

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Instituto de Biociências
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL

**RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM *Pseudomonas aeruginosa*
E *Acinetobacter* sp. ISOLADOS DE AMBIENTE MARINHO**

Bruno Rodrigues da Fonseca Bon

Orientadora: Prof. Dra. Gertrudes Corção

IMBÉ, 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Instituto de Biociências
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL

**RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM *Pseudomonas aeruginosa*
E *Acinetobacter* sp. ISOLADOS DE AMBIENTE MARINHO**

Bruno Rodrigues da Fonseca Bon

Monografia apresentada como um dos requisitos
para a aprovação no Trabalho de Conclusão
de Curso II.

Orientadora: Prof. Dra. Gertrudes Corção

Dedico o presente trabalho à minha família
e à Gabriele, minha namorada e companheira.

IMBÉ, 2013

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha namorada, Gabriele Gruener Cardozo, por todo o apoio indispensável, amor e toda a paciência enquanto estava realizando o presente trabalho.

Agradeço aos meus pais, Cornélio Alexandre Guimarães Bon e Claudia Rodrigues da Fonseca Bon, por me dar o apoio necessário pra eu seguir meus sonhos e pelas sábias palavras de incentivo em momentos de dificuldades.

Agradeço à minha família, por acreditarem em mim quando saí de casa e fui em busca do meu sonho, um sonho diferente.

Agradeço também aos meus sogros, Ayrton e Laurena Cardozo, por me acolherem na casa e na família deles.

Agradeço aos meus colegas de turma, pela amizade companheirismo nos momentos difíceis do curso.

Agradeço aos colegas do laboratório 166 pela indispensável ajuda e companhia na obtenção dos meus resultados.

Agradeço também aos meus amigos, que sempre me disseram palavras inspiradoras e me apoiaram no momento de seguir meu sonho longe da minha cidade.

“O bom é inimigo do ótimo, batalhe pra ser sempre o melhor.”

Frase sempre dita por meu pai, Alexandre Bon.

RESUMO

Sabe-se que a poluição é um problema muito comum nos dias de hoje e que isso causa inúmeras dificuldades na sociedade atual, principalmente nos locais onde não se tem uma condição humana de saneamento básico. Porém mesmo em cidades com certo grau de desenvolvimento, não há uma fiscalização adequada, sendo o caso do município de Tramandaí, onde não se fiscaliza a correta disposição dos esgotos domésticos. Devido à entrada de esgoto no ambiente marinho e no Rio Tramandaí, o qual deságua na praia de Tramandaí, a descarga de matéria orgânica e de possíveis agentes transmissores de resistência nesse ambiente é muito grande. Dentre as bactérias que habitam esse ambiente o estudo foi realizado com *Acinetobacter* sp. e *Pseudomonas aeruginosa*, duas bactérias de importância médica por terem a habilidade de facilmente adquirir resistência aos antimicrobianos, e também por serem responsáveis por infecções oportunistas muito comuns. A diferença na densidade populacional no município nos meses de inverno e verão é muito grande (cerca de 10 vezes maior no verão), o que causa uma maior geração de esgoto, ocasionando em uma maior contaminação no ambiente marinho da região, contribuindo com o aparecimento não só de mais bactérias, mas também de bactérias multirresistentes.

ABSTRACT

It is known that pollution is a very common problem these days and this causes many difficulties in today's society, especially where you do not have a human condition of sanitation. But even in cities with a certain degree of development, there is no adequate supervision, and the case of the city of Tramandai where not oversee the correct disposal of domestic sewage. Due to the entry of sewage into the marine environment and Tramandaí River, which empties into the Tramandai's beach, the discharge of organic matter and possible transmission agents of resistance in this environment is very large. Among the bacteria inhabiting this environment study was conducted with the *Acinetobacter* sp. and *Pseudomonas aeruginosa*, two bacteria of medical importance because they have the ability to easily acquire antimicrobial resistance, and also to be responsible for very common opportunistic infections. The difference in population density in the city in the winter and summer months is very large (about 10 times higher in the summer), which causes an increased generation of wastewater, resulting in a higher contamination in the marine environment of the region, contributing to the emergence more not only bacteria, but also multidrug-resistant bacteria.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	6
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	8
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
4.1 Coletas.....	16
4.2 Resistência a antimicrobianos em <i>P. aeruginosa</i>	18
4.3 Resistência a antimicrobianos em <i>Acinetobacter</i> sp.....	19
5 CONCLUSÃO.....	21
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23

1 INTRODUÇÃO

O município de Tramandaí, localizado no litoral norte do Rio Grande do Sul apresenta uma grande importância para o estado gaúcho, por ser uma das principais cidades litorâneas deste estado, e também por ser a praia mais perto da capital gaúcha, Porto Alegre. Há uma grande variação na densidade demográfica de Tramandaí, sendo que nos meses de veraneio (dezembro, janeiro e fevereiro) a população local chega a cerca de 400 mil habitantes, segundo informações locais, sendo que nos outros meses a população residente é de 41.585 habitantes (segundo o censo do IBGE, 2010). Devido aos vários habitantes nos meses de verão e a falta de um sistema de coleta e tratamento de esgoto que atenda a um número expressivo de residências, o despejo dos efluentes no ambiente marinho acarreta em um grande aporte de matéria orgânica, levando a um aumento nas populações de microrganismos, podendo inclusive levar a certos microrganismos adquirirem resistência a alguns antibióticos.

Os organismos presentes nesse estudo possuem uma importância médica muito grande, pois podem causar doenças principalmente em pessoas que possuam uma baixa taxa de imunidade, sendo consideradas doenças oportunistas. E também por possuírem a capacidade de adquirir mecanismos de resistência aos principais antimicrobianos, com isso dificultando o tratamento.

O presente trabalho teve como objetivo geral verificar se *Pseudomonas* sp. e *Acinetobacter* sp. de ambiente marinho são reservatórios de determinantes de resistência. E como objetivo específico, observar se o aumento populacional no município de Tramandaí contribui para o aparecimento ou aumento de microrganismos multirresistentes a antimicrobianos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

“Alguns microrganismos de importância médica, como *Pseudomonas aeruginosa*, podem manter-se por longos períodos em ambientes como corpos d’água, formando rotas de disseminação e reservatórios ambientais de genes de resistência” (Apud Meirelles-Pereira *et al.*, 2002). De acordo com Blanc *et al.*, a *P. aeruginosa* é um microrganismo com características ubiqüitárias, presente na água, solo e planta, sendo responsável por uma proporção bastante significativa de infecções nosocomiais. Ela é uma bactéria móvel, em forma de bastonete, Gram-negativa e ocorre isoladamente, em pares e, em certas ocasiões, em cadeias curtas. Gad *et al.* (2007) afirma que a *P. aeruginosa* possui uma habilidade bastante efetiva de adquirir resistência a praticamente todas as classes de antimicrobianos efetivos.

Kimata *et al.* afirma que na natureza, *P. aeruginosa* está presente em vários ambientes, sendo eles o solo, a água, saídas de esgotos, nas entranhas de mamíferos e em algumas plantas. Porém, isolados do ambiente marinho, a distribuição aparente ficou restrita às linhas de praia e desembocaduras de rios.

De acordo com Yoshpe-Puper e Golderman (1987), *P. aeruginosa* é um organismo que está presente em vários ambientes, desde entranhas de mamíferos até plantas, podendo inclusive se proliferarem em água destilada. Dizem também que esse organismo provavelmente não é natural do ambiente marinho, mas pode ser encontrado em águas marinhas próximas à desembocaduras de rios poluídos, já que estão constantemente presentes em amostras provenientes de esgotos.

De acordo com Gerischer (2008), *Acinetobacter* é um gênero de bactéria Gram-negativa que pertence ao filo Proterobacteria. As espécies de *Acinetobacter* são oxidase-negativas, não móveis, e se apresentam em pares. São importantes organismos no solo, onde contribuem na mineralização de, por exemplo, compostos aromáticos. As *Acinetobacter* também são uma importante fonte de infecções hospitalares, quando atingem principalmente pacientes imunologicamente debilitados. Sendo capazes de viver em diversos habitats e são capazes de adquirir resistência a diversas classes de antimicrobianos.

Oh *et al* (2009) afirma que em adição á essa ampla distribuição das bactérias do gênero *Acinetobacter*, elas vêm se tornando resistentes a várias classes de agentes antimicrobianos através de mutação e seleção ou até mesmo adquirindo de outra bactéria o mecanismo genético responsável pela resistência, tornando os organismos desse gênero naturalmente resistentes aos antibióticos artificiais. Eles dizem também que os ambientes aquáticos possuem grande importância médica, pois servem de reservatório para espalhar a resistência aos antimicrobianos por transformação natural ou por conjugação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para a obtenção das amostras analisadas, foram realizadas duas coletas (setembro de 2012 – coleta 1; fevereiro de 2013 – coleta 2), cada uma em quatro pontos distintos ao longo da praia do município de Tramandaí – RS (Figura 1). Para cada ponto, foram realizadas 3 amostragens, resultando um total de 12 amostras por cada coleta. Em cada ponto foi coletado 1 litro de água do mar em uma garrafa de vidro estéril e acondicionada sob refrigeração por no máximo 8 horas antes do processamento.

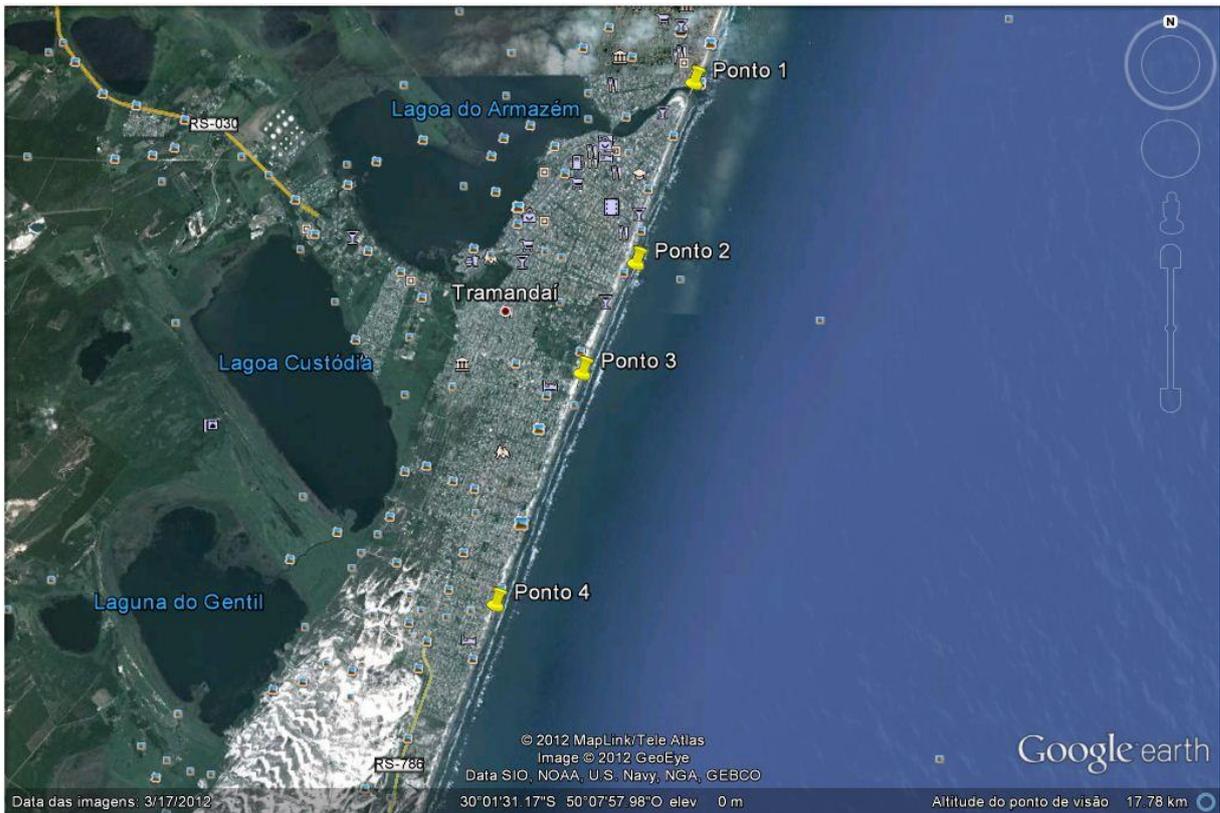


Figura 1: Pontos das coletas propostos. (Fonte: Google Earth)

Para isolar e identificar *Pseudomonas aeruginosa*, alíquotas de 100 mL das amostras foram concentradas por filtração em membranas de ésteres mistos de $0,45\mu\text{m}$ de porosidade. As membranas foram então transferidas para Caldo Asparagina e incubadas a 37°C por 24-48 horas. A produção de fluorescência verde sob luz ultravioleta no Caldo, indicará teste presuntivo positivo para *Pseudomonas* (Figura 2). Alíquotas de 1mL do Caldo Asparagina que apresentar fluorescência foiforam transferidas para Caldo Acetamida e incubadas a 37°C por 24 horas. O desenvolvimento de coloração rosa no Caldo indicará presença de *P. aeruginosa* (Figura 3). Alíquotas de $100\mu\text{L}$ foram semeadas em placas com Ágar Cetrimide para seleção de colônias características (Figura 4). Os isolados foram identificados fenotipicamente através da coloração de Gram e por provas bioquímicas clássicas: citocromo-oxidase, redução de nitrato, oxidação e fermentação da glicose e lactose, motilidade, produção de H_2S e produção de pioverdina (Figura 5).

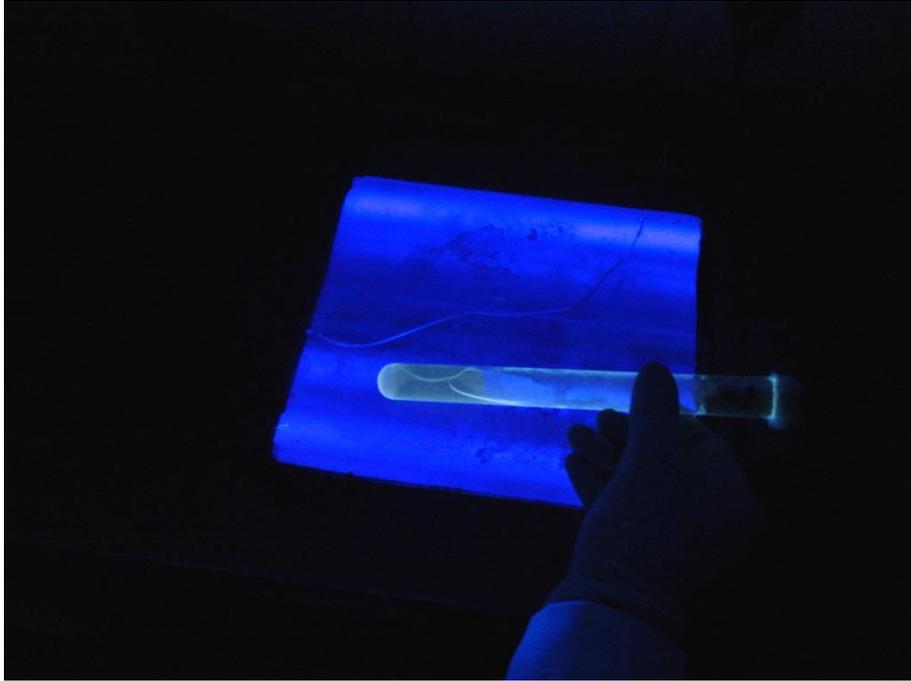


Figura 2: Caldo asparagina fluorescente representando resultado presuntivo positivo para *Pseudomonas aeruginosa*. (Fonte: Acervo próprio)



Figura 3: Caldo acetamida apresentando coloração rosa representando resultado positivo para *Pseudomonas aeruginosa*. (Fonte: Acervo próprio)



Figura 4: Ágar Cetrimide, onde a coloração verde indica *Pseudomonas aeruginosa*.
(Fonte: Acervo próprio)



Figura 5: Exemplos de testes bioquímicos utilizados na identificação dos isolados de *Pseudomonas* e *Acinetobacter*.

Para isolar e identificar *Acinetobacter* sp., alíquotas de 100mL das amostras foram filtradas primeiro por um filtro de nylon com 0,7 μ m de porosidade para a retirada de impurezas passíveis de alterar os resultados, após essa etapa, foram concentradas por filtração em membranas de ésteres mistos de 0,45 μ m de porosidade. As membranas foram então imersas em um Caldo de enriquecimento para *Acinetobacter* proposto por OH, J. Y. *et al* em 2009 (0,15% KH₂PO₄, 1,65% Na₂HPO₄ · 2H₂O, 0,00005% FeSO₄ · 7H₂O, 0,02% MgSO₄ · 7H₂O, 0,01% CaCl₂, 0,2% C₂H₃O₂Na; pH 7,5). Dos tubos onde houve crescimento, foi feita uma semeadura em placar de Agar MacConckey, onde foram selecionadas as colônias de *Acinetobacter*, para a identificação do gênero foi realizado coloração de Gram, citocromo oxidase, motilidade e fermentação da glicose.

O perfil de susceptibilidade dos isolados de *P. aeruginosa* e de *Acinetobacter* sp. foi determinado pela técnica de disco-difusão em ágar (Figuras 6 e 7) de acordo com as normas do CLSI (*Clinical Laboratory Standards Institute*, 2011). Foram testados os seguintes antimicrobianos: amicacina (30 μ g), gentamicina (10 μ g), ciprofloxacina (5 μ g), ceftazidima (3 μ g), piperacilina-tazobactam (100 μ g / 10 μ g), ticarcilina-ácido clavulânico (75 μ g / 10 μ g), imipenem (10 μ g), meropenem (10 μ g), cefepime (30 μ g), aztreonam (30 μ g) e polimixina B (300 μ g). Isolados resistentes a pelo menos quatro classes distintas de antimicrobianos foram considerados multirresistentes. Nas análises dos resultados, isolados com fenótipo resistente e intermediário foram agrupados como isolados com suscetibilidade diminuída.

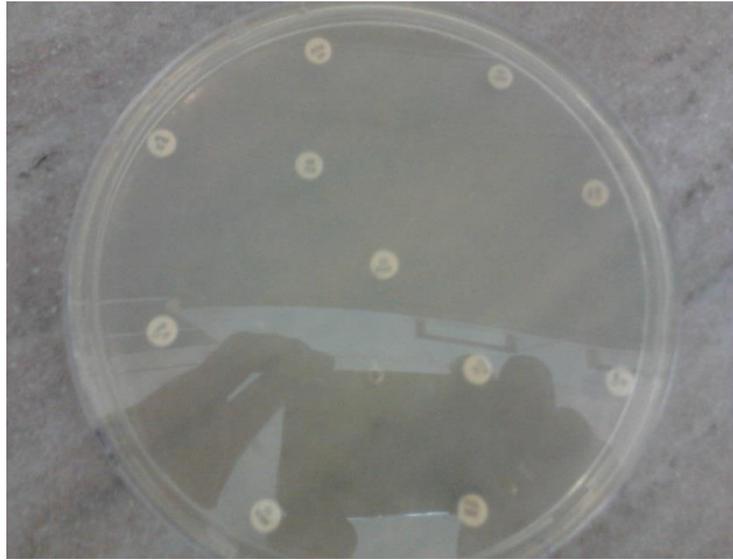


Figura 6: Antibiograma de *Pseudomonas* sp. em Ágar Mueller-hinton, onde se observa os discos de antimicrobianos. (Fonte: Acervo próprio)

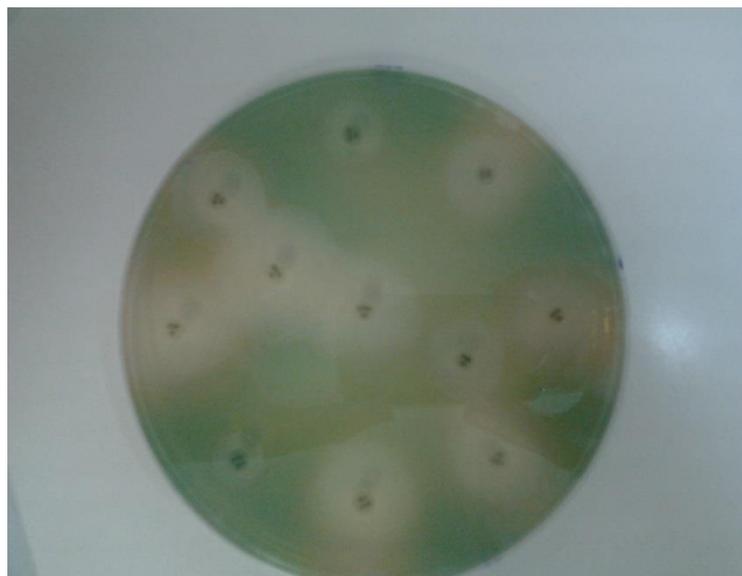


Figura 7: Ágar Mueller-hinton, onde se observa os discos de antimicrobianos assim como os halos de inibição de *Pseudomonas* sp.. (Fonte: Acervo próprio)

As classes consideradas no presente trabalho e seus respectivos antimicrobianos são: Penicilinas (piperacilina-tazobactam e ticarcilina), Cefens (cefepime e ceftazidima), Monobactam (aztreonam), Carbapenens (imipenem e meropenem), Aminoglicosídeos (amicacina e gentamicina), Fluoroquinolonas (ciprofloxacina) e Polimixinas (polimixina B).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 COLETAS

As datas de cada coleta foram escolhidas levando-se em conta a época do ano, uma vez que no município de Tramandaí, por ser litorâneo, possui um aumento populacional bastante considerável nos meses de verão (período de veraneio). Devido a esse motivo, o impacto causado pela população muda conforme a época do ano, tendo cerca de 10 vezes mais habitantes nos meses de verão em relação aos meses de inverno.

Por outro lado, os pontos de coleta foram determinados com base principalmente na densidade populacional de cada área do município. O primeiro ponto, localizado no estuário do rio Tramandaí, onde a densidade populacional não é tão alta quanto no segundo ponto, porém há bastante habitantes e possui um aporte de água doce relativamente grande devido ao rio Tramandaí. O segundo ponto localiza-se na direção da Avenida Rubem Berta, em frente à casa de shows Le Café Tropical, onde possui uma grande população, principalmente no verão. O terceiro ponto é na plataforma de pesca de Tramandaí, onde há vários pescadores, porém a densidade populacional é bem menor do que nos pontos anteriores. O quarto ponto de coleta localiza-se na direção da Avenida Vereador Ivo Schneider, onde a densidade populacional é muito menor, havendo poucas pessoas residentes nessa área do município.

As coletas resultaram em 31 isolados no primeiro dia, sendo 18 de *Pseudomonas aeruginosa* e 13 de *Acinetobacter* sp., e 39 isolados no segundo, sendo 21 de *Pseudomonas aeruginosa* e 18 de *Acinetobacter* sp., conforme os dados presentes na Tabela 1.. Apesar de ter havido uma amostra com poucos isolados, o resultado obtido fornece uma tendência de aumento populacional nos meses de verão dos microrganismos aqui estudados, sendo que o gênero *Pseudomonas* foi sempre o mais encontrado.

COLETA 1 (26/09/2012) (n = 31 isolados)		
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter</i> sp.
Ponto 1	3 isolados	4 isolados
Ponto 2	4 isolados	3 isolados
Ponto 3	6 isolados	3 isolados
Ponto 4	5 isolados	3 isolados
Subtotal	18 isolados	13 isolados
COLETA 2 (20/01/2013) (n= 39 isolados)		
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter</i> sp.
Ponto 1	4 isolados	4 isolados
Ponto 2	7 isolados	6 isolados
Ponto 3	3 isolados	4 isolados
Ponto 4	7 isolados	4 isolados
Subtotal	21 isolados	18 isolados

Tabela 1: Isolados de *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* resultantes da primeira e segunda coleta

As coletas foram realizadas conforme está disposto anteriormente, e de acordo com as tabelas acima os resultados obtidos nessa primeira fase resultou em uma tendência em haver uma maior quantidade de isolados nos meses de verão. Podendo ser explicado pelo fato da população do município de Tramandaí aumentar quase 10 vezes (de cerca de 42 mil habitantes, para cerca de 400 mil) nos meses de veraneio e também pelo fato da cidade apenas possuir cerca de 29% das residências com coleta de esgoto (de acordo com informações obtidas na prefeitura do município), os outros 71% do esgoto não é coletado e não há fiscalização pra certificar que estão sendo utilizadas fossas, sendo, muitas vezes, despejado nos corpos d'água e conseqüentemente no mar, sobrecarregando a carga de matéria orgânica nesse ambiente e assim facilitando o crescimento de bactérias.

4.2 Resistência a antimicrobianos em *P. aeruginosa*

Com relação a *P. aeruginosa*, os testes de antimicrobianos demonstraram que nos meses de inverno não houve isolados com uma resistência muito significativa, apresentando poucos perfis de suscetibilidades e um número maior, se comparado com os meses de verão, de isolados suscetíveis a todos os antimicrobianos testados. Já nos meses de verão, os isolados apresentaram um perfil de suscetibilidade muito mais variado, apresentando menos isolados suscetíveis a todos os antimicrobianos. Houve também a ocorrência de isolados multirresistentes (11 isolados), principalmente nos pontos 2 e 4, devido, provavelmente, ao não tratamento do esgoto e a falta de fiscalização das fossas sépticas das residências, as quais lançam esgoto não tratado direto no ambiente, e também devido ao fato de que os pontos 2 e 4 serem mais densamente populosos no verão (Tabela 2).

COLETA 1		COLETA 2		
Perfil de suscetibilidade de	Número de isolados	Perfil de suscetibilidade	Número de isolados	Ponto de coleta dos multirresistentes
Sensíveis a todos	6	Sensíveis a todos	2	-
ATM	2	IPM	1	-
TIC-ATM	10	IPM-POL	1	-
		TIC-POL	1	-
		TIC-COM	1	-
		TIC-IPM-COM	1	-
		GEN-TIC-COM	1	-
		PPT-TIC-ATM-POL	1	-
		AMI-GEN-IPM-CPM	1	-
		TIC-IPM-CPM-POL	1	2
		AMI-GEN-TIC-IPM-CPM	2	2 e 3
		TIC-IPM-CPM-ATM-POL	1	4
		GEN-CAZ-PPT-IPM-CPM	1	4
		GEN-CAZ-TIC-IPM-CPM-ATM	1	4
		GEN-PPT-TIC-IPM-CPM-ATM	1	2
		AMI-GEN-CAZ-CPM-ATM-POL	1	1
		AMI-GEN-PPT-IPM-CPM-POL	1	4
		AMI-GEN-PPT-TIC-CPM-ATM	1	2
		GEN-CAZ-PPT-TIC-IPM-CPM-ATM	1	2

Tabela 2: Perfil de resistência de *Pseudomonas aeruginosa* das amostras de ambas as coletas (verde: suscetíveis a todos; amarelo: resistentes a menos de 4 classes; vermelho: multirresistentes).

No verão, como dito anteriormente, a população de Tramandaí aumenta praticamente 10 vezes, e a mesma se concentra mais no Centro da do município e nos bairros chamados Tramandaí Sul e Oásis do Sul, esse último sendo o local do ponto 4 das coletas. No caso do ponto 2, o mesmo se localiza no Centro. Essa é a possível explicação porque nesses dois pontos houve uma maior concentração das isolados e também de isolados multirresistentes na segunda coleta.

Na primeira coleta, houve uma menor concentração das amostras no ponto 4, o qual apresenta uma população muito baixa nos meses que não há veraneio, por isso também nessa coleta houve mais isolados sensíveis.. No ponto 1, que se localiza na Barra de Tramandaí e onde deságua o Rio Tramandaí, não possui uma densidade populacional muito elevada, tanto no inverno quanto no verão, por isso houve uma baixa taxa de isolados tanto na primeira quanto na segunda coleta. E o fato de haver uma corrente de água doce (proveniente do rio), as partículas são levadas para águas mais profundas e assim os agentes antimicrobianos vão junto, deixando as amostras coletadas mais suscetíveis. O ponto 3, localizado na Plataforma de Pesca de Tramandaí é um ponto de coleta onde não há uma alta densidade populacional, mas também não é pequena. Os isolados deste ponto apresentaram uma suscetibilidade diminuída mediana. O número de isolados com suscetibilidade diminuída obtidos na coleta 2 foi maior em relação a coleta 1 devido á influência dos ponto 2 e 4, observando uma semelhança entre eles quanto ao número de isolados. Já os pontos 1 e 3 obtiveram uma maior semelhança, com menos isolados observados. (Tabela 3).

LOCAL DA COLETA	COLETA 1		COLETA 2	
	Isolados susceptibilidade diminuída	Isolados sensíveis	Isolados susceptibilidade diminuída	Isolados sensíveis
PONTO 1	3	0	2	2
PONTO 2	4	0	7	0
PONTO 3	3	3	3	0
PONTO 4	2	3	7	0
Total	12	6	19	2

Tabela 3: Isolados de *Pseudomonas aeruginosa* com susceptibilidade diminuída e sensíveis.

4.3 Resistência a antimicrobianos em *Acinetobacter* sp.

Para os isolados de *Acinetobacter* sp., os testes com os antimicrobianos demonstraram que na primeira coleta (inverno) houve mais perfis de suscetibilidade em comparação aos de *P. aeruginosa*, e também ocorreu um caso de multirresistência nessa coleta., Observa-se que diferentemente de *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* sp. não apresentou nenhum isolado suscetível a todos os antimicrobianos testados na primeira coleta e também houve uma ocorrência de multirresistência. Pode-se relatar que *Acinetobacter* é um gênero com boa capacidade de aquisição de resistência a antimicrobianos. Já na segunda coleta, , ocorreu um maior número de isolados e de isolados multirresistentes (8 isolados) resistentes em comparação à primeira coleta. Não houve isolados multirresistentes no quarto ponto de coleta, apenas um isolado e na primeira coleta, em contrapartida, no ponto de coleta 1 ocorreu uma ampla gama de multirresistentes (Tabela 4).

Desde 1970, isolados clínicos de *Acinetobacter* sp. têm demonstrado um aumento na resistência a antimicrobianos. Inicialmente, demonstrou-se a aquisição de resistência a aminopenicilinas, ureidopenicilinas, primeira e segunda geração de cefalosporinas, cefamicinas, Aminoglicosídeos, clorafenicol e tetraciclinas. (Abbo *et al.*, 2005). Mais recentemente, tem aumentado a preocupação com isolados de *Acinetobacter* sp. que apresentam resistência aos carbapenêmicos, particularmente ao imipenem (Sinha e Srinivasa, 2007).

COLETA 1		COLETA 2		COLETAS 1 E 2
Perfil de suscetibilidade de	Número de isolados	Perfil de suscetibilidade	Número de isolados	Ponto de coleta dos multirresistentes
Sensíveis a todos	0	Sensíveis a todos	1	-
POL	1	CAZ-CPM	1	-
PPT	1	GEN-TIC	1	-
TIC-POL	5	GEN-IPM	1	-
PPT-ATM	1	TIC-POL	1	-
PPT-POL	1	GEN-CAZ	1	-
CPM-ATM-POL	1	GEN-TIC-ATM	1	-
PPT-CPM-ATM	1	AMI-TIC-ATM	1	-
PPT-TIC-CPM-ATM-POL	1	AMI-GEN-CAZ-COM	1	4
		AMI-GEN-CPM-ATM	1	-
		TIC-IPM-ATM-POL	1	1
		AMI-GEN-TIC-CPM-ATM	1	3
		AMI-GEN-TIC-IPM-ATM	1	1
		PPT-TIC-CPM-ATM-POL	1	1
		CIP-TIC-IPM-ATM-POL	1	2
		AMI-TIC-IPM-CPM-ATM	1	2
		AMI-CAZ-TIC-IPM-CPM-ATM	1	3
		GEN-PPT-TIC-IPM-CPM-ATM	1	2

Tabela 5: Perfil de resistência de *Acinetobacter* sp. das amostras de ambas as coletas (verde: suscetíveis a todos; amarelo: resistentes a menos de 4 classes; vermelho: multirresistentes).

Em *Acinetobacter*, assim como em *Pseudomonas aeruginosa*, houve uma tendência a um maior aparecimento de isolados com suscetibilidade diminuída no mês de janeiro, no qual há mais veranistas no município e com isso, uma maior poluição no ambiente marinho. Na primeira coleta observa-se uma igualdade no número de isolados encontrados entre os pontos de coleta, indicando uma maior homogeneidade na distribuição dos microrganismos no ambiente marinho. Já na

segunda coleta, ocorreu uma maior ocorrência de isolados com suscetibilidade diminuída no segundo ponto de coleta. No primeiro ponto, das quatro isolados obtidas, em três foram observadas suscetibilidade diminuída sendo apenas uma sensível a todos os antimicrobianos (Tabela 6).

LOCAL DA COLETA	COLETA 1		COLETA 2	
	Isolados com suscetibilidade diminuída	Isolados sensíveis	Isolados com suscetibilidade diminuída	Isolados sensíveis
PONTO 1	3	0	3	1
PONTO 2	3	0	6	0
PONTO 3	4	0	4	0
PONTO 4	3	0	4	0
Total	13	0	17	1

Tabela 6: Isolados de *Acinetobacter* sp. com suscetibilidade diminuída e sensíveis.

5 CONCLUSÃO

No presente estudo foi possível concluir, principalmente, que com o aumento da população no município de Tramandaí, a população dos microrganismos testados tende a aumentar também. Os motivos que podem explicar tal tendência ao aumento é, claro, o aumento da população no município estudado e também o caso da cidade não possuir um sistema de coleta de esgoto muito eficiente, visto que de acordo com a prefeitura, apenas cerca de 29% das residências do município possuem rede coletora de esgoto, os outro 71% seria pelo sistema de fosse séptica.

Porém, como a responsabilidade de ligar o esgoto doméstico na rede coletora é do próprio morador, não há uma fiscalização que possa dizer com certeza quantas residências realmente têm seu esgoto devidamente coletado. Assim como não há no município uma fiscalização adequada a respeito das fossas sépticas das outras residências, o que leva a crer que muitas propriedades estão lançando seus esgotos diretamente no lençol freático ou nos corpos d'água, que por sua vez eh levado diretamente ao ambiente marinho, o ambiente estudado. Tal disposição

irregular do esgoto contribui para o aumento na carga orgânica na costa marinha, contribuindo também para o aumento de microrganismos.

Com o aumento da carga de esgoto no ambiente marinho, foi observado também que houve um aumento considerável nos perfis de resistência das espécies estudadas, inclusive na quantidade de isolados multirresistentes, indicando uma forte tendência ao aparecimento de microrganismos mais resistentes no verão, em comparação ao inverno. Portanto o ambiente marinho também é um veículo de disseminação de cepas de microrganismos resistentes a antimicrobianos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBO, A. et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Emerg Infect Dis.** v. 11, p. 22-29, 2005.

BLANC, D. S. et al. Frequency and molecular diversity of *Pseudomonas aeruginosa* upon admission and during hospitalization: a prospective epidemiologic study. *Clin Microbial Infect* 4, 242-247. 1998.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Seventeenth informational supplement. M100-S17. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.

DITTRICH, M. & LUTTGE, A. Microorganisms, mineral surfaces, and aquatic environments: Learning from the past for future progress. *Geobiology*, v. 6, p. 201-213, 2008.

FERREIRA, A. E. Caracterização molecular e detecção de genes de resistência em isolados de *Acinetobacter* spp. de amostras clínicas e efluente hospitalar. Tese de doutorado. Porto Alegre-RS, Brasil.. 2010.

FERREIRA, A. E. et al. Perfil de suscetibilidade a antimicrobianos em cepas de *Acinetobacter* spp. isoladas de efluente hospitalar em Porto Alegre-RS. *Caderno de Famácia*, v. 23, p. 9-14, 2007.

FUENTEFRÍA, D. B.; FERREIRA, A. F.; CORÇÃO, G. *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a antimicrobianos isoladas de esgotos hospitalares e água superficial: estão elas geneticamente relacionadas? Tese de doutorado. Porto Alegre/RS – Brasil, 2009

GAD, G. F. et al. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical and environmental samples in Minia, Egypt: prevalence antibiogram and resistance mechanisms. *J. Antimicrobial. Chemother.*60, 1010-1017. 2007.

KHAN, N. H. et al. Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* from open ocean and comparison with freshwater, clinical and animal isolates. *Microbial Ecology*, v. 53, p. 173-186, 2007.

KHAN, N. H. et al. Multilocus sequence typing and phylogenetic analyses of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from the ocean. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 74, n. 20, p. 6194-6205, 2008.

MEIRELLES-PEREIRA, F. et al. Ecological aspects of the antimicrobial resistance in bacteria of importance to humans infections. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 33, p. 287-293, 2002.

OH, J. Y. et al. Distribution of genomic species and antimicrobial susceptibility in *Acinetobacter* isolated from Gangjin Bay, Korea. *Journal of Bacteriology and Virology*, v. 39, n. 4, p. 247-256, 2009.

OLIVEIRA, M. S. Tratamento de infecções causadas por *Acinetobacter* spp. resistente a carbapenem. São Paulo – Brasil, 2007.

SINHA, M e SRINVASA, H. Mechanisms fo resistance to carbapenems in meropenem-resistant *Acinetobacter* isolates from clinical samples. **Indian Journal of Medical Microbiology**. v. 25, p. 121-125. 2007

SIQUEIRA, F. S. de. Mecanismos de resistência a β -lactâmicos em *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista do Biomédico*, v. 48, p. 24, 2002.

SPIPKER, T. et al. PCR-based assay for differentiation of *Pseudomonas aeruginosa* from other *Pseudomonas* species recovered from cystic fibrosis patients. *J. Clin. Microbiol* 42, 2074-2079. 2004.

STRATEVA, T. & YORDANOV, D. *Pseudomonas aeruginosa* – a phenomenon of bacterial resistance. *Journal of Medical Microbiology*, v. 58, p. 1133-1148, 2009.

YOSHPE-PURER, Yona; GOLDERMAN, Sicilia. Occurrence of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in Israeli Coastal Water. **Applied And Environmental Microbiology**, v. 53 n. 5, p.1138-1141, maio 1987.