ppm, as linhagens P1, P5, P6, P7 e P9 que havia resistido à concentração de 0,5 ppm de cloro ativo até 40 minutos de contato, também foram resistentes nos tempos de 1, 5, 10 e 20 minutos na presença do cloro (Tabela 3). Elevando-se o tempo de contato com a solução para 30 e 40 minutos, somente a *P. aeruginosa*, advinda da torneira da UTI Adultos do ambiente hospitalar (P6), sobreviveu (Tabela 3).

Tabela 3. Resultados do teste de contato na concentração de cloro de 1,0 ppm.

Linhagens (origem)	Tempo de contato (minutos)					
	1	5	10	20	30	40
P1 (Poço de observação)	+++	+++	+++	+++	---	---
P5 (Poço de indústria)	+++	+++	+++	+++	---	---
P6 (UTI Adultos)	+++	+++	+++	+++	+++	---
P7 (UTI Neonatal)	+++	+++	+++	+++	---	---
P9 (Hospital)	+++	+++	+++	+++	---	---

(+) presença de crescimento; (-) ausência de crescimento.

A Tabela 4 ilustra os resultados do teste de contato realizado na concentração de 2,0 ppm de cloro com as linhagens que resistiram à concentração de 0,5 ppm de cloro ativo. As bactérias continuaram a resistir na concentração de 2,0 ppm no tempo de contato de 1 minuto, porém, em tempos maiores que 1 minuto, somente a *P. aeruginosa* isolada da torneira da UTI Adultos (P6) resistiu, suportando um tempo de até 10 minutos na presença de cloro.

Tabela 4. Resultados do teste de contato na concentração de cloro de 2,0 ppm.

Linhagens (origem)	Tempo de contato (minutos)					
	1	5	10	20	30	40
P1 (Poço de observação)	+++	---	---	---	---	---
P5 (Poço de indústria)	+++	---	---	---	---	---
P6 (UTI adulto)	+++	+++	+++	---	---	---
P7 (UTI Neonatal)	+++	---	---	---	---	---
P9 (Hospital)	+++	---	---	---	---	---

(+) presença de crescimento; (-) ausência de crescimento.

Os resultados indicam que linhagens de *P. aeruginosa* isoladas de diferentes fontes de água têm habilidades variadas para sobreviver a diferentes

concentrações de cloro. A concentração de 0,5 ppm de cloro, nos diferentes intervalos de tempo, não foi suficiente para eliminar todas linhagens mesmo com 20 minutos de contato. Somente a concentração de 1,0 ppm tornou possível a destruição da maioria das linhagens mais resistentes a 0,5 ppm de cloro, acima de 20 minutos de contato.

A linhagem da *P. aeruginosa* mais resistente foi a advinda da torneira da UTI Adulto (P6) que suportou 2,0 ppm de cloro por até 10 minutos e a linhagem mais sensível foi aquela advinda da água mineral (P2). A Portaria MS 518/04, que estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, recomenda que após a desinfecção, a água deve conter teor mínimo de cloro residual livre de 0,5 mg L⁻¹ (0,5 ppm), sendo obrigatória a manutenção de, no mínimo, 0,2 mg L⁻¹ e de, no máximo, 2,0 mg L⁻¹ em qualquer ponto da rede de distribuição. Deste modo, tem-se que a resistência das linhagens analisadas varia em relação às concentrações de cloro utilizadas neste trabalho, porém quando clorada, a água se encontra de acordo com as especificações previstas pela legislação.

Pode-se perceber pela análise mostrada nas Tabelas 1, 2 e 3 que curto tempo de contato não é suficiente para eliminação das linhagens testadas, uma vez que a maioria destas bactérias resistiu até 40 minutos na concentração de 0,5 ppm. Todas linhagens resistiram até 20 minutos de contato em 1,0 ppm, sendo que P6 ainda resistiu no tempo de 40 minutos na mesma concentração. Quando os testes foram realizados com a concentração de cloro de 2,0 ppm, todas linhagens resistiram ao tempo de 1 minuto de contato, e novamente a linhagem mais resistente foi P6, proveniente de UTI hospitalar, resistindo até 10 minutos. A observação de resistência de linhagens ao cloro já havia sido observada por Porto (2004) em seu trabalho, quando uma solução de hipoclorito de sódio a 1% por um período de 1 minuto de contato não provocou efeito bactericida em culturas.

Ridgway e Olson (1982) estudaram a sensibilidade de bactérias isoladas de dois sistemas de distribuição de água potável clorada e não-clorada e observaram que a bactéria procedente de sistemas clorados é mais resistente ao cloro do que as de sistema não-clorados. Em sua pesquisa, os microrganismos mais resistentes conseguiram sobreviver a 2 minutos expostos a 10,0 ppm de cloro livre.

Estrela (2000) estudou a efetividade do hipoclorito de sódio 1,0, 2,0 e 5,0% sobre *Pseudomonas aeruginosa* e verificou que a concentração

inibitória mínima das soluções de hipoclorito de sódio foi igual a 0,1%.

No presente trabalho, com exceção da linhagem da UTI Adultos (P6), as demais linhagens que resistiram à concentração de 0,5 ppm de cloro ativo foram inativadas à concentração de 2,0 ppm, nos tempos de contato de 5, 10, 20, 30 e 40 minutos.

Todas linhagens de *P. aeruginosa*, deste estudo, foram submetidas ao antibiograma para verificar a existência de possível multirresistência a antibióticos. Os resultados do antibiograma mostrados na Tabela 5 confirmam que todas linhagens foram resistentes a pelo menos quatro do total de 17 antibióticos utilizados no teste. A linhagem P6 destacou-se entre todas por ter sido resistente a 14 deles.

Tabela 5. Antibiograma de linhagens de *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibióticos	Linhagens									
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
MPM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IPM	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
NOR	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
CIP	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
AMI	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
CLO	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
AZT	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CPM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
GEN	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
TOB	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
CFL	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
CFO	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
NAL	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
NIT	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CTX	I	I	I	S	I	R	I	I	I	I
SUT	R	R	I	S	R	R	I	I	R	R
TET	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R

NOR – norfloxacina, COM – cefepima, ATM – aztreonam, CPI – ciprofloxacina, GEN – gentamicina, TOB – tobramicina, AMI – amicacina, MPM – meropenem, IPM – imipenem, CFL – cefalotina, CFO – cefoxitina, CLO – cloranfenicol, NAL – ácido nalidíxico, TET – tetraciclina, NIT – nitrofurantoína, SUT – sulfametrim e CTX – cefotaxima; R – resistente, S – sensível e I – intermediário.

Shrivastava et al. (2004) relataram, em seu trabalho, que a bactéria sobrevivente à cloração parece apresentar relação de multirresistência, indicando que o cloro pode selecionar as linhagens mais resistentes a antibióticos. Tal afirmação foi evidenciada no presente trabalho com a linhagem P6, identificada como a mais resistente no teste de contato com o cloro e que se mostrou também a mais resistente frente aos antibióticos testados.

O perfil de multirresistência a 17 antibióticos de classes diferentes (ex. cefalosporinas, quinolonas e aminoglicosídeos), somado ao local de isolamento, leva à suposição de que a linhagem P6 desenvolveu tal perfil por conta do ambiente de isolamento. As evidências levam a supor que o ambiente exerceu pressões seletivas sobre a mesma, como já observado anteriormente por Vasconcelos e Calazans (2006). Tais características são determinadas por genes específicos e já foram estudadas por diferentes autores

(Panzig et al., 1999; Brett e Ellis-Pegler, 2001).

Acredita-se que essas constatações feitas com a linhagem P6, sendo esta de origem clínica e tendo apresentado um perfil de resistência, podem colaborar no desenvolvimento de estudos epidemiológicos futuros.

Os resultados dos testes, usando-se soluções de concentrações conhecidas de hipoclorito de sódio, mostraram que linhagens de *P. aeruginosa* isoladas de diferentes fontes de água têm habilidade para sobreviver a diferentes concentrações de cloro em tempos de contato variados. O fato de a linhagem P6 ter sido isolada de água de consumo de uma UTI de pacientes adultos reforça a idéia de autores que afirmam que a resistência em *P. aeruginosa* pode ser adquirida nesses ambientes em consequência de uso constante e por longos períodos de antibióticos, ou ainda, pelo contato frequente com substâncias químicas usadas como desinfetantes (Brett e Ellis-Pegler, 2001). Desta forma, tais substâncias poderiam interferir na resistência a drogas e na seleção de organismos melhor adaptados às pressões do ambiente, elevando, assim, o risco biológico para pacientes hospitalizados, indivíduos imunocomprometidos e para a população em geral.

Conclusão

Pseudomonas aeruginosa isoladas de diferentes amostras de águas têm habilidade para sobreviver a diferentes concentrações de cloro em variados tempos de contato. Comparadas às demais linhagens estudadas, P6 apresentou o melhor perfil de resistência ao cloro, suportando até 10 minutos de contato na concentração de 2 ppm, associado à multirresistência a antibióticos. A linhagem foi resistente a 82,4% dos antibióticos testados. No entanto, de uma forma geral, a maioria dos isolados apresentou relativa alta resistência ao nível de cloro de 1 ppm. Esta é uma constatação que deveria ser considerada, em estudos que envolvem controle de qualidade de águas de abastecimento em hospitais e em estudos epidemiológicos.

Referências

- ABNT-Associação Brasileira de Normas Técnicas. *NBR 9425*: determinação do teor de cloro ativo pelo método volumétrico em soluções de hipoclorito de sódio comercial, 2005. Disponível em: <<http://www.carbocloro.com.br/produtos/Metodologias%20de%20Análise/HIPOCLORITO/Hipoclorito%20de%20Sódio.pdf>>. Acesso em: 25 abr. 2005.
- ACAR, J.F.; GOLDSTEIN, F.W. Disk susceptibility test. In: LORIAN, V. (Ed.). *Antibiotics in laboratory medicine*. 2nd ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1986. cap. 2, p. 27-63.

- APHA *et al.* *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20th ed., Washington, D.C.: APHA, 1998.
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Portaria 518/04 MS que estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências*. Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 26 de março de 2004.
- BRETT, M.; ELLIS-PEGLER, R. Surveillance of antimicrobial resistance in New Zealand. *NZPHR*, Wellington, v. 8, n. 3, p. 17-24, 2001.
- BRITO, D.V.D. *et al.* An outbreak of conjunctivitis caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Brazilian newborn intensive care unit. *Braz. J. Infec. Dis.*, Salvador, v. 7, n. 4, p. 234-235, 2003.
- DANIEL, L.A. Processos de desinfecção e desinfetantes alternativos na produção de água potável. Rio de Janeiro: ABES, 2001.
- DI MARTINCO, P. *et al.* Antibiotic resistance and virulence properties of *Pseudomonas aeruginosa* strains from mechanically ventilated patients with pneumonia in intensive care units: comparison with Imipenem-resistant extra-respiratory tract isolates from uninfected patients. *Microbes Infect.*, Paris, v. 4, n. 6, p. 613-620, 2002.
- DUBOIS, V. *et al.* Nosocomial outbreak due to a multiresistant strain of *Pseudomonas aeruginosa* P12: efficacy of Cefepime-Amikacin therapy and analysis of β -lactam resistance. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, D.C., v. 39, n. 6, p. 2072-2078, 2001.
- ESTRELA, C.R.A. *Eficácia antimicrobiana de soluções irrigadoras de canais radiculares*. 2000. Dissertação (Mestrado em Odontologia)–Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2000.
- HARDALO, C.; EDBERG, S.C. *Pseudomonas aeruginosa*: Assessment of risk from drinking water. *CRC Crit. Rev. Microbiol.*, Cleveland, v. 23, n. 1, p. 47-75, 1997.
- HAUSER, A.R.; SRIRAM, P. Severe *Pseudomonas aeruginosa* infections: tackling the conundrum of drug resistance. *J. Postgrad. Med.*, Mumbai, v. 117, n. 1, p. 41-48, 2005.
- LOUREIRO, M.M. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa*: Study of antibiotic resistance and molecular typing in hospital infection cases in a neonatal intensive care unit from Rio de Janeiro city, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 97, n. 3, p. 387-394, 2002.
- MENEZES, E.A. *et al.* Perfil de infecção e resistência aos antimicrobianos de Bacilos Gram negativos não fermentadores isolados no laboratório de patologia clínica Dr. Edilson Gurgel, Santa Casa de Misericórdia de Fortaleza-CE. *RBAC*, Rio de Janeiro, v. 36, n. 4, p. 209-212, 2004.
- ORRETT, F.A. Antimicrobial susceptibility survey of *Pseudomonas aeruginosa* strain isolated from clinical sources. *J. Natl. Med. Assoc.*, Washington, D.C., v. 96, n. 8, p. 1065-1069, 2004.
- PANZIG, B. *et al.* Large outbreak of multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* strains in North-eastern Germany. *J. Antimicrob. Chemother.*, London, v. 3, n. 43, p. 415-418, 1999.
- PELLEGRINO, F.L.P.C. *et al.* Occurrence of a multi drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clone in different hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, D.C., v. 40, n. 7., p. 2420-2424, 2002.
- PORTO, P.O.B. *Determinação das características físico-químicas e antimicrobianas de soluções experimentais à base de hipoclorito de sódio e óleo essencial*. 2004. Tese (Doutorado em Odontologia)–Universidade de Pernambuco, Camaragibe, 2004.
- RIDGWAY, H.F.; OLSON, B.H. Chlorine resistance patterns of bacteria from two drinking water distribution systems. *Appl. Environ. Microbiol.*, Washington, D.C., v. 44, n. 4, p. 972-987, 1982.
- TENOVER, F.C. *et al.* How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*, Chicago, v. 18, n. 6, p. 426-439, 1997.
- SHRIVASTAVA, R. *et al.* Suboptimal Chlorine treatment of drinking water leads to selection of multi drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, New York, v. 58, n. 2, p. 277-283, 2004.
- VASCONCELOS, U. *et al.* Evidência do antagonismo entre *Pseudomonas aeruginosa* e bactérias indicadoras de contaminação fecal em água. *Rev. Hig. Alimentar*, São Paulo, v. 20, n. 140, p. 127-131, 2006.
- VASCONCELOS, U.; CALAZANS, G.M.T. Antibiogramas de linhagens de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de diferentes ambientes aquáticos. *Rev. Pat. Trop.*, Goiânia, v. 35, n. 3, p. 173-176, 2006.
- WHO-World Health Organization. *Guidelines for drinking water*. Geneva: World Health Organization, 2003.

Received on May 05, 2007.

Accepted on July 24, 2007.