



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
CURSO DE ENGENHARIA DE PESCA

ARIADNE ELISA QUEIROZ DE OLIVEIRA

**PRESENÇA DE *PSEUDOMONAS* E *ENTEROCOCCUS* EM GALERIAS PLUVIAIS
DA CIDADE DE FORTALEZA, CEARÁ.**

FORTALEZA

2014

ARIADNE ELISA QUEIROZ DE OLIVEIRA

**PRESENÇA DE *PSEUDOMONAS* E *ENTEROCOCCUS* EM GALERIAS PLUVIAIS
DA CIDADE DE FORTALEZA, CEARÁ.**

Monografia apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do Título de bacharel em Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira.

FORTALEZA

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O45p Oliveira, Ariadne Elisa Queiroz de.
Presença de Pseudomonas e Enterococcus em galerias pluviais da cidade de Fortaleza, Ceará / Ariadne
Elisa Queiroz de Oliveira. – 2014.
39 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências
Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2014.
Orientação: Profa. Dra. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira.

1. Águas recreativas. 2. Pseudomonas aeruginosa. 3. Contaminação. I. Título.

CDD 639.2

ARIADNE ELISA QUEIROZ DE OLIVEIRA

**PRESENÇA DE *PSEUDOMONAS* E *ENTEROCOCCUS* EM GALERIAS PLUVIAIS
DA CIDADE DE FORTALEZA, CEARÁ.**

Monografia apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Engenharia de Pesca.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Ms. Rosa Helena Rebouças
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Prof. Ms. Marina Teresa Torres Rodríguez
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

A minha mãe, Lúcia de Fátima.

A minha vó Maria Lêda (*in memoriam*).

Ao meu namorado Rafael Ivo.

AGRADECIMENTO

Ao CNPq, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de pesquisa.

A Professora Dr. Regine Helena, pela excelente orientação.

Aos professores participantes da banca examinadora Marina Torres e Rosa Rebouças pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

A professora Oscarina Viana pelas orientações e sugestões.

Agradecimento especial a Marina Torres por toda contribuição inicial, paciência e conhecimentos repassados.

Ao meu grande amigo Rafael Rocha por todo apoio, amizade, contribuição, conhecimento e tempo gasto, muito obrigada.

A minha amiga Lana Leite, pela amizade, apoio e contribuição na descoberta em microbiologia.

A todos os meus colegas do laboratório de microbiologia (LAMAP), Cristiane Teles, Adalva Machado, Camila Magalhães, Gleire Menezes, Rebeca Martins, Giselle Silva em especial Sylvânio Ferreira, Victor Conde, Wesley Estevam e Raquel Soares, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas.

Ao colega Daniel Rodrigues pela grande ajuda nas coletas e pelo apoio no laboratório.

Aos meus colegas de graduação, por toda amizade e carinho nesses anos.

Aos meus amigos do Projeto 6 de Março que acompanharam toda minha jornada e contribuíram para o meu crescimento pessoal e acadêmico.

Ao meu namorado Rafael Ivo, pela amizade, companheirismo, apoio e compreensão nos momentos mais difíceis, muito obrigada.

As minhas melhores amigas Ísis Andrade e Angélica Farias por todo apoio e amizade, sem vocês tudo seria mais difícil.

A minha mãe Lúcia de Fátima Queiroz que sempre esteve ao meu lado nas minhas decisões e me encorajou para nunca desistir. Muito obrigada mãe.

Aos meus irmãos Eliud, Lucas, Yasmin, Adyel e sobrinhos Luís Guilherme, Murilo e Alanis que tornaram a minha jornada mais agradável.

“Com minha diversidade metabólica não se
brinca
Sou uma, duas e já sou trinta
Mas para isso higiene é a solução
Ande limpinho, coma bem e lave sempre a
mão
Tudo para sua proteção”

Roberta Feijó

RESUMO

As águas presentes nos centros urbanos, de rios, lagos e mares, encontram-se prejudicadas, devido à utilização intensa e irrefreável desse recurso, causando diversos efeitos com grandes impactos. Com esta pesquisa objetivou-se realizar a análise microbiológica de duas galerias e pontos de águas do mar à jusante da saída dos canais pluviais na cidade de Fortaleza-CE. Foram feitas cinco coletas consecutivas, uma por semana, nos meses de Maio e Junho de 2013, sempre pela manhã. A temperatura das amostras foi medida no local e as amostras foram processadas imediatamente no laboratório de microbiologia ambiental e do pescado (LAMAP), onde se mediu salinidade e pH. Para a quantificação de *Pseudomonas* foi seguida a norma da CETESB (2001) para águas recreacionais. Para isolamento de *Enterococcus*, foi utilizada a técnica da membrana filtrante e a contagem foi expressa em UFC/mL. O perfil de susceptibilidade das cepas de *P. aeruginosa* foi realizado com os seguintes antimicrobianos: Amicacina 30µg (AMI), Imipenem 10µg (IPM), Gentamicina 10µg (GEN), Tobramicina 30µg (TOB), Aztreonam 30µg (ATM) e Ceftazidima 30µg (CAZ). Trinta e sete cepas foram identificadas como *Pseudomonas aeruginosa*, quarenta e quatro como *Pseudomonas* ssp. e noventa como *Enterococcus*. O NMP de *Pseudomonas*/100mL nas amostras de águas das galerias pluviais e água do mar na praia do Meireles variou de $<1,8 \times 10^2$ à $1,6 \times 10^4$ e a CPP de *Enterococcus* nas amostras de águas das galerias pluviais e água do mar na praia do Meireles variou de $1,0 \times 10^2$ UFC/mL a $9,0 \times 10^3$ UFC/mL. Conclui-se que: Foi confirmada as presenças de *Pseudomonas* e *Enterococcus* nas galerias do Riacho Maceió, Praia do Meireles e pontos do mar jusante à saída de água das galerias pluviais; Nas galerias houve um maior isolamento de cepas de *Enterococcus* do que nas amostras de água marinhas; Dentre os pontos estudados, o maior número de isolados identificados até espécie foi de bactérias do gênero *Pseudomonas*; As cepas de *P. aeruginosa* foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados.

Palavras-chave: Águas recreativas. *Pseudomonas aeruginosa*. Contaminação.

ABSTRACT

The water present in the urban centers, such as rivers, lakes and seas are harmed due to intense and unrestrained use of this resource, causing various effects with large impacts. This research aimed to the microbiological analysis of two galleries and points of sea water near the outlet of rainwater canals in the city of Fortaleza-CE. Five consecutive samples, one per week, were collected in the months of May and June 2013, always in the morning. The temperature of the samples was measured in the same place and the samples were processed immediately in the microbiology laboratory (LAMAP), where salinity and pH were measured. To calculate the MPN of *Pseudomonas*/100mL was followed the CETESB standard for recreational waters. For isolation of *Enterococcus*, the membrane filter technique was used and the *Enterococcus* count was expressed as CFU/mL. The susceptibility profiles of the strains of *P. aeruginosa* was carried out with the following antimicrobial: 30µg amikacin (AMI), 10mg imipenem (IPM), 10mg Gentamicin (GEN), 30µg Tobramycin (TOB), 30µg aztreonam (ATM) and 30µg ceftazidime (CAZ). Thirty-seven strains were identified as *Pseudomonas aeruginosa*, forty-four as *Pseudomonas* ssp. and ninety as *Enterococcus*. The MPN of *Pseudomonas*/100mL ranged from $< 1.8 \times 10^2$ to 1.6×10^4 and CPP *Enterococcus* ranged from 1.0×10^2 CFU/mL to 9.0×10^3 CFU/mL. From the identified strains, *Enterococcus* was the most numerous in the total isolated of the galleries and sea points samples. The isolated strains of *P. aeruginosa* do not present any resistance of any antibiotic tested. It follows that: *Pseudomonas* and *Enterococcus* were identified in the Maceió river gallery, Meireles beach gallery and sea points near the galleries outlets of the rainwater; in galleries there was more isolation of strains of *Enterococcus* than in samples of sea water; Among the studied points, the largest number of identified isolated strains were from bacteria of genus *Enterococcus*; Strains of *P. aeruginosa* were susceptible to all tested antimicrobials.

Keywords: Recreative waters. *Pseudomonas aeruginosa*. contamination.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Mapa com a localização da cidade de Fortaleza-CE e pontos de coleta.....	19
Figura 2	Localização dos P1 e P2 na cidade de Fortaleza-CE.....	20
Figura 3	Localização dos P3 e P4 na cidade de Fortaleza-CE.....	20
Figura 4	Discos de antibióticos na placa de Petri com crescimento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> mostrando sensibilidade a três dos antibióticos utilizados na prova de suscetibilidade a drogas.....	24
Gráfico 1	Quantidade de cepas de <i>P. aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas</i> spp. e <i>Enterococcus</i> spp. Nas amostras de água dos pontos estudados nas galerias e do mar da Praia Meireles, Fortaleza-Ceará.....	29
Gráfico 2	Total de <i>Pseudomonas</i> spp. e <i>Enterococcus</i> spp. encontradas nas amostras de água dos pontos estudados das galerias e do mar da Praia Meireles, Fortaleza-Ceará.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros físico-químicos das amostras de água dos pontos estudados nas galerias e do mar da Praia Meireles, Fortaleza-Ceará.....	26
Tabela 2 – Número Mais Provável de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> /100mL das amostras de água dos pontos estudados nas galerias e do mar da Praia Meireles, Fortaleza-Ceará.....	27
Tabela 3 – Contagem Padrão em Placas (CPP) de <i>Enterococcus</i> UFC/mL das amostras de água dos pontos estudados nas galerias e do mar da Praia Meireles, Fortaleza-Ceará.....	28
Tabela 4 – Perfil de susceptibilidade das cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isoladas de amostras de água de galeria e de mar, da Praia Meireles, Fortaleza- CE, a variados antibióticos.....	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMI	Amicacina
ATM	Aztreonam
BHI	Brain Heart Infusion
CAZ	Ceftazidima
CPP	Contagem Padrão em Placa
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Básico
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
FUNCEME	Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos
GEN	Gentamicina
IMP	Imipenem
LAMAP	Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado
NMP	Número Mais Provável
TOB	Tobramicina
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	Contaminação microbiológica de ambientes costeiros	14
2.2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
2.3	<i>Enterococcus spp.</i>	15
2.4	Características gerais dos antimicrobianos	16
2.5	Resistência antimicrobiana	17
3	MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1	Local das coletas e processamento das amostras	19
3.2	Análises das variáveis físico-químicas	21
3.3	Análise microbiológica	21
3.3.1	<i>Identificação de Pseudomonas aeruginosa</i>	21
3.3.1.1	<i>NMP de Pseudomonas/100mL</i>	21
3.3.1.2	<i>Prova presuntiva de Pseudomonas aeruginosa</i>	21
3.3.1.3	<i>Prova confirmatória de Pseudomonas aeruginosa</i>	22
3.3.1.4	<i>Identificação das estirpes de Pseudomonas aeruginosa</i>	22
3.3.2	<i>Enterococcus spp.</i>	23
3.3.2.1	<i>Quantificação de Enterococcus</i>	23
3.3.2.2	<i>Identificação de Enterococcus spp</i>	23
3.3.3	<i>Relação entre bactérias dos gêneros Pseudomonas e Enterococcus</i>	23
3.3.4	<i>Perfis de susceptibilidade a diferentes antimicrobianos</i>	24
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5	CONCLUSÃO	33
	REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

A água pode ser um importante veículo de infecção de inúmeras doenças, seja em decorrência de excretas humanas e de outros animais ou pela presença de substâncias químicas nocivas à saúde (DA SILVA; CALAZANS, 2003).

Segundo o Relatório de Qualidade das Águas Litorâneas no Estado de São Paulo (2004) as águas recreacionais doces, salobras e salinas, podem expor os banhistas a riscos de infecção, uma vez que existe o contato direto e contínuo e a probabilidade da pessoa ingerir quantidades significativas dessa água, se contaminada, é alto. Esses corpos d' água, muitas vezes são receptores de efluentes domésticos, atingem banhistas com bactérias, vírus e protozoários.

Fortaleza é considerada uma cidade desenvolvida, sendo comum existir poluição relacionada aos corpos hídricos que deságuam em águas de recreação, e, doenças relacionadas com essas práticas, tais como otite e disenterias, já foram relatadas em outras praias do país (SÃO PAULO, 2001). A praia do Meireles, é uma das praias do litoral cearense, situada na cidade de Fortaleza, Ceará, é um local de grande concentração de pessoas com interesse turístico, além de ser frequentada por banhistas locais, por esta razão deve-se ter preocupação dos órgãos públicos com a qualidade microbiológica de suas águas e areias para prevenção de riscos a saúde (VIEIRA *et al.*, 2007). As galerias pluviais presentes em toda a costa leste de Fortaleza são sistemas de canalização fechados para o escoamento e transporte das águas de chuva ou fluxo de águas pluviais captadas por bocas coletoras, apesar de seu destino (transporte de águas da chuva), podem ser importantes carreadores de bactérias patogênicas, aumentando assim a probabilidade de poluição da costa, o que as coloca também como um risco à saúde humana e ambiental (FERNANDES, 2002; VIEIRA *et al.*, 2011).

É importante ressaltar que se faz necessário o estudo da presença de patógenos e indicadores das águas que são vertidas aos corpos marinhos dentre eles: *Pseudomonas aeruginosa* e o grupo dos *Enterococcus* (DUARTE, 2011).

O gênero *Pseudomonas* compreende bactérias aeróbias estrita, Gram-negativas, na forma de bastonetes retos ou curvos, são móveis por um flagelo, podem produzir vários pigmentos, incluindo os fluorescentes e a piocianina, possuem grande capacidade de crescer

em diversos lugares com pouca disponibilidade de nutrientes (TORTORA, 2000; GARRITY *et al.*, 2001). *P. aeruginosa* é reconhecida como patógeno oportunista, responsável por septicemias fatais em crianças, podem desempenhar papel importante em surtos de gastroenterites veiculadas pela água, em águas destinadas à recreação, a pesquisa dessa bactéria em águas poluídas e não poluídas sugere que sua presença esteja relacionada ao homem, esgotos domésticos e industriais, e animais a ele associados (SÃO PAULO, 2001).

As bactérias do gênero *Enterococcus* apresentam amplo tempo de sobrevivência na água de mar e maior resistência a condições adversas comparada a *Escherichia coli* e a outras bactérias, além de crescerem a temperaturas entre 10 e 45°C, tolerarem pH de 9,6 e 6,5% de NaCl (PATEL *et al.* 1997; SILVA *et al.*, 2008). As praias que possuem saída de canal de origem pluvial, representam também risco para saúde dos banhistas, em razão de suas areias poderem estar contaminadas por *Enterococcus* (KIMIRAM-ERDEM *et al.*, 2007).

As bactérias do gênero *Enterococcus*, são encontradas no homem e animais, fazem parte da microbiota normal do intestino, mas também podem ser encontradas em outros lugares do corpo, são utilizadas como indicador de contaminação fecal e são isoladas principalmente de esgoto doméstico (KÜHN *et al.*, 2003).

As praias que recebem esgotos possuem risco potencial de disseminação de bactérias resistentes a antimicrobianos (IVERSEN *et al.*, 2004; CARVALHO *et al.*, 2014)

Dessa forma, com esta pesquisa objetivou-se: 1. Isolar bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus* spp. em duas galerias e em dois diferentes pontos adjacentes no deságue ao mar das respectivas galerias; 2. Utilizar a técnica do Número Mais Provável (NMP) de *Pseudomonas*/100 mL para a determinação desse grupo nas amostras de água analisadas; 3. Comparar a quantidade de *Enterococcus* e *Pseudomonas* isolados de todos os pontos de coleta e 4. Determinar os perfis de susceptibilidade a diferentes antimicrobianos das cepas de *P. aeruginosa* isoladas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Contaminação microbiológica de ambientes costeiros

A presença de bocas de galerias no litoral pode ser um indicativo de que, provavelmente, a qualidade microbiológica das águas não é confiável, em um relatório de balneabilidade das praias de São Paulo foi constatado uma deficiência no sistema de captação de esgotos, acarretando a contaminação dos corpos hídricos que deságuam no litoral, o que pode contaminar banhistas mais susceptíveis a doenças, tais como: crianças e idosos, o relatório afirma que os fatores que influenciam na balneabilidade das águas marinhas da costa são a densidade de *Enterococcus* e/ou de *Escherichia coli* (SÃO PAULO, 2004).

O aumento da densidade populacional aliado ao crescimento industrial, concorrem com a diminuição dos recursos hídricos além da sua contaminação, agravada pela recepção de efluentes poluídos, parte dessa contaminação é proveniente de poluição orgânica devido ao grande aporte de esgoto doméstico, esta é uma das maiores causas de contaminação bacteriana em praias, a exposição a essas águas causam gastroenterites, dermatites e doenças no ouvido (LACAVA, 2005).

Efluentes e esgotos podem conter a presença de micro-organismos indicadores de contaminação fecal e patógenos oportunistas, esses corpos d'água se forem descarregados em águas marinhas, irão apresentar perigo a população humana que for exposta ao contato com essas águas (PATRA *et al.*, 2009).

Os coliformes são encontrados no trato intestinal dos animais e dos seres humanos, e geralmente são pesquisados em águas recreativas tanto doce quanto marinha, para o controle de qualidade, porém *P. aeruginosa* e *Enterococcus* spp. que causam risco potencial a saúde, principalmente de pessoas imunocomprometidas, têm sido propostos como indicadores de qualidade de águas recreativas doces e marinhas para complementar o grupo dos coliformes (CLESCERI *et al.*, 1998; DUARTE, 2011).

2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa é um dos organismos mais versáteis que existe, pois pode ser encontrado em diversos tipos de ambientes como água, solo, vegetais, animais, alimentos e ambientes hospitalares, possuem forma de bastonetes, são aeróbios e produzem pigmentos fluorescentes além da piocianina, apesar de algumas cepas serem apiocianogênicas, conhecida como patógeno oportunista, causa infecções em pessoas com a imunidade comprometida, além de sua eliminação ser problemática em razão de sua resistência a antimicrobianos e a desinfetantes (LINCOPAN *et al.*, 2004).

Em função da versatilidade metabólica de *P. aeruginosa*, esse microrganismo teria vantagens sobre as demais bactérias, conseguindo crescer até em água potável (VASCONCELOS *et al.*, 2006a; FARACHE FILHO e DIAS, 2008), por essa razão, essa bactéria é padrão de potabilidade em águas no Brasil. A Resolução RDC nº 275, de 22 de setembro de 2005 limita *P. aeruginosa* somente em água natural e mineral, engarrafadas (BRASIL, 2005).

Pseudomonas aeruginosa tem sido isolada de águas recreacionais, a presença dessa bactéria na água sugere risco potencial à saúde por contato ou ingestão acidental, por este motivo vem sendo proposto como complemento à análise dos coliformes, igualmente, como indicador de qualidade de águas recreacionais (DUARTE, 2011).

Vieira *et al.* (2006) em um estudo de balneabilidade nas praias de Iracema e do Meireles, pesquisaram a presença de coliformes termotolerantes e de *E. coli* e verificaram coloração esverdeada e odor frutado nos meios utilizados para o isolamento dessas bactérias, o fato dessa ocorrência foi ligado à presença de *P. aeruginosa*, que produz pigmentos hidrossolúveis, difusíveis no meio de cultura, mascarando os resultados de coliformes pesquisados.

2.3 *Enterococcus spp.*

Em 1984, o gênero *Enterococcus* foi criado com o deslocamento de *Streptococcus faecalis* e *Streptococcus faecium* para *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*,

respectivamente (SCHELEIFER e KILPPER-BÄLZ, 1984). Caracterizam-se por tolerar condições adversas tais como, crescer na presença de 6,5% de cloreto de sódio, em pH 9,6, crescer em ágar bile esculina e a temperaturas de 10°C a 45°C, a maioria dos *Enterococcus* é isolado de fezes humanas, apesar de também serem encontrados em fezes de animais (PATEL *et al.*, 1997; BRASIL, 2000).

As bactérias do gênero *Enterococcus*, em sua maioria, fazem parte da microbiota normal do homem, são encontradas em diversos locais do corpo, normalmente, fazem parte do trato intestinal, mas também aparecem em outros lugares como cavidade oral, vesícula biliar, uretra e vagina humana, por fazerem parte da microbiota intestinal do homem e de animais, são utilizadas como indicadoras de contaminação fecal (DONATO, 2007; MEGHAN, 1992; MOELLERING, 1992).

Os *Enterococcus* são responsáveis por várias infecções nos seres humanos como, endocardites, infecções urinária, infecções intra-abdominais, infecções em feridas operatórias e bacteremias (D'AZEVEDO *et al.*, 2004; DONATO, 2007; DAY *et al.*, 2001).

Em um estudo realizado em águas marinhas de recreação, foram isolados *Enterococcus*, e foi constatado que a qualidade microbiológica das águas está diretamente relacionada com doenças relacionadas à natação, gastroenterites e problemas no sistema respiratório (KIMIRAM-ERDEM *et al.*, 2007).

Enterococcus podem ser encontrados em águas marinhas por conta de poluição de origem fecal desses corpos d'água (LACAVALHO, 2005; SILVA *et al.*, 2008; CARVALHO *et al.*, 2014). Cada vez mais, esse gênero vem sendo utilizado para identificação da qualidade de águas recreativas marinhas e como indicador de contaminação fecal, pois conseguem tolerar mais tempo que *E. coli* no meio marinho (SILVA *et al.*, 2008).

2.4 Características gerais dos antimicrobianos

Os antimicrobianos têm como objetivo principal proporcionar os melhores resultados para os pacientes em termos de cura de infecções, reduzindo assim a taxa de mortalidade (DOS SANTOS *et al.*, 2010).

Os antibióticos podem ser classificados como: antibacterianos, antifúngicos, antiprotozoários, antiviral e antiparasitário, podem ser produzidos por fungos e bactérias ou sintetizados em laboratório, sua função é inibir ou diminuir especificamente os organismos patogênicos, procurando, se possível, preservar a microbiota autóctone (MELO *et al.*, 2012).

Segundo Tavares (2001),

O antimicrobiano ideal deve ter as seguintes características, ter atividade sobre amplo espectro de micro-organismos; ser absorvido por via oral e parental; ter fácil distribuição pelos tecidos e líquidos orgânicos, atingindo concentração bactericida; não sofrer destruição por enzimas tissulares; não provocar efeitos irritantes, tóxicos ou alérgicos no hospedeiro; não induzir o desenvolvimento de estirpes resistentes; não provocar diminuição da resistência do organismo do hospedeiro; não ter efeitos teratogênicos; produzir concentrações elevadas e por tempo prolongado e ser facilmente obtido em escala industrial e a baixo custo.

2.5 Resistência antimicrobiana

Nos últimos anos vem-se tendo uma preocupação muito grande com bactérias resistentes aos antimicrobianos, assim que surgiram os antibióticos eles eram eficazes, porém existem evidências de que no final da década de 40, uma enzima produzida por *E. coli*, já era capaz de inativar a penicilina (ROSSI e ANDREAZZI, 2005).

Com o surgimento e a disseminação da resistência bacteriana, os micro-organismos vêm conseguindo, cada vez mais, causar doenças infecciosas; essa resistência deve-se tanto a automedicação e a falta de cuidado de médicos que passam indevidamente receitas de antibióticos, como à grande capacidade das bactérias em se adaptarem a alterações (GAYTÁN *et al.*, 2011).

O uso abusivo dessas drogas favorece a seleção de bactérias resistentes presentes na população, devido a mutações e à recombinação de genes, assim, os micro-organismos vêm conseguindo inibir ou degradar os antibióticos (SOUZA, 1998). *P. aeruginosa* está, cada vez mais, produzindo eficientes betalactamases que destroem antibióticos inclusive os carbapenêmicos, devido a tal situação torna-se cada vez mais difícil o combate dessas bactérias em hospitais e em efluentes hospitalares (MATA *et al.*, 2007).

Tem se tornado cada vez mais difícil conseguir combater micro-organismos, devido aos seus mecanismos de resistência, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*

pneumoniae, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp, são os micro-organismos que mais têm causado preocupações por causarem infecções em pacientes hospitalizados (ANBAZHAGAN *et al.*, 2011)

Antibióticos descartados em grandes quantidades no ambiente, por conta de efluentes hospitalares contaminam o meio ambiente,além de que a contaminação por antimicrobianos também pode vir também de estações de pisciculturas que os utilizam e os descartam em corpos receptores, prejudicando o ambiente (HALLING-SØRENSEN *et al.*, 1998; EMMANUEL *et al.*, 2005).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local das coletas e processamento das amostras

Foram coletadas e analisadas quatro amostras de água durante cinco semanas contínuas de duas galerias: águas da Galeria do Riacho Maceió – P1 (lat. $-3^{\circ} 43' 21.9174''$ long. $-38^{\circ} 29' 3.048''$) e o ponto de água do mar à jusante da saída de água da galeria – P2 (lat. $-3^{\circ} 43' 19.1712''$ long. $-38^{\circ} 29' 2.1588''$), águas da Galeria em frente à Praia do Meireles – P3 (lat. $-3^{\circ} 43' 21.6768''$ long. $-38^{\circ} 30' 17.2038''$) e o ponto de água de mar à jusante da saída do canal – P4 (lat. $-3^{\circ} 43' 20.3766''$ long. $-38^{\circ} 30' 16.5852''$), na cidade de Fortaleza-Ceará.

Figura 1 - Localização dos pontos de coleta na praia do Meireles na cidade de Fortaleza-Ceará

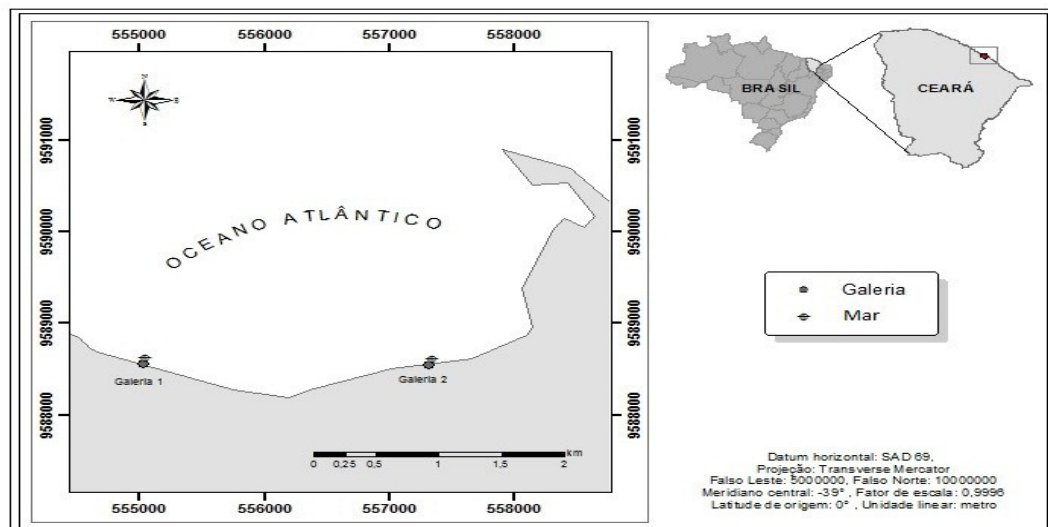


Imagem do mapa com a localização dos pontos de coleta nas galerias e no mar na praia do Meireles na cidade de Fortaleza-CE.

Figura 2 – Localização dos Pontos 1 (P1) e Ponto 2 (P2) na praia do Meireles, Fortaleza-Ceará



Fonte: Dados do mapa©2014Google. Galeria do Riacho Maceió, em Fortaleza-CE

Figura 3 – Localização dos Pontos 3 (P3) e Ponto 4 (P4) na praia do Meireles, Fortaleza-Ceará



Fonte: Dados do mapa©2014Google. Galeria em frente à praia do Meireles, em Fortaleza-CE

As amostras, de 1L, foram coletadas em frasco de vidro cor âmbar, esterilizadas, e transportadas para o laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP) em um tempo inferior a 30 minutos, onde foram imediatamente processadas.

3.2 Análise das variáveis físico-químicas

A temperatura das amostras de água foi determinada no local da coleta. Os outros parâmetros: salinidade e pH foram medidos em laboratório com refratômetro (Digit), e potenciômetro (Hanna instruments) , respectivamente.

3.3 Análise microbiológica

3.3.1 Identificação de *Pseudomonas aeruginosa*

3.3.1.1 NMP de Pseudomonas/100mL

De cada amostra foi quantificada *Pseudomonas aeruginosa* através do método do Número Mais Provável (NMP), de acordo a metodologia descrita na Norma Técnica L5.220 (SÃO PAULO, 2001).

3.3.1.2 Prova presuntiva de Pseudomonas aeruginosa

De cada amostra foi retirado 1 mL e diluído em 9 mL de salina 0,85% , a partir das diluições (10^{-1} a 10^{-4}), foi inoculada numa série de cinco tubos contendo 10 mL de Caldo Asparagina. Os tubos foram então incubados em estufa a 35°C por 48h, e, após esse período, foram considerados positivos, aqueles com crescimento (turvação do meio) e produção de um pigmento esverdeado, fluorescente sob luz ultravioleta (365 nm).

3.3.1.3 Prova confirmatória de *Pseudomonas aeruginosa*

Na realização desse experimento utilizou-se a metodologia proposta pela CETESB (SÃO PAULO, 2001) para águas recreacionais, porém a metodologia foi aplicada com modificações. Na prova confirmatória para *P. aeruginosa*, ao invés do uso de Caldo Acetamida, utilizou-se o Ágar Cetrimide.

Os tubos que apresentaram positividade na prova presuntiva, foram inoculados em placas de Ágar Cetrimide (BD) pelo método do Spread-plate, com incubação a $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 48h. As colônias crescidas nesse Ágar, com coloração esverdeada, bordas irregulares e odor frutado característico, devido a aminoacetofenona liberada pelo organismo, são característicos de *P. aeruginosa* (LINCOPAN, 2004). Três colônias de cada placa foram isoladas e inoculadas em caldo Brain Heart Infusion – BHI (BD), incubadas a $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 24h, e logo após em Ágar BHI (meio composto), estocadas em estufa por $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 24h.

3.3.1.4 Identificação das estirpes de *Pseudomonas aeruginosa*

Como o crescimento no Ágar Cetrimide pode permitir a ocorrência de falsos resultados positivos, é recomendada uma segunda etapa de confirmação feita em Ágar Leite (meio composto), onde a utilização da caseína pela bactéria é evidenciada pela formação de um halo transparente no meio de cultura.

Em conjunto com essa prova foram realizadas outros testes que ajudassem na identificação da espécie: prova da oxidase reação de citocromo oxidase, coloração e morfologia de Gram, crescimento em Ágar Citrato (BD) como única fonte de carbono, crescimento em Ágar King-F (meio composto) produção da pioverdina e Ágar King-P (meio composto) produção da piocianina, Ágar Sim para verificação de motilidade e produção de indol, e crescimento a 42°C em Caldo BHI por 24h.

3.3.2 *Enterococcus spp.*

3.3.2.1 *Quantificação de Enterococcus*

Para identificação e quantificação de *Enterococcus* optou-se pelo método de Contagem Padrão em Placa (CPP) de acordo com World Health Organization (WHO, 2000), utilizando-se a técnica da membrana filtrante. Assim cada amostra, após homogeneização, foi diluída em salina 0,85% (10^{-1} a 10^{-4}) e filtrada em membrana de Ester celulose (45 μ m de um poro). Cada amostra filtrada foi colocada sobre a superfície de uma placa contendo Ágar m-Enterococcus (BD) e incubado por 48h a $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. As colônias crescidas com coloração vermelha, castanha ou rosa, foram quantificadas e isoladas em caldo e Ágar BHI (SÃO PAULO, 2012).

3.3.2.2 *Identificação do gênero Enterococcus spp.*

A primeira prova utilizada para confirmar *Enterococcus spp.* foi a de catalase, o aparecimento de bolhas indicará resultado positivo, descartando a possibilidade de gênero *Enterococcus*. As cepas com resultado negativo para o teste de catalase eram submetidas a outros processos de identificação como a caracterização com base em sua morfologia e comportamento tintorial pelo método de coloração de Gram, hidrólise da esculina em ágar bile esculina, crescimento em caldo BHI + NaCl 6,5% e crescimento a 45°C por 24h.

3.3.3 *Relação entre bactérias dos gêneros Pseudomonas e Enterococcus*

Em cada amostra analisada foi pesquisada a presença de *Pseudomonas* e de *Enterococcus* (indicador de contaminação fecal). A quantidade de isolados de ambos os grupos foi determinado e comparado.

3.3.4 Perfis de susceptibilidade a diferentes antimicrobianos

O antibiograma das cepas de *P. aeruginosa* foi realizado pelo método de difusão em placa, seguindo a metodologia proposta por Bauer e Kirby, segundo a orientação técnica ditada pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (BAUER *et al.*, 1966; CLSI, 2013).

Foram preparadas placas de Petri com Ágar Mueller-Hinton para as cepas de *P. aeruginosa*, os antimicrobianos utilizados seguindo a norma CLSI (2013) foram: Amicacina 30 μ g (AMI), Imipenem 10 μ g (IPM), Gentamicina 10 μ g (GEN), Tobramicina 30 μ g (TOB), Aztreonam 30 μ g (ATM) e Ceftazidima 30 μ g (CAZ).

No processo do antibiograma foi utilizado o espectrofotômetro (Micronal B542), para medição da turbidez, onde é estimada a quantidade de células difusas em 9 mL de salina 0,85% onde a medição de turbidez da salina com o inóculo deverá ser entre 0,080 a 0,10nm. Após a leitura da turbidez no espectrofotômetro, foi introduzido na salina inoculada um cotonete para espalhar o inóculo como um tapete na placa de Mueller-Hinton. Então foram adicionados os discos de antibióticos, organizados segundo a foto abaixo.

Figura 4 – Discos de antibióticos na placa de Petri com crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* mostrando sensibilidade a três dos antibióticos testados



Foto: Própria. Disposição dos discos de antibióticos na placa

As placas foram abertas para inoculação e para o posicionamento dos discos de antibióticos, próximo ao um bico de Bunsen, para se evitar contaminação por outros micro-

organismos. Depois dessa operação, as placas foram postas em uma estufa a $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 24 h. A leitura das placas foi feita pela medição dos halos transparente que estavam em volta do disco, realizada com um paquímetro digital (Digimess) e os resultados foram classificados como Resistente, Intermediário e Suscetível, de acordo com a orientação ditada pelo CLSI (2013).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pH das amostras de água variou de 6,64 à 8,05. A salinidade variou de 0 a 40 e a temperatura de 29°C a 36°C. Os valores dos parâmetros físico-químicos encontram-se abaixo na Tabela 1.

Tabela 1 – Parâmetros físico-químicos das amostras de água dos pontos estudados nas galerias e do mar da Praia Meireles, Fortaleza-Ceará

Coletas	Riacho Maceió		Praia do Meireles		
	P1	P2	P3	P4	
	pH	7,38	7,33	8,05	7,43
1°	Salinidade	0	37	3	40
	Temperatura	30°C	31°C	29°C	31°C
	pH	6,86	7,15	7,72	7,32
2°	Salinidade	0	38	1	36
	Temperatura	32°C	31°C	31°C	31°C
	pH	6,64	6,67	6,96	6,77
3°	Salinidade	1	2	0	35
	Temperatura	32°C	31°C	31°C	30°C
	pH	7,56	7,60	7,53	7,48
4°	Salinidade	0	38	5	40
	Temperatura	31°C	36°C	29°C	30°C
	pH	7,81	7,33	7,69	7,59
5°	Salinidade	0	30	7	38
	Temperatura	30°C	30°C	29°C	30°C

P1 – Amostras de água da Galeria Riacho Maceió. P2 – Amostras de água da Jusante à saída da Galeria do Riacho Maceió. P3 – Amostras de água da Galeria da Praia do Meireles. P4 – Amostras de água Jusante à saída da Galeria da praia do Meireles.

P. aeruginosa possui grande versatilidade para se adaptar em diferentes ambientes, tendo seu ótimo de crescimento entre 30 e 37°C e exigência de pH próximo à neutralidade, além de ter mecanismo para sobreviver em ambientes salinos (VASCONCELOS *et al.*, 2006b; AVILA, 2012)

Silva *et al.* (2008) encontraram variação de 7,0 a 8,0 no pH na água do mar das praias do litoral do estado do Maranhão quando estudavam sua contaminação por *Enterococcus*. Monteiro (2013) identificou *Enterococcus* avaliando algumas praias do litoral cearense, e os valores detectados de pH nas águas do mar variou de 7,60 à 8,40, além de ter medido valores de salinidade de 36 à 39 e encontrado temperaturas entre 27°C e 28°C. As bactérias do gênero *Enterococcus* apresentam longo tempo de sobrevivência na água de mar, crescem a temperaturas entre 10 e 45°C, toleram pH de 9,6 e salinidades de até 6,5% (SILVA *et al.*, 2008). Portanto, a temperatura, pH e salinidade encontrada nesta pesquisa mostrou-se favorável ao crescimento dessa bactéria.

Na tabela 2 encontram-se os dados de NMP de *Pseudomonas*/100mL nas amostras de água coletadas das galerias estudadas e das águas do mar adjacentes.

Tabela 2 – Número Mais Provável de *Pseudomonas aeruginosa*/100mL das amostras de água dos pontos estudados nas galerias e do mar da Praia Meireles, Fortaleza-Ceará

Coletas	Riacho Maceió		Praia do Meireles	
	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4
1°	6 x 10 ³ NMP/100	1,7 x 10 ⁴	< 1,8 x 10 ²	4,5 x 10 ²
	mL	NMP/100 mL	NMP/100 mL	NMP/100 mL
2°	1,6 x 10 ⁴	1,1 x 10 ³	>1,6 x 10 ⁴	1,3 x 10 ⁴
	NMP/100 mL	NMP/100 mL	NMP/100 mL	NMP/100 mL
3°	1,7 x 10 ³	4,3 x 10 ³	2,3 x 10 ⁴	< 1,8 x 10 ³
	NMP/100 mL	NMP/100 mL	NMP/100 mL	NMP/100 mL
4°	7,9 x 10 ³	6,8 x 10 ²	9,4 x 10 ³	< 1,8 x 10 ²
	NMP/100 mL	NMP/100 mL	NMP/100 mL	NMP/100 mL
5°	2,4 x 10 ³	4,6 x 10 ³	1,7 x 10 ³	< 1,8 x 10 ²
	NMP/100 mL	NMP/100 mL	NMP/100 mL	NMP/100 mL

P1 – Amostras de água da Galeria Riacho Maceió. P2 – Amostras de água da Jusante à saída da Galeria do Riacho Maceió. P3 – Amostras de água da Galeria da Praia do Meireles. P4 – Amostras de água Jusante à saída da Galeria da praia do Meireles.

O NMP de *Pseudomonas*/100mL variou de <1,8 x 10² a 9,4 x 10³. O ponto que apresentou a maior quantidade de *Pseudomonas*/100mL foi a galeria da Praia do Meireles

(P3) seguido da galeria do Riacho Maceió (P1), provavelmente esses valores foram mais altos nas galerias do que nos pontos de água do mar por ter chovido um dia antes da coleta (FUNCEME, 2013). A ocorrência de chuvas contribuem para a alteração da qualidade das águas das praias carreando uma grande quantidade de esgotos, lixo e outros detritos através de galerias de águas pluviais, córregos e canais de drenagem (BRASIL, 2000).

A maioria dos estudos, foram feitas com *P. aeruginosa* em efluente hospitalar ou em ambientes hospitalares (FERRAREZE *et al.*, 2007; FUENTEFRIA *et al.*, 2008; NOVAES, 2009). Outro campo de interesse nas áreas de pesquisa de *P. aeruginosa* são os realizados em amostras de águas potáveis (GUERRA *et al.*, 2006; FARACHE FILHO e DIAS, 2008; ALMEIDA, 2010; COELHO *et al.*, 2010).

A substituição do Caldo Acetamida, recomendado pela CETESB (SÃO PAULO, 2001), pelo Ágar Cetrímide na prova confirmatória, revelou ser eficiente no isolamento de *P. aeruginosa* em águas poluídas. Coelho (2010) também quantificou *Pseudomonas*/100mL através do método de NMP utilizando Ágar Cetrímide, apesar da norma da CETESB (SÃO PAULO, 2001) postular o uso do Caldo Acetamida.

Os resultados da CPP de *Enterococcus* estão expressos em UFC/mL (TABELA 3).

Tabela 3 – Contagem Padrão em Placas (CPP) de *Enterococcus* UFC/mL das amostras de água dos pontos estudados nas galerias e do mar da Praia Meireles, Fortaleza-Ceará

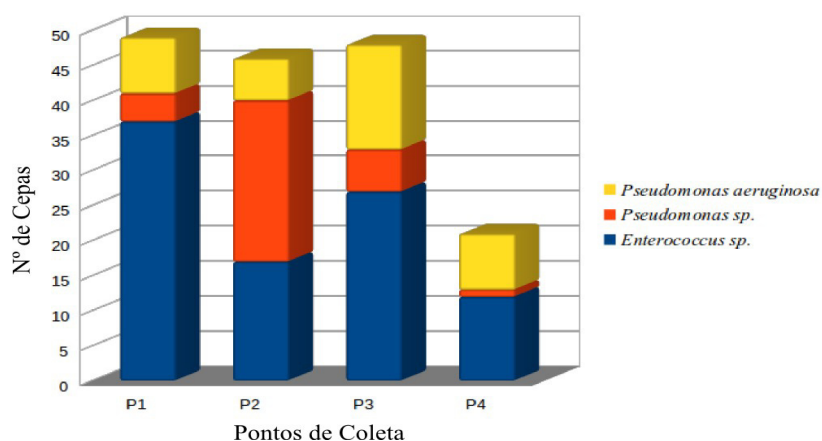
Coletas	Riacho Maceió		Praia do Meireles	
	P1	P2	P3	P4
1º	1,2 x 10 ³ UFC/mL	1,0 x 10 ² UFC/mL	3,6 x 10 ² UFC/mL	8,0 x 10 UFC/mL
2º	8,3 x 10 ² UFC/mL	< 10 UFC/mL est.	2,9 x 10 ³ UFC/mL	10 UFC/mL est.
3º	7,9 x 10 ³ UFC/mL	9,0 x 10 ³ UFC/mL	4,1 x 10 ³ UFC/mL	4,6 x 10 ² UFC/mL
4º	6,5 x 10 ² UFC/mL	7,0 x 10 UFC/mL	7,6 x 10 ² UFC/mL	4,6 x 10 ² UFC/mL
5º	4,7 x 10 ² UFC/mL	9,0 x 10 UFC/mL est.	6,5 x 10 ² UFC/mL	5,1 x 10 ² UFC/mL

P1 – Amostras de água da Galeria Riacho Maceió. P2 – Amostras de água da Jusante à saída da Galeria do Riacho Maceió. P3 – Amostras de água da Galeria da Praia do Meireles. P4 – Amostras de água Jusante à saída da Galeria da praia do Meireles.

Os valores variaram de <10 UFC/mL à $9,0 \times 10^3$ UFC/mL (TABELA 3). Os locais de amostragem que apresentaram maiores CPP de *Enterococcus* foram: o P2, água do mar receptora das águas da Galeria do Riacho Maceió, seguido do P1, um dia antes da 3ª coleta houve chuva (FUNCEME, 2013), como já dito, as águas das chuvas acarretam grandes quantidades de lixos e esgotos em córregos como o P1, influenciando assim na carga microbiana contaminante na costa (BRASIL, 2000). Esses resultados ratificam a informação de que as bactérias do gênero *Enterococcus* toleram águas marinhas melhor do que algumas bactérias (por exemplo, *Escherichia coli*). Graves *et al.* (2010) explicam que a distribuição dessas bactérias pode mudar devido a fatores ambientais e distanciamento de fontes de esgoto. Carvalho *et al.* (2014) encontraram maiores quantidades de *Enterococcus* nas amostras coletadas próximo a um emissário submarino do que em pontos outros da costa de Fortaleza.

Na identificação do gênero *Enterococcus* houve uma cepa isolada do Ágar m-Enterococcus que em ágar BHI apresentou características de *P. aeruginosa*, esta cepa foi submetida às provas bioquímicas confirmando a espécie. No gráfico a seguir são comparadas as quantidades detectadas de cepas de *P. aeruginosa*, *Pseudomonas* spp. e *Enterococcus* spp. isoladas, por ponto de coleta, na presente pesquisa.

Gráfico 1 – Quantidade de cepas de *P. aeruginosa*, *Pseudomonas* spp. e *Enterococcus* spp. Nas amostras de água dos pontos das galerias e do mar da Praia Meireles, Fortaleza-Ceará



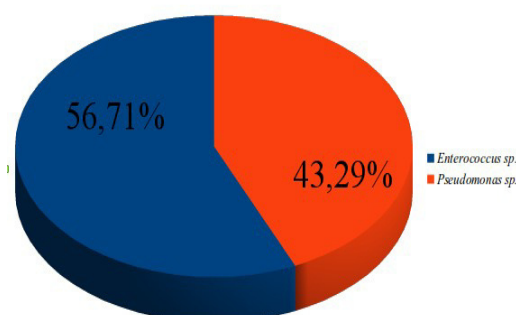
P1 – Amostras de água da Galeria Riacho Maceió. P2 – Amostras de água da Jusante à saída da Galeria do Riacho Maceió. P3 – Amostras de água da Galeria da Praia do Meireles. P4 – Amostras de água Jusante à saída da Galeria da praia do Meireles.

Das oitenta e uma cepas que foram isoladas e identificadas de *Pseudomonas* spp. no final da investigação, somente trinta e sete foram *P. aeruginosa* (Gráfico 1).

De todos os locais de amostragem, o P2 foi o mais contaminado com *Pseudomonas* spp.. Abualtayef *et al.* (2014) identificaram bactérias do gênero *Pseudomonas* em água do mar próximo a emissários submarinos (Faixa de Gaza, Palestina) enquanto havia lançamento de efluentes sanitário, mas quando cessava a descarga de dejetos, a bactéria não era mais encontrada. Possivelmente, em razão do deságue de água contaminada por *Pseudomonas* no P1 (Galeria), área de despejo no mar, o P2 sendo água do mar e receptora do P1, com certeza, apresentaria maior contaminação por influência da correnteza.

Foram identificadas trinta e sete cepas da espécie *Pseudomonas aeruginosa* no total da pesquisa. O ponto que apresentou maior número de isolamento da bactéria foi a Galeria da Praia Meireles (P3). A presença dessa bactéria está associada a esgotos domésticos, industriais e animais, por esta razão presumi-se que P3 deve receber um aporte de água de esgoto (SÃO PAULO, 2001). Este fato ratifica os dados encontrados nas contagens do NMP de *Pseudomonas*/100 mL do P3, que, da mesma maneira, foi o ponto que apresentou maiores valores da bactéria.

Gráfico 2 – Porcentagem de *Pseudomonas* spp. e *Enterococcus* spp. encontradas nas amostras de água dos pontos estudados das galerias e do mar da Praia Meireles, Fortaleza-Ceará



Total de cepas isoladas nas galerias e pontos de água do mar na cidade de Fortaleza - Ceará

Analisando o Gráfico – 2, é possível se observar que houve um isolamento maior de *Enterococcus* spp. no total das coletas do que de *Pseudomonas* spp. É possível que a causa

para esse fato tenha ocorrido, em razão da maior contaminação por fezes vinda das galerias pluviais, que subsequentemente contaminou a água do mar (SILVA *et al.*, 2008).

As cepas isoladas de *P. aeruginosa*, de acordo com Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2013) apresentaram sensibilidade aos antibióticos testados, entretanto, naquelas onde testou-se Imipenem, cresceram subpopulações (TABELA 4). O mecanismo pelo qual um micro-organismo se desenvolve dentro dos halos de inibição de crescimento é um processo de mutação e de recombinação envolvendo genes que podem conferir resistência, esse processo resulta da pressão seletiva e pode ser um veículo de disseminação da resistência (MESAROS *et al.*, 2007)

Tabela 4 – Perfil de susceptibilidade das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de amostras de água de galeria e de mar, da Praia Meireles, Fortaleza- CE, a variados antibióticos

Antimicrobianos	Conteúdo do disco	Perfil de suscetibilidade		
		R	I	S
AMI	30µg	-	-	100%
IMP	10µg	-	-	100%
GEN	10µg	-	-	100%
TOB	30µg	-	-	100%
ATM	30µg	-	-	100%
CAZ	30µg	-	-	100%

Amicacina (AMI), Imipenem (IPM), Gentamicina (GEN), Tobramicina (TOB), Aztreonam (ATM), Ceftazidima (CAZ). Resistente (S), Intermediário (I), Sensível (S)

As cepas de *P. aeruginosa* apresentaram sensibilidade a todos os antimicrobianos testados, o que poderia não representar risco às pessoas que, por acaso entrassem em contato com essas águas, porém esta suposição pode ser enganosa, visto que a pesquisa abordou somente as características fenotípicas e não o perfil patogênico dessas cepas.

Os dados da presente pesquisa concordam com os obtidos por Vasconcelos *et al.* (2006b) que também reportaram sensibilidade de *P. aeruginosa* a Ceftazidima, Amicacina, Gentamicina, Tobramicina e Imipenem em amostras de água de efluentes, o mesmo não acontecendo com Gonçalves *et al.* (2009) que isolaram *P. aeruginosa* de efluente hospitalar e encontraram resistência aos mesmos antibióticos testados, com exceção de Aztreonam. Porém Fuentefria *et al.* (2008) encontraram *P. aeruginosa* sensível a Amicacina, Gentamicina,

Imipenem, Aztreonam, e Ceftazidima, isoladas tanto de efluente hospitalar como de água superficial.

5 CONCLUSÃO

Recomenda-se que legislação brasileira inclua a presença de *P. aeruginosa* em águas recreacionais marinhas, já que podem causar doenças em banhistas com baixa imunidade ou não.

A presença do grupo *Enterococcus* em águas recreacionais pode indicar a contaminação destas por fezes, portanto é necessária uma maior fiscalização para que possa ser descoberto se existe uma fonte de poluição nas galerias pluviais.

O perfil de suscetibilidade das cepas de *P. aeruginosa* apresentou resposta sensível aos antimicrobianos testados, talvez este fato indique, por elas não serem resistentes, que não há risco para as pessoas que entram em contato com estas águas, porém não se pode afirmar esta suposição por conta de não ter sido estudado o perfil patogênico destas cepas, somente as características fenotípicas.

REFERÊNCIAS

ABUALTAYEF, M., T.; ABD RABOU, A., F., N.; ABU FOUL, A., A.; GHABAYEN, S., M.; ELSINWAR, H., M. Microbial water quality of coastal recreational water in the Gaza Strip, Palestine. **Nus. Biosci.**, v. 6, n. 1, p. 26-32, May., 2014.

ANBAZHAGAN, D.; MUI, W., S.; MANSOR, M.; YAN, G., O., S.; YUSOF, M., Y.; SEKARAN, S., D. Development of conventional and real-time multiplex PCR assays for the detection of nosocomial pathogens. **Braz. J. Microbiol.**, v. 42, n. 2, p. 448-458, Apr., 2011.

ALMEIDA, R., G. ***Pseudomonas aeruginosa* Como indicador de qualidade de água.** Monografia, Centro Universitário Metodista, Belo Horizonte, 14f., 2010.

AVILA, L., A. **Diversidade e potencial biotecnológico de *Pseudomonas spp.* de sedimentos de manguezais.** Tese (Doutorado em Biotecnologia), 31f., USP/Instituto Butantan/IPT, São Paulo, 2012.

BAUER, A., W.; KIRBY, W., M.; SHERRIS, J.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am. J. Clin. Pathol.**, Chicago, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 275, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico de características microbiológicas para água mineral natural e água natural. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 23 set. Seção 1, 2005

BRASIL. Resolução Nº 274, de 29 de novembro de 2000, **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2000.

CARVALHO, E., M., R.; COSTA, A., R.; ARAÚJO, A., J., G.; SOUSA, O., V.; VIEIRA, R., H., S., F. Multiple antibiotic-resistance of *Enterococcus* isolated from coastal water near an outfall in Brazil. **Afr. J. Microbiol.**, v. 8, n. 17, p. 1825-1831, Apr., 2014.

CLESCERI, L., S., E.; GREENBERG, A., E.; EATON, A., D. **Standard Methods for the examination of water and wastewater.** 20^o ed. A.P.H.A., Washington. 1998.

CLSI. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.** Twentieth Informational Supplement: Supplement M100-S20, Wayne, PA, USA, 2013.

COELHO, M., I., S.; MENDES, E., S.; CRUZ, M., C., S.; BEZERRA, S., S.; SILVA, R., P., P. Avaliação da qualidade microbiológica de águas minerais consumidas na região metropolitana

de Recife, Estado de Pernambuco. **Acta. Scientiarum. Health Sciences**. Maringá, v. 32, n. 1, p. 1-8, 2010.

DA SILVA, J., L.; CALAZANS, M., T. Avaliação bacteriológica de águas minerais consumidas na cidade do Recife-PE. Instituto Cultural Brasil Estados Unidos (ICBEU), João Pessoa, **Anais...**, 2003.

DAY, A., M.; SANDOE, J., A.; COVE, J., H.; PHILLIPS-JONES, M., K. Evaluation of a biochemical test scheme for identifying clinical isolates of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. **Lett. Appl. Microbiol.**, v. 33, n. 5, p. 392-396, 2001.

D'AZEVEDO, P., A.; DIAS, C., A., G.; LEMOS, S., K.; BITTENCOURT, J., A., F.; TEIXEIRA, L., M. Antimicrobial susceptibility among *Enterococcus* isolates from the city of Porto Alegre, RS, Brazil. **Braz. J. Microbiol.**, v. 35, n. 3, p. 199-204, 2004.

DONATO, S., T. **Comparação de métodos convencionais e semi-automatizados para identificação de *Enterococcus* spp. frente a biologia molecular em identificações discrepantes**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Médica), Universidade Federal do Ceará, 85f., 2007.

DOS SANTOS, R., P.; NAGEL, F.; GASTAL, S., L.; SANDER, G., B.; JACOBI, T., S.; KONKEWICZ, L., R.; KUPLICH, N., M.; LOVATTO, C., G.; PIRES, M., R.; ARONIS, M., L.; RIBEIRO, S., P. Política de antimicrobianos do hospital de clínicas de Porto Alegre – 2010 Comissão de controle de infecção hospitalar. **Rev. HCPA**, v. 30, n. 1, p. 13-21, 2010.

DUARTE, P., B. **Microrganismos indicadores de poluição fecal em recursos hídricos**. Monografia (Pós-graduação em Microbiologia), 52f., Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

EMMANUEL, E.; PERRODIN, Y.; KECK, G.; BLANCHARD, J., M.; VERMANDE, P. Ecotoxicological risk assessment of hospital wastewater: a proposed framework for raw effluents discharging into urban sewer network. **J. Hazard Mater.**, v. 117, n.1, p. 1-11, 2005.

FARACHE FILHO, A.; DIAS, M., F., F. Qualidade microbiológica de águas minerais em galões de 20 litros. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 19, n. 3, p. 243-248, Jul./Set. 2008.

FERNANDES, C. **MICRODRENAGEM – Um Estudo Inicial**, DEC/CCT/UFPB, Campina Grande, cap. VI, 2002.

FERRAREZE, M., V., G.; LEOPOLDO, V., C.; ANDRADE, D.; SILVA, M., F., I. *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente em unidade de cuidados intensivos: desafios que procedem?*. **Acta. paul. enferm.**, São Paulo, v. 20, n. 1, Jan./Mar., 2007.

FUENTEFRIA, D., B.; FERREIRA, A., E.; GRÄF, T.; CORÇÃO, G. *Pseudomonas aeruginosa*: Disseminação de resistência antimicrobiana em efluente hospitalar e água superficial. **Rev. Soc. Bra. Med. Trop.**, Uberaba, v. 41, n. 5, p. 470-473, Set/Out, 2008.

FUNCEME – Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos. **Calendário das chuvas no Estado do Ceará de maio a junho de 2013**. Disponível em: <<http://www.hidro.ce.gov.br/municipios/chuvas-diarias>>. Acesso em: 18 de nov. 2014.

GARRITY, G. M.; BOONE, D. R.; CASTENHOLZ, R. W. **Bergey's manual of systematic bacteriology**, 2 ed., Hardcover, 721f., 2001.

GAYTÁN, J., J., A.; BOCANEGRA, M., C., A.; LARA, C., E., G.; CERDA, N., A., R. Selección de antimicrobianos. Aspectos a considerar. **Avances**, v. 8, n. 25, p. 23-31, Set/Dic., 2011.

GONÇALVES, D., C., P., S.; LIMA, A., B., M.; LEÃO, L., S., N., O.; CARMO FILHO, J., R.; PIMENTA, F., C.; VIEIRA, J., D., G. Detecção de metalo-beta-lactamase em *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de pacientes hospitalizados em Goiânia, Estado de Goiás. **Rev. Soc. Bra. Med. Trop.**, Uberaba, v. 42, n. 4, p. 411-414, Jul./Aug., 2009.

GRAVES, A., K.; WEAVER, R., W. Characterization of enterococci populations collected from a subsurface flow constructed wetland. **J. Appl. Microbiol.**, v. 108, n. 4, p. 1226-1234, Apr., 2010.

GUERRA, N., M., M.; OTENIO, M., H.; SILVA, M., E., Z.; GUILHERMETTI, M.; NAKAMURA, C., V.; UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS FILHO, B., P. Ocorrência de *Pseudomonas aeruginosa* em água potável. **Acta. Sci. Biol. Sci.**, Maringá, v. 28, n. 1, p. 13-18, Jan./Mar., 2006.

HALLING-SØRENSEN, B.; NORS NIELSEN, S.; LANZKY, P., F.; INGERSLEV, F.; HOLTEN LÜTZHØFT, H., C.; JØRGENSEN, S., E. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. **Chemosphere**, v. 36, n. 2, p. 357-393, Jan., 1998.

IVERSEN, A.; KÜHN, I.; FRANKLIN, A.; MÖLLBY, R. High Prevalence of Vancomycin-Resistant Enterococci in Swedish Sewage. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 68, n. 6, p. 2838-2842, Jun., 2002.

KIMIRAN-ERDEM, A.; ARSLAN, E., O.; YURUDU, N., O., S.; ZEYBEK, Z.; DOGRUOZ, N. COTUK, A. Isolation and Identification of Enterococci from Seawater Samples: Assessment of Their Resistance to Antibiotics and Heavy Metals. **Environ. Monit. Asses.**, v. 125, p. 219-228, 2007.

KÜHN, I.; IVERSEN, A.; BURMAN, L. G.; OLSSON-LILJEQUIST, B.; FRANKLIN, A.; FINN, M.; AARESTRUP, F.; SEYFARTH, A. M.; BLANCH, A. R.; VILANOVA, X.; TAYLOR, H.; CAPLIN, J.; MORENO, M. A.; DOMINGUEZ, L.; HERRERO, I. A.; MÖLLBY, R. Comparison of enterococcal populations in animals, humans, and the environment – a European study. *Int. J. Food Microbiol.*, v. 88, p. 133-145. 2003.

LACAVA, I., A. **Classificação de Balneabilidade de Praia através de Dois Indicadores de Contaminação Fecal (*Escherichia coli* e Enterococos) e Utilização de Perfis Resistência Antimicrobiana e RFLP-PCR para Identificar Fontes de Contaminação Fecal.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental), Universidade do Vale do Itajai, 62f., 2005.

LINCOPAN, N.; TRABULSI, L. R. *Pseudomonas aeruginosa*, in Trabulsi, L. R. & Alterthum, F. (eds.), **Microbiologia**, p. 359-368, 4º ed., Editora Atheneu, 718p., 2004.

MATA, P., T., G.; ABEGG, M., A. Descrição de caso de resistência a antibióticos por *Pseudomonas aeruginosa*. **Arq. Mudi.**, Maringá – PR, v. 11, n. 2, p. 20-25, 2007.

MEGRAN, D., W. Enterococcal endocarditis. **Clinical Infectious Disease**, v. 15, p. 63-71, 1992.

MELO, V., V.; DUARTE, I., P.; SOARES, A., Q. **Guia de Antimicrobianos**, HC-UFG, 1º ed., 57f., Goiânia, 2012.

MESAROS, N.; NORDMANN, P.; PLÉSIAT, P.; ROUSSEL-DELVALLEZ, M.; , VAN ELDERE, J.; GLUPCZYNSKI Y.; VAN LAETHEM, Y.; JACOBS, F.; LEBECQUE, P.; MALFROOT, A.; TULKENS, P., M.; VAN BAMBEKE, F. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. **Clin. Microbiol. Infect.**, v. 13, p. 560-578, 2007.

MOELLERING, R., C. Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen. **Clinical Infectious Disease**, v. 14, p. 1173-1178, 1992.

MONTEIRO, D., T., L. **Comparação da qualidade bacteriológica da água marinha e da areia seca e molhada de duas praias do litoral leste do Ceará.** 71f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais), LABOMAR, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

NOVAES, R., M., P. **Avaliação da eficiência de uma estação de tratamento de efluente hospitalar através da detecção e caracterização molecular de *pseudomonas aeruginosa* na cidade do Rio de Janeiro.** Monografia (Pós-graduação em Vigilância Sanitária), 76f., Fundação Oswaldo Cruz, 2009.

PATEL, R.; UHL, J., R.; KOHNER, P.; HOPKINS, M., K.; COCKERILL III, F., R. Multiplex PCR detection of vanA, vanB, vanC-1, and vanC-2/3 genes in enterococci. **J. Clin. Microbiol.**, v. 35, n. 3, p. 703-707, Mar., 1997.

PATRA, A., K.; ACHARYA, B., C.; MOHAPATRA, A. Occurrence and distribution of bacterial indicators and pathogens in coastal waters of Orissa. **Indian. J. Mar. Aci.**, v. 38, n. 4, Dec., 2009.

ROSSI, F.; ANDREAZZI, D., B. **Resistência Bacteriana: interpretando o antibiograma.** São Paulo, Atheneu, 118p, 2005.

SÃO PAULO - Companhia Ambiental de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Norma técnica (L5.212). Enterococos – Determinação pela técnica de membrana filtrante: método de ensaio.** São Paulo, 19p., 2012.

SÃO PAULO – Companhia Ambiental de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Norma técnica (L5.220). Pseudomonas aeruginosa - determinação do número mais provável pela técnica de tubos múltiplos: método de ensaio.** São Paulo, 33p., 2001.

SÃO PAULO. **Relatório de Qualidade das Águas Litorâneas no Estado de São Paulo – Balneabilidade das Praias.** p. 39-180, 2004.

SCHLEIFER, K., H.; KILPPER-BÄLZ, R. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the Genus *Enterococcus* norn. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v. 34, n. 1, p. 31-34, 1984.

SILVA, V. C.; NASCIMENTO, A. R.; MOURÃO, A. P. C.; NETO, S. V. C.; COSTA, F. N. Contaminação por *Enterococcus* da água das praias do município de São Luís, Estado do Maranhão. **Acta Sci. Technol.**, Maringá, v. 30, n. 2, p. 187-192, 2008.

SOUSA, E., C. Bacterias Resistentes: uma guerra quase perdida. **Rev. Ciência Hoje**, v. 23, n. 138, p. 27 – 35, Mai., 1998.

TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos.** 3º ed., São Paulo, Atheneu, 2001. 1122p.

TORTORA, G, J. **Microbiologia.** 6º ed, 827f., Porto Alegre: Artmed, 2000.

VASCONCELOS, U.; CALAZANS, G., M., T.; ANDRADE, M., A., G.; MEDEIROS, L., V. Evidência do antagonismo entre *Pseudomonas aeruginosa* e bactérias indicadoras de contaminação fecal em água, **Rev. Hig. Alim.**, v. 20, n. 140, p.127-130, 2006a.

VASCONCELOS, U.; CALAZANS, G., M., T. Antibiogramas de linhagens de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de diferentes ambientes aquáticos. **Rev. Patol. trop.**, v. 35, n. 3, p. 241-244, Set./Dez., 2006b.

VIEIRA, R., H., F.; MENEZES, F., G., R.; COSTA, R., A.; MARINS, R., V.; ABREU, I., M.; FONTELES-FILHO, A., A.; SOUSA, O., V. Galerias pluviais como fonte de poluição de origem fecal para as praias de Fortaleza – Ceará. **Arq. Ciên. Mar**, Fortaleza, v. 44, n.2, p. 5 – 12, 2011.

VIEIRA, R., H., S., F.; OLIVEIRA, A., C., N.; SOUSA, O., V. Monitoramento microbiológico das águas e areias das praias do Meireles e do Futuro (Fortaleza – Ceará). **Bol. Téc. Cient. Cepnor**, Belém, v. 7, n. 1, p. 17 – 26, 2007.

VIEIRA, R., H., S., F.; VASCONCELOS, R., H. Balneabilidade das Praias de Iracema e do Meireles (Fortaleza-Ceará) – isolamento de cepas de *Escherichia coli* e sua sensibilidade a antimicrobianos. **Bol. Téc. Cient. Cepnor**, Belém, v. 6, n.1, p. 9-18, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Monitoring Bathing Waters - A Practical Guide to the Design and Implementation of Assessments and Monitoring Programmes**. Chapter 8: Sanitary Inspection and Microbiological Water Quality. 2000.