

AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE MICROBIANA NAS ÁGUAS DO ARROIO DILÚVIO E ANÁLISE DO PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS

Daniele Vargas de Oliveira¹; Tiele da Silva Carvalho²; Sueli Van Der Sand³

¹Estudante do Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde- UFRGS; danioliveira82@gmail.com; ²Estudante de Graduação, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde- UFRGS; tielecarvalho@hotmail.com; ³Professora do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde- UFRGS; svands@ufrgs.br

Resumo - O Arroio Dilúvio é a bacia hidrográfica mais importante da capital gaúcha possuindo 17.605m de extensão sendo a nascente em Viamão e deságue no Lago Guaíba. O Arroio recebe vários tipos de dejetos oriundos de esgoto pluvial, doméstico e hospitalar. Sendo assim, o Arroio recebe uma população microbiana diversificada podendo alguns destes microrganismos apresentar resistência a diferentes antimicrobianos e, portanto possíveis disseminadores de genes de resistência. O objetivo do presente estudo é avaliar a diversidade bacteriana presente nas águas do Arroio Dilúvio, no decorrer de seu curso, buscando identificar e caracterizar esta população de acordo com o seu perfil de resistência a antimicrobianos. As amostras foram coletadas em cinco pontos, desde a nascente até a foz e submetidas à etapa de isolamento e esgotamento da população bacteriana através do processo de semeadura em placas contendo diferentes meios de cultura seletivos e não seletivos. Após foi realizada a identificação bioquímica dos isolados, utilizando alguns testes como: catalase, oxidase, SIM, VMVP, OF entre outros. Com isso foi possível observar uma prevalência de bactérias da família das Enterobacteriaceae, 70% (59) dos isolados. Para a caracterização do perfil de resistência foi utilizado o método de difusão em disco utilizando os seguintes antibióticos: AMC, AMP, CFL, CFO, CIP, CLO, CRO, EST, GEN, IMP, NIT, NOR, SUT e TET. Nas coletas 1 e 3 observou-se que 66,66% (16) das amostras foram resistentes a 2 ou mais antibióticos; na coleta 2, 58% (14); e na coleta 4, 95,45% (21) apresentou este perfil de resistência para 2 ou mais antibióticos.

Palavras-chave: diversidade microbiana, Arroio Dilúvio, resistência.

Introdução

Estima-se que, no mundo existam 1400 milhões de Km³ de água, dos quais cerca de 97% correspondem aos oceanos e os 3% restantes é água potencialmente utilizável para a maioria das atividades humanas, sendo que apenas 0,02% da água do planeta são acessíveis para aproveitamento pelo homem.

Mesmo uma água de aparência clara e limpa, pode estar contaminada por microrganismos que podem ser provenientes do ar, do solo e de despejos de resíduos contendo dejetos de humanos e animais, o que representa um sério risco à saúde, já que podem conter microrganismos patogênicos.

O curso principal do Arroio Dilúvio possui 17,6Km de extensão, nasce nas serranias de Viamão e recebe o aporte das águas dos arroios Marianos, Moinho, São Vicente e Cascatinha (Menegat, 1998), indo desaguar no Lago Guaíba.

No decorrer de seu curso o Arroio sofre todo o tipo de agressão, pois ele corta o município de Porto Alegre passando por 36 bairros e carrega o esgoto cloacal, sem nenhum tratamento, de 3 bairros até o Lago Guaíba. Ainda recebe os efluentes de 37 unidades de saúde ao longo de seu trajeto o que agrava ainda mais a preocupação com a saúde pública.

O uso indiscriminado de antimicrobianos coloca em risco tratamento de doenças causadas por bactérias, pois essas podem carregar informação de resistência à uma ou mais classes de antimicrobianos levando muitas vezes além dos problemas ambientais a sérios problemas de saúde pública. Desta forma o presente trabalho busca avaliar a diversidade microbiológica nas águas do Arroio Dilúvio no decorrer de seu curso identificando e caracterizando a população bacteriana de acordo com o seu perfil de resistência.

Materiais e Métodos

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia –ICBS/UFRGS. Amostras de água do Arroio Dilúvio foram coletadas no período de março de 2009 a dezembro 2009 em cinco pontos de coleta desde a sua nascente na Lomba do Sabão até seu deságüe no Lago Guaíba, sendo eles: no Parque Saint' Hilaire; Av. Antônio de Carvalho; Rua Guilherme Alves; Av. Ramiro Barcelos e Av. Borges de Medeiros. Após as coletas, as amostras foram encaminhadas, sob refrigeração, até o laboratório de Microbiologia para a realização das análises microbiológicas.

Os isolamentos bacterianos foram realizados em diferentes meios de cultura tais como: ágar Salmonella-Shigella (SS), ágar Cetrimide, ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), ágar Trypticaseína de soja (TSA) para posterior identificação das bactérias. As placas foram incubadas a temperatura de 37⁰ C por 24-48h.

Após o isolamento e posterior coloração pelo método de Gram, para verificação da pureza da colônia, foram realizados diferentes testes bioquímicos para a identificação das amostras de bactérias Gram-negativas: oxidase, catalase, ágar tríplice açúcar ferro (TSI), Citrato, Oxidação-Fermentação (OF), SIM, Citrato, Fenilalanina, Glicose, Lactose e Uréia. Com base nos resultados obtidos, foi realizada a identificação utilizando Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1994).

Para a análise do perfil de resistência, foi utilizado o método de difusão em disco, onde a cultura pura foi crescida em caldo TSB (Caldo Triptona de Soja) até a turbidez adequada. Após o crescimento essa cultura foi inoculada, com um suabe estéril, em uma placa contendo o meio de cultura ágar Muller Hinton, onde foram dispostos os seguintes antibióticos: AMC (10µg), AMP (30µg), CFL (30µg) CFO (30µg), CIP (5µg), CLO (30µg), CRO (30µg), EST (10µg), GEN (10µg), IMP (10µg), NIT (300µg), NOR (10µg), SUT (25µg) e TET (30µg). Após um período de incubação de 16-18 horas, mediu-se o tamanho dos halos e comparou-se com uma tabela específica para a interpretação dos resultados.

Resultados e Discussão

No decorrer do trabalho foram isoladas 84 colônias dos diferentes meios de cultura, destas 59 foram identificadas através de provas bioquímicas, as demais necessitam de mais testes para se alcançar a identificação. Os 59 isolados (70% do total) são da Família das Enterobacteriaceae e diferentes gêneros foram identificados. *Escherichia coli* foi a espécie predominante com 22 isolados, *Klebsiella pneumoniae* (6), *Escherichia adecerboxilata* (5), *Citrobacter diversus* (5), *Shigella sonnei* (4), *Enterobacter intermedium* (3), *Yersinia pseudotuberculosis* (2), *Providencia rettgeri* (1), *Serratia liquefanciens* (1), *Enterobacter aerogenes* (1), *Klebsiella oxytoca* (1), *Enterobacter gergoviae* (1), *Citrobacter amalonaticus*

(1), *Escherichia blattae* (1), *Enterobacter agglomerans* (1), *Shigella dysenteriae* (1), *Proteus mirabilis* (1), *Citrobacter freundii* (1), *Serratia plymuthica* (1).

Considerando o grande descaso sofrido pelo Arroio Dilúvio uma grande diversidade bacteriana é esperada. Diariamente são liberados no arroio 600Kg de resíduo provenientes de diversas fontes. A presença de bactérias do grupo das Enterobacteriaceae condiz com o fato que o Arroio Dilúvio recebe uma descarga grande de esgoto doméstico *in natura*. É importante identificarmos as espécies microbianas presentes nesse ambiente, pois a determinação das espécies bacterianas produz informações valiosas a respeito das fontes poluidoras das águas superficiais. Vilanova *et al.*,(2002).

A população microbiana no ambiente está exposta a condições de sobrevivência estressante, isto deve determinar a prevalência de algumas espécies mais adaptadas, como é o caso da *E. coli*. Neste estudo, portanto as características das águas podem inevitavelmente influenciar a sobrevivência da população bacteriana nesse ambiente.

Quanto ao perfil de resistência podemos observar um maior nível de resistência à antimicrobianos na 4ª coleta onde obtivemos 95,45% dos isolados resistentes a 2 ou mais antimicrobianos, para 1ª e 3ª coletas foi observado 66,66% e na 2ª, 58%. A porcentagem mais elevada pode estar relacionada às diferentes estações do ano, onde o período chuvoso pode causar o aumento da incidência de resistência a antimicrobianos, de acordo com Peak *et al.*, (2007).

A resistência a antimicrobianos pode também estar relacionada com a contaminação que o arroio sofre das unidades de saúde do município e também o uso de antibióticos sem controle pela população, com isso o ele pode se tornar um potencial veículo transmissor de doenças.

Conclusões

Como o Arroio Dilúvio deságua no Lago Guaíba, o qual serve para o abastecimento de água potável para a população, é importante que medidas sejam tomadas para tratar esse resíduo antes do seu despejo e o monitoramento do mesmo.

Referências

COMITÊ GESTOR DE EDUCAÇÃO AMBIENTAL DA PMPA (CGEA). **Cartilha de educação ambiental**. Porto Alegre, 2007

HOLT, J. G., *et al.* **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Vol. 1. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. p.408-516.

MENEGAT, Rualdo (Coord.). **Atlas Ambiental de Porto Alegre**. 3. ed. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 2006. 256p.

Vasconcelos F. R., *et al.*, Perfil de resistência antimicrobiana de *escherichia coli* isoladas do açude Santo Anastácio, Ceará, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.3, p.405-410, jul./set., 2010.

VILANOVA X., *et al.* The effect of a sewage treatment plant effluent on the faecal coliforms and enterococci populations of the reception river waters. **Journal of Applied Microbiology**. v.92, 210–214, 2002.