

## ISOLAMENTO, IDENTIFICAÇÃO, PERFIL DE RESISTÊNCIA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DA ÁGUA DE ABASTECIMENTO SERVIDA NAS REGIONAIS DE SAÚDE DE MARINGÁ E UMUARAMA

Ayla Rodrigues Trindade (PIC/CNPq/BT/UEM), Benício Alves de Abreu Filho (Orientador), e-mail: baafilho@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

### Ciências Biológicas III- Microbiologia Aplicada

**Palavras-chave:** Água, Coliformes, Resistência antibacteriana

**Resumo:** Tendo em vista que a água é um fator decisivo para que haja vida na Terra e que a mesma possa se desenvolver, logo, sabe-se que a preservação da qualidade das águas é uma necessidade universal que exige séria atenção, sendo fundamental para atividades do cotidiano, e principalmente para o consumo, sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade da água de abastecimento servida à população pelas 15ª e 12ª Regionais de Saúde do estado do Paraná, Maringá e Umuarama. Dessa forma, isolamos e identificamos através da coloração de Gram e provas bioquímicas o grupo de bactéria de Coliformes Totais e *Escherichia coli*, sendo elas *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Serratia freundii*, *Citrobacter freundii*, *Hafnia alvei* e *Klebsiella pneumoniae*. O teste de sensibilidade aos antimicrobianos apresentou resistência ao antibiótico Ampicilina 10 µg as espécies *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* e *Citrobacter freundii*. Assim, a vigilância e o monitoramento do abastecimento de rede de distribuição, poços e reservatórios são importantes para evitar surtos ou epidemias de doenças por transmissão hídrica, que ocorrem nos mais diversos estados e países, comumente causados por micro-organismos de origem fecal encontrados na água.

### Introdução

A identificação dos micro-organismos patogênicos na água é complexa e onerosa, por esse motivo recorre-se a identificação dos organismos indicadores de contaminação (Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, 2006), com risco biológico à saúde, sendo possível o tratamento adequado da água para consumo humano, evitando a contaminação de doenças por transmissão e de origem hídrica.

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), 80% das doenças que ocorrem nos países em desenvolvimento são ocasionadas pela contaminação da água, e sabendo-se que apenas 30% da população mundial tem garantia de água tratada e os 70% restantes dependem de poços e outras fontes de abastecimento passíveis de contaminação (CETESB,1999), deve-se a importância e reconhecimento da análise rotineira da água, porém muitas vezes não é possível a identificação dos micro-organismos na água, por vários motivos, como complexidade e/ou demora da análise, deste modo, a análise bacteriológica é feita com

bioindicadores de origem ambiental e fecal, assim, é possível que haja micro-organismos causadores de doenças, tanto para o homem, quanto para os animais, como por exemplo, as *Salmonella*, causadoras de *Salmoneloses*, como a febre tifóide, a *Shigella*, causando *Shigeloses*, a *Escherichia coli* patogênica (bioindicadora), as quais causam gastroenterites e desequilíbrio da microbiota intestinal, a *Klebsiella*, responsável por infecções hospitalares (CETESB, 1999), entre outras doenças.

Além da importância da análise bacteriológica por micro-organismos causadores de doenças, deve-se levar em consideração, a resistência que estes possuem na água e à desinfecção, a capacidade de se reproduzirem na água, e posteriormente, a resistência a antibióticos e ainda o desenvolvimento de novos métodos de prevenção de doenças e de tratamento da água de abastecimento (Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, 2006).

## Materiais e métodos

### *Amostragem*

As amostras de água foram coletadas nos meses de agosto a dezembro de 2018 e fevereiro de 2019, com origem nos municípios da 12ª e 15ª Regionais de Saúde do estado do Paraná. Foram coletadas em frascos captol, estéreis, 100 mL de água, e trazidas ao Laboratório de Microbiologia de Água, Ambiente e Alimentos da Universidade Estadual de Maringá, para realização da análise.

### *Análises bacteriológicas da água*

Foi utilizado o teste do substrato cromogênico (Colilert) para a determinação dos grupos Coliformes Totais e *Escherichia coli* para as amostras coletadas. Após a incorporação do substrato, as amostras foram incubadas a 35 °C por 24 h.

### *Isolamento das bactérias*

Após a análise bacteriológica da água e leitura, separou-se 11 amostras positivas, originadas das Regionais de Saúde sendo: 76612, 76633, 76635, 76639, 76795, 77412 e 77413 da 15ª Regional Saúde do Paraná, e 7722, 77246, 77440 e 77497 da 12ª Regional de Saúde do Paraná. Estas foram diluídas em salina 0,85% até  $10^{-4}$  µl e inoculadas, em superfície nos meios de culturas Ágar m-Endo e Ágar m-TEC para o isolamento das bactérias, incubadas a 35 °C por 24h.

### *Identificação dos isolados*

Para a identificação dos isolados, foi realizada a coloração de Gram e posteriormente a utilização das provas bioquímicas utilizando o Enterokit B, da Probac do Brasil, com os meios de cultura Citrato, EPM e MILi para identificação das enterobactérias, após a semeadura, as amostras foram incubadas a 35°C por 24 h.

### *Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos (TSA)*

A susceptibilidade a antibióticos dos isolados foi realizada pelo método de difusão em Ágar Mueller Hinton descrita por Kirby-Bauer. A densidade do inóculo foi ajustada para a escala 0,5 McFarland e incubado a 35 °C por 24 horas. Os antibióticos utilizados foram: Ampicilina 10µg, Cefepime 30µg, Ertapenem 10µg,

Gentamicina 10µg, Imepenem 10µg e Meropenem 10µg, escolhidos de acordo com os antibióticos recomendados pela CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) para bactérias da família *Enterobacteriaceae*. As cepas utilizadas como controle foram *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

## Resultados e Discussão

O isolamento das bactérias resultou em colônias de tamanho uniforme e coloração amarelada ou branca. Já a identificação por coloração de Gram, resultou em todas as amostras bacilo Gram negativo. As provas bioquímicas apresentaram para as amostras 76633 e 77440 a espécie *Serratia marcescens*, para as amostras 76795, 77222 e 77497 a espécie *Citrobacter freundii*, para as amostras 77246, 77412 e 77413 a espécie *Escherichia coli*, para a amostra 76639 apresentou a espécie *Serratia marcescens*, a amostra 76635 apresentou a espécie *Klebsiella pneumoniae* e por fim, a amostra 76612 a espécie *Hafnia alvei*.

**Tabela 1**– Resultado do teste de sensibilidade aos antimicrobianos-TSA.

Amostra	Amp 10µg	Cef 30µg	Etp10µg	Gn 10µg	lpm 10µg	Mem 10µg
76612*	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Intermediário	Sensível
76633*	Intermediário	Sensível	Sensível	Sensível	Intermediário	Sensível
76635*	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
76639*	Intermediário	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
76795*	Resistência	Sensível	Sensível	Sensível	Intermediário	Sensível
77222**	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Intermediário	Sensível
77246**	Resistência	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
77412*	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Intermediário	Sensível
77413*	Resistência	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
77440**	Resistência	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
77497**	Intermediário	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível

\* amostras provenientes da 12ª Regional de Saúde do Paraná; \*\* amostras provenientes das 15ª Regional de Saúde do Paraná. Ampicilina (Amp); Cefepime (Cef); Ertapenem (Etp); Gentamicina (Gn); Imipenem (lpm); Meropenem (Mem). Análise com base nos dados do Clinical Laboratory Standards Institute

Pode se notar que a maioria das bactérias provenientes de origem da água da zona rural, são a maioria da mesma espécie (*Citrobacter freundii* e *Escherichia coli*), já a

bactérias da zona urbana variam mais que na zona rural, porém todas são pertencentes a família de enterobactérias.

## Conclusões

O objetivo do projeto foi alcançado, mostrando que as bactérias realmente fazem parte da família de coliformes totais. Com o antibiograma, podemos concluir que as espécies *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii* e *Escherichia coli* ganharam resistência a Ampicilina, ou seja, esse antibiótico pode não causar o efeito desejado em tratamento de infecções destas bactérias. Já as espécies *Hafnia alvei*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii* e *Escherichia coli* que apresentaram um índice intermediário para Imipenem, o uso desse medicamento pode não ser tão eficaz já que a bactéria perder sua sensibilidade para o mesmo. Sendo assim, o controle e o monitoramento da qualidade da água são de grande importância para ser servida a população.

## Agradecimentos

A Deus, por ter me dado força e saúde para superar as dificuldades. A esta universidade ao CNPq por ter me oferecido a bolsa PIBIC. Ao meu orientador pelo suporte, aprendizado e seus incentivos. A minha família pelo apoio e a todos os meus colegas do laboratório que direta ou indiretamente ajudaram no desenvolvimento deste projeto, o meu muito obrigado.

## Referências

PELCZAR Jr., M. J., CHAN, E. C. S., KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceito e Aplicações**. 2º Ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil. 517p, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, 2006 **Manual de procedimentos de vigilância em saúde ambiental relacionada à qualidade da água para consumo humano** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. -Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Diretoria de Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia. Setor de Treinamento. **Técnicas de Análises Microbiológicas da Água: Membrana Filtrante**. São Paulo, 1999.

CLSI. Clinical Laboratory Standards Institute. **Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão**: Norma Aprovada – Oitava Edição, 2018.