



Evento	Salão UFRGS 2020: SIC - XXXII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2020
Local	Virtual
Título	Identificação de Bactérias Gram-Negativas Isoladas do Rio dos Sinos
Autor	RENATA DE SOUZA LAMEIRA
Orientador	SUELI TERESINHA VAN DER SAND

IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS ISOLADAS DO RIO DOS SINOS

AUTOR: RENATA LAMEIRA

ORIENTADOR: SUELI VAN DER SAND

RESUMO

A bacia do Rio dos Sinos integra aproximadamente 32 municípios e ao longo do seu curso e recebe diversos tipos de efluentes provenientes de indústrias e residências, o que acaba gerando uma alteração na qualidade da água, e conseqüentemente na diversidade da população microbiana local. Bactérias Gram-negativas são microrganismos de grande interesse quando se trata de perfil de resistência, pois possuem permeabilidade reduzida a antimicrobianos devido a presença de uma membrana externa a parede celular que atua como um mecanismo de resistência intrínseco. Em trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa foram isoladas 410 amostras oriundas do Rio dos Sinos. O objetivo do presente trabalho é recuperar estes isolados armazenados em glicerol 20% e identificar as bactérias Gram-negativas isoladas do Rio dos Sinos. A partir disso, os isolados foram cultivados em caldo TSB (Tryptone Soy Broth) visando a recuperação das bactérias e posteriormente as Gram-negativas foram isoladas em Agar Mac Conkey, seguido de coloração de Gram para a identificação das culturas puras. Os isolados foram identificados por meio de MALDI-TOF e futuramente serão realizados antibiogramas utilizando-se os antimicrobianos: penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos, glicopeptídeos, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos e tetraciclina. Posteriormente, será realizado PCR (polymerase chain reaction) para detecção de genes de resistência a β -lactâmicos, buscando os genes *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} e *bla*_{CTX-M}. Até o momento cerca de 70% das 410 bactérias foram recuperadas, dentre elas, aproximadamente 31% são Gram-negativas e destas 63 foram identificadas até o momento, sendo 36 *Enterobacter cloacae*, 18 *Escherichia coli*, 8 *Enterobacter asburiae* e 1 *Klebsiella pneumoniae*. Ao final deste trabalho, espera-se renovar o estoque destes isolados e obter o perfil de resistência das bactérias Gram-negativas.

Script para o vídeo do SIC 2020

Nome do Trabalho: Identificação de Bactérias Gram-Negativas Isoladas do Rio dos Sinos.

- O nome foi modificado pois ainda não foram feitas as avaliações de perfil antimicrobiano das amostras.

Observações:

- O vídeo tem apenas 5 minutos.
- É livre para usar a criatividade.

Planejamento:

- Fazer um vídeo interativo, mostrando esquemas e imagens conforme eu for falando.
- Sincronizar o áudio com o vídeo.

Áudio do vídeo:

[Apresentação]

Olá, meu nome é Renata, aluna de iniciação científica no Laboratório de Microbiologia Aplicada da UFRGS, orientada pela professora Sueli Van Der Sand e irei falar um pouquinho sobre o meu trabalho intitulado Identificação de Bactérias Gram-Negativas Isoladas do Rio dos Sinos.

Então vamos lá!

[Rio dos Sinos]

O Rio dos Sinos está situado a Nordeste do Rio Grande do Sul e integra e abastece aproximadamente 32 municípios, e em seu curso recebe diversos tipos de efluentes provenientes de indústrias e residências, como antimicrobianos, agrotóxicos, metais pesados e microrganismos patogênicos, que resulta na alteração da qualidade da água e na diversidade da população microbiana local.

A título de curiosidade o Rio dos Sinos é o 4º rio mais poluído do Brasil.

[Água]

Como todos sabem, a água é o fluido universal, sendo utilizada para diversas finalidades e fatores como permeabilidade do solo, chuvas e lixiviação, promovem a disseminação de contaminantes no ambiente, que está altamente ligado a resistência bacteriana.

[Bactérias gram-]

Bom, bactérias gram-negativas são de grande interesse quando se trata de perfil de resistência, tendo em vista, a presença de diversos mecanismos intrínsecos como a permeabilidade reduzida da membrana, bomba de efluxo, modificação do sítio de ação do antimicrobiano e mecanismo enzimático.

[Resistência bacteriana]

E com relação à resistência à antimicrobianos podemos citar os dois tipos, tanto a intrínseca como a adquirida, proveniente da pressão seletiva, como por exemplo o uso indiscriminado de antibióticos, promovendo a seleção das bactérias melhor adaptadas que possuem genes de resistência e podem passá-los adiante por meio de mecanismos de transferência bacteriana.

[Objetivo]

O objetivo desse trabalho então, é identificar bactérias gram-negativas, isoladas do Rio dos Sinos a partir de 410 amostras coletadas pelo nosso grupo de pesquisa anteriormente.

[Metodologia]

Com relação à metodologia, as amostras foram coletadas em 3 pontos, Três Coroas, Novo Hamburgo e Esteio, em estações de tratamento, mais especificadamente, em tubulações contendo água bruta do rio em 4 coletas sazonais: inverno e primavera de 2011 e verão e outono de 2012.

Enfim, utilizei essas amostras num total de 410 e as cresci em caldo TSB a 37°C, durante um período de 24h à 48h, com a finalidade de recuperar o máximo possível de amostras.

Após, fiz o cultivo em ágar MacConkey para o crescimento das gram-negativas, coloração de gram para o crescimento das culturas puras e então, passei para TSA para fazer a extração das proteínas e identificar as amostras por MALDI-TOF.

[Resultados]

Das 410 amostras, 287 foram recuperadas, sendo 88 gram-negativas, e dessas foram identificadas 63 até o momento.

Aqui temos um gráfico mostrando as 88 amostras gram-negativas e outro com as devidas identificações em que 36 são *Enterobacter cloacae*, 18 são *Escherichia coli*, 8 são *Enterobacter asburiae* e 1 *Klebsiella pneumoniae*.

[Discussão]

As espécies identificadas até então, possuem importância clínica e são amplamente estudadas, além disso, algumas delas fazem parte do grupo ESKAPE, que é o caso da *Enterobacter* e da *Klebsiella*.

Essas bactérias estão associadas a um alto índice de resistência e são bactérias do trato gastrointestinal. Infecções por esses microrganismos são difíceis de serem tratadas e por consequência estão correlacionadas a altas taxas de morbidade e mortalidade.

O trato gastrointestinal é o reservatório substancial de bactérias gram-negativas, a água e o solo, quando contaminados, executam um papel importante na propagação e no processo de seleção.

Os microrganismos identificados apontam o despejo de efluentes domésticos e industriais, o que demonstra falta de fiscalização sanitária e políticas públicas eficazes.

Tendo em vista, que pesquisas também demonstraram resistência à metais pesados e os despejos de efluentes industriais sem tratamento em 2006 que causaram a morte de mais de um milhão de peixes e outros organismos nos Sinos, podemos levantar então, a hipótese de resistência dos isolados.

Para isso precisamos continuar as pesquisas para compreender melhor a população microbiana presente nas águas destinadas para consumo, tal como seus perfis de resistência e genes envolvidos.

[Perspectivas]

Como perspectivas espero concluir as identificações e realizar os antibiogramas para obter os perfis fenotípicos de resistência das amostras e realizar PCR para os genes *bla*TEM, *bla*SHV e *bla*CTX-M.

[Conclusão]

Como conclusão, as bactérias identificadas são de grande importância clínica, sendo algumas representantes do grupo de patógenos ESKAPE, de grande interesse a continuidade da pesquisa, além da grande importância ambiental, pois afeta o ecossistema como um todo.