

# Biologia Geral e Experimental

Universidade Federal de Sergipe

Biol. Geral Exper., São Cristóvão, SE 7(1):15-18

13.ix.2007

## ENTEROBACTERIACEAE E *PSEUDOMONAS* SP. MULTIRESISTENTES ISOLADAS DE EFLUENTES URBANOS EM ARACAJU, SERGIPE

Marcus Vinicius de Aragão Batista<sup>1</sup>

Matheus Ismerim Silva Santos<sup>2</sup>

Luciano Carlos Sobral de Menezes<sup>1</sup>

Maria Regina Pires Carneiro<sup>3, 4</sup>

Alexandre Luna Cândido<sup>1</sup>

### RESUMO

O estudo avaliou a ocorrência de bactérias Gram-negativas multiresistentes a antimicrobianos presentes em efluentes urbanos na cidade de Aracaju, Sergipe. As bactérias isoladas foram *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas* sp. e *Pantoea agglomerans*. As colônias presuntivas (222) apresentaram resistência a ampicilina, tetraciclina, kanamicina e cloranfenicol ou a mais de um desses antimicrobianos.

**Palavras-chave:** Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* sp., multiresistência, Sergipe.

### ABSTRACT

This study evaluated the occurrence of Gram-negative bacteria multiresistant to antimicrobians present in urban effluents in the city of Aracaju, Sergipe. The isolated bacteria were *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas* sp. and *Pantoea agglomerans*. Presumptive colonies (222) showed resistance to ampicilin, tetracyclin, kanamycin and chloramphenicol or to more than one of these antimicrobians.

**Keywords:** Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* sp., multiresistance, Sergipe

### INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana é um fenômeno biológico natural que se tornou problema de saúde pública, devido à utilização indiscriminada e em larga escala de antimicrobianos (ATMs). De origens diversas, os antimicrobianos despejados nos esgotos urbanos interagem com agentes patogênicos,

promovendo nestes a transferência e seleção de genes de resistência (Davison, 1999; Kümmerer *et al.*, 2000; Guardabassi *et al.*, 2002).

Dentre as bactérias Gram-negativas que apresentam elevada resistência aos ATMs destacam-se as espécies da família Enterobacteriaceae e do gênero *Pseudomonas*. Sabemos que as enterobacteriáceas estão presentes nos meios urbanos

<sup>1</sup>Universidade Federal de Sergipe, Laboratório de Virologia Comparada, Av. Marechal Rondon, s/n, Jardim Rosa Elze, CEP 49100-000, São Cristóvão, Se, virologiacomparada@hotmail.com.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Sergipe, Núcleo de Pós-Graduação em Medicina.

<sup>3</sup>Universidade Tiradentes, Laboratório de Microbiologia, Aracaju, Se.

<sup>4</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góis, Rio de Janeiro, RJ.

em geral (Farmer III *et al.*, 1985; Stover *et al.*, 2000; Meirelles-Pereira *et al.*, 2002), mas ao nível regional faltam informações sobre a frequência de ocorrência e potencial de resistência aos vários agentes antimicrobianos, objetivos deste estudo.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Amostras:** Água coletada em efluentes urbanos dos bairros Jardins e Industrial da cidade de Aracaju, Sergipe. Foram isoladas presuntivamente enterobactérias e *Pseudomonas* sp., de acordo com método recomendado pela Associação Americana de Saúde Pública (Apha, 2000).

**Seleção de multiresistentes:** Os isolados foram selecionados por pressão auxotrófica (Sambrook *et al.*, 1989), em caldo Luria-Bertani - LB (0,1 % Tripton, 0,05 % extrato de levedura, 0,1 % NaCl). e suplementados separadamente com ampicilina (100 µg/mL), tetraciclina (50 µg/mL), cloranfenicol (170 µg/mL) e kanamicina (50 µg/mL) (Sigma-Aldrich). Os inóculos foram incubados por 24 horas a 37° C sob agitação de 150 rpm.

**Identificação das amostras multiresistentes:** As amostras que apresentaram resistência a dois ou mais dos quatro antimicrobianos testados foram identificadas por provas bioquímicas (Holt *et al.*, 1994), no Laboratório de Virologia Comparada da Universidade Federal de Sergipe, e confirmadas por sorotipagem no Laboratório de Enteropatógenos do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

## RESULTADOS

A Tabela 1 mostra os resultados. Foram isoladas amostras multiresistentes de *Escherichia coli* (9), *Enterobacter cloacae* (5), *Klebsiella pneumoniae* (6),

*Pantoea agglomerans* (3) e do gênero *Pseudomonas* sp. (3); entre parênteses o número de amostras. No bairro Jardins foram isoladas *Escherichia coli* (2), *Pseudomonas* sp. (2) e *Klebsiella pneumoniae* (1). No bairro Industrial foram isoladas *Escherichia coli* (7), *Enterobacter cloacae* (5), *Klebsiella pneumoniae* (5), *Pseudomonas* sp. (1) e *Pantoea agglomerans* (3); entre parênteses o número de amostras. Com relação aos antimicrobianos, foram isoladas 222 colônias presuntivas de *Pseudomonas* sp. e enterobactérias que apresentaram resistência à ampicilina (24), tetraciclina (25), kanamicina (24) e cloranfenicol (14) ou resistência a mais de um antimicrobiano (26); entre parênteses o número de isolados.

## DISCUSSÃO

A ocorrência da enterobactéria endofítica *Pantoea agglomerans* nas amostras pode estar relacionada à proximidade do mangue, vegetação que compõe os bairros estudados. A presença de *Escherichia coli* pode ser explicada pelos dejetos sanitários residenciais. Coliformes não-fecais comumente também ocorrem em áreas de despejo, como *Enterobacter* e *Klebsiella*, as últimas associadas a dejetos hospitalares que também explicaria a presença de *Pseudomonas* na área de estudo (Meirelles-Pereira *et al.*, 2002; Kümmerer & Henninger, 2004; Goñi-Urriza *et al.*, 2000).

Os resultados concordam com outros estudos que relataram resistência à ampicilina, tetraciclina e kanamicina (Al-Jebouri, 1985; Al-Ghazali *et al.*, 1988). A resistência ao cloranfenicol é rara, possivelmente como resultado do uso restrito dessa droga (Goñi-Urriza *et al.*, 2000). As amostras de Aracaju apresentaram resistência a alguns dos marcadores de resistência mais comuns de ATMs, empregados em antibioticoterapia humana e veterinária (Al-Jebouri, 1985; Al-Ghazali *et al.*, 1988; Goñi-Urriza *et al.*, 2000; Meirelles-Pereira *et al.*, 2002).

A resistência de bactérias a antimicrobianos pode ser devido ao uso indiscriminado desses ATMs, o que limitaria a eficiência dessas drogas no tratamento de infecções humanas e veterinárias. Neste estudo nós utilizamos provas bioquímicas para avaliar a resistência dos microorganismos aos ATMs, outros métodos poderão contribuir para uma melhor avaliação, como detecção de DNA plasmidial de baixo peso molecular.

**Agradecimentos:** Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe, Fundação de Apoio à Pesquisa e Extensão de Sergipe, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Tabuleiros Costeiros e Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

#### REFERÊNCIAS

- Al-Ghazali, M.R., S.F. Jazrawi & Z.A. Al-Doori, 1988. Antibiotic resistance among pollution indicator bacteria isolated from Al-Khair river, Baghdad. **Water Research** 22:641-644.
- Al-Jebouri, M.M. 1985. A note on antibiotic resistance in the bacterial flora of raw sewage and sewage-polluted River Tigris in Mosul, Iraq. **Journal of Applied Bacteriology** 58(4):401-406.
- Apha, 2000. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19th. ed., American Public Health Association, Washington.
- Davison, J. 1999. Genetic exchange between bacteria in the environment. **Plasmid** 42:73-91.
- Farmer III, J.J., B.R. Davis, F.W. Hickman-Brenner, A. McWhorter, G.P. Huntley-Carter, M.A. Asbury, C. Riddle, H.G. Wathen-Grady, C. Elias, G.R. Fanning, A.G. Steigerwalt, C.M. Ohara, G.K. Morris, P.B. Smith, D.J. Brenner, 1985. Biochemical identification of new species and biogroups of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. **Journal of Clinical Microbiology** 1(1):46-76.
- Goñi-Urriza, M., M. Capdepuy, C. Arpin, N. Raymond, P. Caumette & C. Quentin, 2000. Impact of an urban effluent on antibiotic resistance of riverine *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas* spp. **Applied and Environmental Microbiology** 66(1):125-132.
- Guardabassi, L., D.M.A.L.F. Wong & A. Dalsgaard, 2002. The effects of tertiary wastewater treatment on the prevalence of antimicrobial resistant bacteria. **Water Research** 8(36):1955-1964.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley & S.T. Williams, 1994. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9th. ed., Williams & Wilkins, Baltimore 789p.
- Kümmerer, K., A. Al-Ahmad & V. Mersch-Sundermann, 2000. Biodegradability of some antibiotics, elimination of their genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test. **Chemosphere** 40:701-710.
- Kümmerer, K. & A. Henninger, 2004. Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluents. **European Journal of Clinical Microbiology and Infection** 9:1203-1214.
- Meirelles-Pereira, F., A.M.S. Pereira, M.C.G. Silva, V.D. Gonçalves, P.R. Brum, E.A.R. Castro, A.A. Pereira, F.A. Esteves & J.A.A. Pereira, 2002. Ecological aspects of the antimicrobial resistance in bacteria of importance to human infections. **Brazilian Journal of Microbiology** 33:287-293.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch & T. Maniatis, 1989. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2nd. ed., Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York 545p.
- Stover, C.K., X.Q. Pham, A.L. Erwin, S.D. Mizoguchi, P. Warrener, M.J. Hickey, F.S. Brinkman, W.O. Hufnagle, D.J. Kowalik, M. Lagrou, R.L. Garber, L. Goltry, E. Tolentino, S. Westbrook-Wadman, Y. Yuan, L.L. Brody, S.N. Coulter, K.R. Folger, A. Kas, K. Larbig, R. Lim, K. Smith, D. Spencer, G.K. Wong, Z. Wu, I.T. Paulsen, 2000. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen. **Nature** 406:959-964.

Aceito: 8.vi.2007

Tabela 1. Resistência a antimicrobianos (ATMs) em Enterobacteriaceae e *Pseudomonas* sp., Aracaju, Sergipe.

Amostra	Espécie	Bairro	Determinantes de Resistência			
			Amp	Tet	Clo	Kan
1	<i>Escherichia coli</i>	Industrial	+	+	+	+
2	<i>Escherichia coli</i>	Industrial	+	+	+	+
3	<i>Escherichia coli</i>	Industrial	+	+	+	+
4	<i>Escherichia coli</i>	Industrial	+	+	+	+
5	<i>Escherichia coli</i>	Industrial	+	+	+	+
6	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Industrial	+	+	+	+
7	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Industrial	+	+	+	+
8	<i>Enterobacter cloacae</i>	Industrial	+	+	+	+
9	<i>Enterobacter cloacae</i>	Industrial	+	+	+	+
10	<i>Enterobacter cloacae</i>	Industrial	+	+	+	+
11	<i>Pseudomonas</i> sp.	Industrial	+	+	+	+
12	<i>Pseudomonas</i> sp.	Jardins	+	+	+	+
13	<i>Pseudomonas</i> sp.	Jardins	+	+	+	+
14	<i>Escherichia coli</i>	Jardins	+	+	-	+
15	<i>Escherichia coli</i>	Industrial	+	+	-	+
16	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Jardins	+	+	-	+
17	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Industrial	+	+	-	+
18	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Industrial	+	+	-	+
19	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Industrial	+	+	-	+
20	<i>Enterobacter cloacae</i>	Industrial	+	+	-	+
21	<i>Pantoea agglomerans</i>	Industrial	+	+	-	+
22	<i>Pantoea agglomerans</i>	Industrial	+	+	-	+
23	<i>Pantoea agglomerans</i>	Industrial	+	+	-	+
24	<i>Enterobacter cloacae</i>	Industrial	+	+	+	-
25	<i>Escherichia coli</i>	Jardins	-	+	-	+
26	<i>Escherichia coli</i>	Industrial	-	+	-	+

+ presente, - ausente, amp - ampicilina, tet- tetraciclina, clo - cloranfenicol, kan - kanamicina