

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Biologia

Trabalho de Conclusão de Curso

**PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS DE
BACTÉRIAS COCOS GRAM POSITIVAS ISOLADAS NAS
ÁGUAS DO ARROIO DILÚVIO**

Gisele Nachtigall Garbinatto

Profa. Dra. Ana Paula Guedes Frazzon

Orientadora

Porto Alegre, dezembro de 2008.

Trabalho elaborado na forma de artigo que será submetido à Revista de Biociências da Pontifícia Universidade Católica após avaliação da banca examinadora.

As normas para publicação na revista estão apresentadas em anexo.

Agradecimentos

À UFRGS e em especial ao Departamento de Microbiologia pela oportunidade de crescimento ofertada.

À minha orientadora Professora Dra. Ana Paula Guedes Frazzon por todo apoio, incentivo, carinho e amizade, mas principalmente pela confiança.

À professora Dra. Sueli Teresinha Van Der Sand pela presença e disponibilidade sempre dispensados.

À professora Dra. Ana Cláudia Franco pelo estímulo, mesmo à distância.

Às doutorandas Sabrina Salamoni e Margaroni Oliveira sempre tão presentes no meu dia-a-dia. Foram preciosas as inúmeras sugestões dadas.

À mestrande Ana Paula Vaz Cassenego, minha colega e amiga, que tanto me ajudou neste momento.

À todos os meus colegas de laboratório pela amizade e companheirismo.

Finalmente, e principalmente, aos meus filhos Renata e Rafael pelo apoio e incentivo sempre dados, e a minha mãe por compreender a minha ausência, neste momento difícil que passamos.

Nada disso teria sido possível sem vocês.

Muito obrigado.

Resumo

Em maio de 2008 foram coletadas amostras de água de quatro diferentes pontos à margem do arroio Dilúvio, um importante córrego que faz parte da cidade de Porto Alegre. O objetivo do presente estudo foi identificar espécies de cocos Gram-positivos, especialmente *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Enterococcus* spp., resistentes a antimicrobianos, presentes nas águas do arroio Dilúvio. Com as amostras de água coletadas nos quatro pontos foram realizadas semeaduras em agar Sal Manitol, Caldo Azida Dextrose e agar BHI acrescido de 6,5% NaCl seguido de incubação a 37°C por 24 horas. Após o crescimento dos microrganismos, foram realizadas análises macroscópicas, coloração de Gram, testes de suscetibilidade a antimicrobianos e provas bioquímicas para identificação dos microrganismos. Os resultados obtidos mostraram um elevado número de *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Enterococcus* spp. resistentes a antimicrobianos em todos os pontos de coleta. São necessárias e urgentes, portanto, medidas que visem evitar a contaminação das águas do arroio Dilúvio e a proliferação e surgimento de microrganismos resistentes a antimicrobianos que possam colocar em risco a saúde da população.

Introdução

A água é o principal elemento para manter os seres vivos, podendo ser também um potencial meio de transmissão de inúmeras doenças de veiculação hídrica como gastroenterite, hepatite A, cólera, febre tifóide, entre outras. A contaminação das águas naturais representa um dos principais riscos à saúde pública, sendo amplamente conhecida a estreita relação entre a qualidade da água e as inúmeras enfermidades que acometem as populações, especialmente aquelas não atendidas por serviços de saneamento (Libânio et al., 2005).

Em todas as partes povoadas da Terra, a qualidade da água doce natural está sendo perturbada. Os problemas são rapidamente agravados em países tropicais, onde os custos do tratamento de águas poluídas têm compartilhado fundos com outras atividades mais urgentes

(Falkenmark & Allard, 1991). Os esgotos e excrementos humanos são causas importantes dessa deterioração da qualidade da água em países em desenvolvimento. Estima-se que 80% de todas as moléstias e mais de um terço dos óbitos dos países em desenvolvimento sejam causadas pelo consumo de água contaminada, e, em média, até um décimo do tempo produtivo de cada pessoa se perde devido a doenças relacionadas à água (Agenda 21, 1996). Atualmente, a cada quatorze segundos, morre uma criança vítima de doenças hídricas (Wrege, 2000).

O Arroio Dilúvio situado na cidade de Porto Alegre nasce na Represa Lomba do Sabão, localizada no bairro Lomba do Pinheiro e recebe água de afluentes como os arroios dos Marianos, Moinho, São Vicente e Cascatinha, para finalmente desaguar, entre os parques Marinha do Brasil e Maurício Sirotski Sobrinho (Faria & Morandi, 2002). A microbacia do Arroio Dilúvio tem cerca de 80 quilômetros quadrados com uma extensão canalizada de aproximadamente 12 quilômetros em áreas urbanas, com grande trânsito de pessoas e veículos. O Arroio Dilúvio recebe anualmente cerca de 50 mil metros cúbicos de lixo e terra, além do esgoto doméstico, esgoto laboratorial e hospitalar de três importantes bairros da cidade (Faria & Morandi, 2002). Machado e Homem (1989) sugerem que os efluentes hospitalares seriam possíveis disseminadores de microrganismos patogênicos, além de veicularem grandes concentrações de antibióticos e outros medicamentos via excreta de pacientes.

Bactérias cocos Gram-positivos são as principais causas de infecção nosocomial (Jeljaszewicz et al., 2000). As bactérias do gênero *Staphylococcus* são reconhecidamente uma das principais causas de infecções humanas nosocomiais e adquiridas na comunidade, estando associadas à pele e mucosas de animais vertebrados de sangue quente, podendo ser, ainda, eventualmente, isolados de produtos alimentares, poeira, água e esgotos. Muitas espécies são patogênicas para o homem e animais, uma vez que produzem toxinas extracelulares (Holt et al., 1994). O *Staphylococcus aureus* é um dos estafilococos mais patogênicos, sendo

responsável por causar em recém-nascidos foliculite, impetigo do recém-nascido, as Síndromes da pele escaldada e do choque tóxico. Estafilococos coagulase-negativo (SCN) como as espécies *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus saprophyticus* são também reconhecidos como agentes de infecções humanas. Entre os SCN, *S. epidermidis* é o microrganismo isolado com maior frequência, sendo responsável por 50 a 80% das infecções relacionadas com infecção hospitalar geralmente ocasionada por cateter umbilical e com meningite bacteriana (Archer & Climo, 1994).

Membros do gênero *Streptococcus* causam várias doenças incluindo faringite, meningite neonatal, abscesso cerebral, endocardite e gangrena (Miura, 2002; Schaechter et al., 1999).

O gênero *Enterococcus* é composto de mais de 30 espécies, destacando-se *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* (Huycke et al., 1998). Como o nome sugere, os enterococos são bactérias entéricas normalmente isoladas de amostras de fezes coletadas de seres humanos, bem como de uma variedade de outros animais de sangue quente. Muitos *E. faecalis* e *E. faecium* são encontrados no intestino grosso e no trato geniturinário, sendo esse último menos frequente. Estas bactérias também são encontradas no solo, na água, em plantas e vegetais (Facklan et al., 2002). Na área médica *E. faecalis* e *E. faecium* são as principais causadoras de infecções em humanos, estas espécies já foram encontradas em 85% e 10% dos isolados clínicos, respectivamente (Kayser, 2003). As infecções ocorrem em doentes internados, frequentemente após cirurgias, e incluem: infecções urinárias, infecções em feridas cirúrgicas, bacteremia, sepsis neonatal, endocardite e pneumonia (Saraiva et al., 1997; Schaechter et al., 1999).

No último século, a disponibilidade dos antimicrobianos trouxe importante impacto na redução de morbidade e mortalidade causadas por doenças infecciosas. Entretanto, associado ao uso de antimicrobianos tem ocorrido um aumento na frequência de bactérias resistentes aos antibióticos de uso corrente (Saraiva et al., 1997). Atualmente, a resistência

entre as bactérias Gram-positivas, que vêm se tornando problemas na terapêutica anti-infecciosa, é motivo de grande preocupação entre os cientistas, microbiologistas e os médicos clínicos (Tavares, 2000). A resistência a várias classes de agentes antimicrobianos é uma característica marcante dos *Enterococcus* sp., observada em diferentes regiões geográficas (D'azevedo et al., 2004). O problema também está presente entre as bactérias do gênero *Staphylococcus*, particularmente com *S. aureus* pelo aumento de linhagens multiresistentes.

O presente estudo buscou determinar a presença de bactérias cocos Gram-positivos, especialmente *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Enterococcus* spp. resistentes a antimicrobianos, em amostras de águas do arroio Dilúvio.

Material e Métodos

Local da coleta do material

Foram coletados 200 ml de água em quatro diferentes pontos do Arroio Dilúvio, sendo: (Ponto 1), na esquina das Avenidas Ipiranga com Antonio de Carvalho; (Ponto 2), em frente à Escola de Saúde Pública; (Ponto 3), em frente ao Palácio da Polícia e (Ponto 4), passando à Avenida Borges de Medeiros em direção ao Guaíba. A área de estudo e os quatro pontos onde foram realizadas as coletas para esse estudo podem ser visualizadas na Figura 1.

As coletas foram realizadas no dia 27/05/2008, entre 14 e 15 horas. A temperatura ambiente era cerca de 19° C e o tempo encontrava-se parcialmente nublado. As amostras foram acondicionadas no gelo e levadas para o Laboratório de Microbiologia da UFRGS.

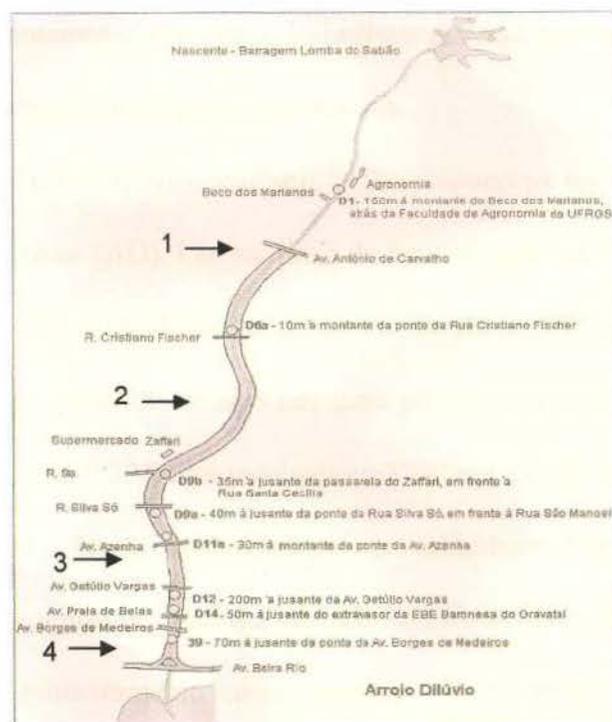


Figura 1: Mapa mostrando os pontos de coleta das amostras na margem do Arroio Dilúvio. Fonte: Faria, C. M.; Morandi, I. C. Pesquisa Ecos, Ano 3 – Nº 6: p. 12, 2002.

Isolamento e identificação

Foram utilizados meios de cultura seletivos para o isolamento das bactérias *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. e *Streptococcus* spp.

Para o isolamento de *Staphylococcus* spp. as amostras foram semeadas em agar Sal Manitol (SM). Cinquenta microlitros de água coletados nos Pontos 1 e 2, e 30 µl das amostras coletadas nos Pontos 3 e 4 foram pipetados em uma placa contendo o agar SM e incubadas a 37°C por 24-48 horas. Para cada Ponto foram inoculadas três placas. Após o período de incubação foi realizada a contagem das colônias que cresceram. Para a identificação, 29 colônias foram escolhidas aleatoriamente sendo, 6 colônias do Ponto 1, 7 colônias do Ponto 2, 8 colônias do Ponto 3 e 8 colônias do Ponto 4. As colônias escolhidas foram analisadas microscopicamente pela técnica de Gram e macroscopicamente pela morfologia colonial. Aquelas que apresentaram morfologia característica (cocos Gram-positivos) foram repicadas em placas com agar SM, e incubadas novamente. Colônias presuntivas de estafilococos

coagulase-positiva apresentaram zonas amarelo-brilhantes enquanto as coagulase-negativas ficaram circundadas por uma zona púrpura ou vermelha.

Para o isolamento dos *Enterococcus* spp. e *Streptococcus* spp. foi utilizado o meio seletivo Caldo Azida Dextrose (AD). Um mililitro de água de cada um dos quatro Pontos foi pipetado em tubos contendo 9 ml de caldo AD e incubados à 37°C por 24 horas. Após a incubação, 50 µl do caldo foram semeados em uma placa contendo agar Infusão Cérebro Coração (BHI) acrescido de 6,5% NaCl e incubadas a 37°C por 24-48 horas. Os *Enterococcus* spp. e *Streptococcus* spp. toleram essa condição de salinidade. Para a identificação, 10 colônias foram escolhidas de forma aleatória, de cada Ponto de coleta, perfazendo um total de 40 colônias que foram primeiramente caracterizadas microscopicamente pela técnica de Gram. As colônias também foram analisadas macroscopicamente, aquelas que apresentaram morfologia característica (cocos Gram-positivos) foram repicadas em placas de agar BHI acrescido de 6,5% NaCl, e incubadas novamente. Foi realizado, então, o teste da hidrólise da esculina em presença de sais biliares (BE), pois, geralmente, os *Enterococcus* spp. apresentam a capacidade de hidrolisar a esculina, em presença de bile, glicose e esculetina, enegrecendo o meio, diferenciando-se assim, dos *Streptococcus* spp. que não apresentam essa capacidade.

Os isolados de *Streptococcus* spp. foram inoculados em agar Sangue e incubados a 35-37°C em atmosfera de microaerofilia por 24-48 horas. As colônias foram identificadas como α -hemolíticas, β -hemolíticas ou γ -hemolíticas. A diferenciação de *S. pneumoniae* de outros estreptococos α -hemolíticos foi realizada pelos testes de resistência a bacitracina.

Análise fenotípica dos isolados de *Enterococcus*

Para a identificação das espécies de *Enterococcus* presentes entre as amostras, foram realizadas as seguintes provas bioquímicas: hidrólise da arginina desidrolase, fermentação de carboidratos como manitol, sorbitol, arabinose, sorbose, rafinose e piruvato, teste de

motilidade e metil- α -D-glicopironidase (MGP). Os resultados destas provas foram analisados segundo Facklan et al. (2002).

Teste de susceptibilidade

A susceptibilidade a agentes antimicrobianos foi realizada utilizando-se a técnica da difusão em disco em meio agar Müeller-Hinton (MH). Para os isolados de *Staphylococcus* spp. foram utilizados os seguintes antimicrobianos: ampicilina, (AMP, 10 μ g), penicilina (PEN, 10UI), vancomicina (VAN, 30 μ g), tetraciclina (TET, 30 μ g), trimetropin (TRI, 5 μ g), eritromicina (ERI, 15 μ g), gentamicina (GEN, 10 μ g), neomicina (NEO, 30 μ g), cefoxitina (CFO, 30 μ g), norfloxacin (NOR, 10 μ g). Para os isolados de *Enterococcus* spp. e *Streptococcus* spp. foram testadas as seguintes drogas antimicrobianas: ampicilina (AMP, 10 μ g), penicilina (PEN, 10UI), vancomicina (VAN, 30 μ g), eritromicina (ERI, 15 μ g), cloranfenicol (CLO, 30 μ g), cefoxitina (CFO, 30 μ g), trimetropin (TRI, 5 μ g), neomicina (NEO, 30 μ g), norfloxacin (NOR, 10 μ g), bacitracina (BAC, 10 UI).

Resultados e Discussão

Das 29 amostras selecionadas aleatoriamente do meio SM, 21 (72,41%) apresentavam forma de cocos, 6 (20,68%) de bacilos, 1 (3,4%) de cocobacilos e 1 (3,4%) levedura. Os isolados que não apresentaram a forma de cocos foram descartados. Dos 21 cocos Gram-positivos que foram isolados do meio SM, o isolado SM 1.1 apresentou resultado negativo no teste da catalase não pertencendo, portanto, ao gênero *Staphylococcus*. Os isolados SM 2.5, 3.1, 4.1 e 4.2 foram catalase-positiva e apresentaram colônia púrpura ou vermelha no meio SM sendo presuntivamente caracterizadas como SCN. Os isolados SM 1.2, 1.3, 2.4, 2.7, 4.3, 4.4 e 4.6, foram identificados como pertencentes à espécie *Staphylococcus aureus* por serem catalase-positiva, apresentarem colônias com zonas amarelo-brilhantes no meio SM e coloração carotenóide em agar tripsina de soja (TSA). As demais colônias catalase-positivas com zonas amarelo-brilhante no meio SM que apresentaram coloração não-carotenóide, foram

presuntivamente classificadas como coagulase-positivas, as quais podem pertencer às espécies *S. delphini*, *S. schleiferi* e *S. intermedius*.

Dos 40 isolados selecionados aleatoriamente do caldo AD, 38 apresentavam forma de cocos e 2 de bacilos. Os dois bacilos isolados foram descartados por não serem de interesse para o presente estudo. O teste da bile esculina foi utilizado para distinguir os gêneros *Streptococcus* e *Enterococcus*. As colônias CA 1.2, 1.4, 2.6, 3.5, 3.7 e 4.5 não foram capazes de hidrolisar a esculina pertencendo, portanto, ao gênero *Streptococcus*, enquanto que as demais hidrolisaram a esculina, escurecendo o meio e pertencendo ao gênero *Enterococcus*. Como se suspeitava que o isolado SM 1.1, que era catalase-negativo, pudesse ser um *Enterococcus*, este foi inoculado no meio bile esculina. O isolado hidrolisou a esculina sendo, então, transferido para o grupo dos *Enterococcus*.

A análise fenotípica distribuiu os 33 isolados de *Enterococcus* nas seguintes espécies: 13 de *E. faecalis* (39,39%), 1 de *E. faecium* (3,03%), 1 de *E. mundtii* (3,03%), 2 de *E. casseliflavus* (6,06 %), 1 de *E. durans* (3,03%), 1 de *E. sulfureus* (3,03%), 5 de *E. hirae* (15,15%). Nove isolados (27,27%) não puderam ser identificados através dos testes realizados. Futuramente serão identificados pelo perfil de proteínas (Teixeira *et al.*, 1994). Na Figura2, encontra-se representada a distribuição dos isolados por ponto de coleta.

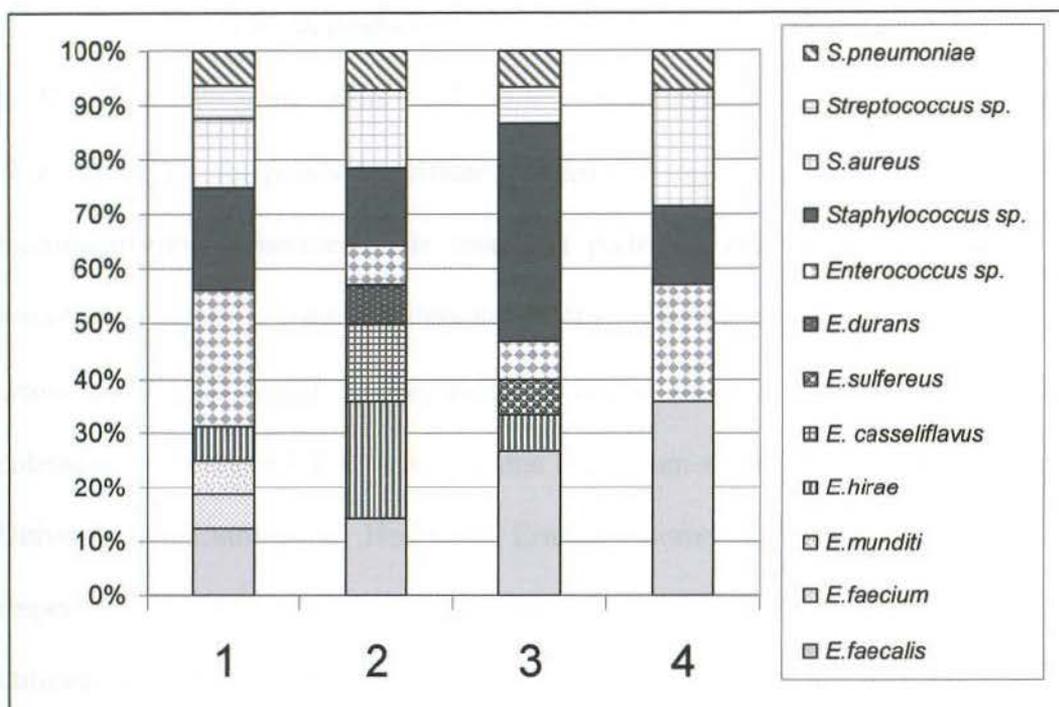


Figura 2: Percentual das espécies de *Enterococcus*, *Staphylococcus* e *Streptococcus* isolados nos diferentes pontos do Arroio Dilúvio em Porto Alegre, RS

A capacidade dos seis isolados de *Streptococcus* spp. em produzir a enzima extracelular hemolisina foi determinada em meio agar sangue, destes 5 apresentaram hemólise parcial do sangue nas placas sendo classificados como α -hemolítico e 1 isolado não apresentou hemólise sendo classificado como γ -hemolítico. Dos cinco isolados α -hemolíticos, quatro apresentaram resistência à bacitracina, sendo estes presuntivamente identificados como *S. pneumoniae*. Os demais isolados foram identificados apenas como gênero *Streptococcus*.

No teste de susceptibilidade aos antimicrobianos, avaliando-se os 20 isolados pertencentes ao gênero *Staphylococcus*, foram observados 12 (60%) isolados resistentes a pelo menos um dos antimicrobianos testados, destes, 5 (41,67%) foram considerados multiresistentes por apresentarem resistência a dois ou mais antimicrobianos. A resistência à penicilina foi observada nas amostras de água dos quatro Pontos de coleta, sendo que 10 (50%) dos 20 isolados nos quatro pontos de coleta apresentaram resistência a este antimicrobiano.

Os isolados de *Staphylococcus* não apresentaram resistência a gentamicina, cefoxitina, norfloxacin e ao trimetoprin. Analisando os resultados obtidos com os isolados do gênero *Staphylococcus*, foi possível verificar que em todos os Pontos de coleta foram encontrados microrganismos resistentes. Este resultado pode ser explicado se levarmos em conta a semelhança existente entre os diferentes Pontos, todos se encontram distantes da nascente do arroio e em áreas bastante urbanizadas. A maior quantidade de isolados resistentes foram coletados nos Pontos 1 e 2. Estes Pontos encontram-se próximos ao Hospital da Pontificia Universidade Católica e Hospitais Ernesto Dornelles e Clínicas de Porto Alegre, respectivamente. O isolado SM 1.6 apresentou resistência à vancomicina, um antimicrobiano utilizado somente em ambiente hospitalar. Segundo a literatura, o Hospital de Clínicas de Porto Alegre gera aproximadamente 27.000 m³ de esgoto/mês e estes efluentes são lançados *in natura* no Arroio Dilúvio que deságua no Lago Guaíba, principal fonte de abastecimento de água potável para a cidade de POA (Ortolan et al., 2000).

No teste de susceptibilidade aos antimicrobianos testados, 31 (93,93%) dos 33 isolados de *Enterococcus* apresentaram resistência a um ou mais antimicrobianos, e somente o isolado CA 1.5 foi susceptível. Quanto à frequência de resistência, 29 amostras eram resistentes à neomicina (87,87%), 29 à bacitracina (87,87%), 22 à eritromicina (66,67%), 21 à cefoxitina (63,63%), 18 à norfloxacin (54,54%), 15 à vancomicina (45,45%), 4 à cloranfenicol (12,12%). Em relação às espécies e os Pontos de coletas, dos 9 isolados da amostra de água do Ponto 1, dois *Enterococcus* sp. (22,22%) foram susceptíveis a todos os antimicrobianos testados. Em todos os Pontos de coleta foi observada resistência à vancomicina, destacando-se o Ponto 4 que apresentou o maior número de espécies resistentes a este antimicrobiano, onde 3 dos 8 isolados (37,5%) apresentaram resistência. Não foi observada, entre os isolados, resistência à ampicilina, trimetropin e penicilina.

Na Tabela 1, encontra-se representado o perfil de resistência aos antimicrobianos testados das diferentes espécies de *Enterococcus* isoladas.

Tabela 1. Perfil de susceptibilidade, aos antimicrobianos testados, das diferentes espécies de *Enterococcus* isoladas das águas do arroio Dilúvio.

Antimicrobiano	<i>E. faecalis</i> (n=13)		<i>E. faecium</i> (n=1)		<i>E. hirae</i> (n=5)		<i>E. casseliflavus</i> (n=2)		<i>E. mundtii</i> (n=1)		<i>E. durans</i> (n=1)		<i>E. sulfureus</i> (n=1)		<i>Enterococcus sp.</i> (n=9)	
	I (%)	R (%)	I (%)	R (%)	I (%)	R (%)	I (%)	R (%)	I (%)	R (%)	I (%)	R (%)	I (%)	R (%)	I (%)	R (%)
AMP 10 µg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BAC 10 UI	0	100	0	100	60	20	0	100	0	100	0	100	0	0	11,1	66,7
CFO 30 µg	0	92,3	0	0	0	0	0	100	0	0	0	100	100	0	22,2	44,4
CLO 30 µg	23,1	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ERI 15 µg	100	0	100	0	0	20	0	0	100	0	0	0	0	0	66,7	0
NEO 30 µg	0	92,3	100	0	80	20	100	0	0	0	0	100	100	0	22,2	66,7
NOR 10 µg	84,6	0	100	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	33,3	22,2
TRI 5 µg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VAN 30 µg	46,1	23,1	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	44,4	11,1

Ampicilina (AMP), Bacitracina (BAC), Cefoxitina (CFO), Cloranfenicol (CLO), Eritromicina (ERI), Neomicina (NEO), Norfloxacin (NOR), Penicilina (PEN), Trimetoprima (TRI) e Vancomicina (VAN). Perfil de Resistência: I : Intermediário; R: Resistente.

Embora, colonizadores do trato gastrointestinal e genital feminino, os enterococos têm-se destacado nos últimos anos como patógenos importantes nas infecções hospitalares. Nos Estados Unidos, os enterococos já apontam como a segunda causa mais comum de infecção nosocomial, estando particularmente associados a infecções do trato urinário, infecções de feridas cirúrgicas e bacteremias (Noskin et al., 1995). Paralelamente ao aumento da incidência de infecções nosocomiais, têm-se observado um rápido aumento na frequência de cepas resistentes aos antimicrobianos de uso corrente (Morrison et al., 1997; D’Azevedo, 2004).

Apesar da publicação de vários trabalhos sobre enterococos multiresistentes, pouco ainda se sabe sobre sua forma de disseminação, suas características epidemiológicas e, sobretudo, ainda não se conhece a melhor abordagem terapêutica diante de infecções graves causadas pelos Enterococos Resistentes a Vancomicina (VRE), os quais, muitas vezes, também se mostram resistentes aos demais antimicrobianos comumente utilizados no seu tratamento (Eliopoulos, 1993). A resistência à vancomicina tem sido observada principalmente entre quatro espécies de enterococos: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. avium* e *E. gallinarum* (Johnson et al., 1990).

Considerando as amostras de *Streptococcus* spp., estas apresentaram o seguinte fenótipo de resistência: 6 resistentes à neomicina (100%), 5 à bacitracina (83,33%), 4 à cefoxitina (66,66%), 4 à norfloxacin (66,66%), 3 à penicilina (50%), 3 à eritromicina (50%), 2 à vancomicina (33,33%), 1 à cloranfenicol (16,66%) e 1 à ampicilina (16,66%). Nenhum isolado apresentou resistência ao trimetropin.

Ante o impacto que o fenômeno da resistência tem tido entre os indicadores de saúde e seus custos, resulta a evidente necessidade de se modificar as práticas de tratamento das infecções, no sentido de haver um uso mais racional dos antimicrobianos e de se buscar novas estratégias que ajudem a preservar a eficácia dos antibióticos já existentes (Smith & Coast, 2002).

A alta incidência de microrganismos resistentes a antimicrobianos encontrada nas amostras de água coletadas pode estar relacionada ao fato de o arroio Dilúvio receber diariamente o esgoto cloacal de três importantes bairros da cidade, sendo que nesses bairros encontram-se situados vários estabelecimentos de saúde, inclusive hospitalares. Silveira & Monteggia (2003) analisaram e compararam efluentes domésticos com efluentes hospitalares e concluíram que os efluentes hospitalares apresentam semelhanças aos efluentes domésticos no que diz respeito à concentração de matéria orgânica, sólidos, metais e pH. Contudo, a presença de elevadas concentrações de substâncias como fármacos e desinfetantes os tornam diferenciados. Estes fármacos além de contaminarem o ambiente, perturbam a ecologia microbiana, causando a proliferação de bactérias patogênicas resistentes que podem ameaçar a saúde humana (Ternes et al., 1999). Além disso, o efluente hospitalar atua como fonte de contaminação uma vez que nele são concentrados os dejetos dos indivíduos doentes que expressam morbidade variável (Fayer et al., 2004).

São alarmantes os dados estatísticos relacionados aos efeitos da água contaminada sobre a saúde humana. É fundamental que a população passe a se preocupar em manter as boas condições de seus recursos hídricos, caso contrário muito antes do esperado estaremos

enfrentando sérios problemas de abastecimento e graves problemas de saúde pública com infecções causadas por patógenos resistentes que não respondem mais aos antibióticos disponíveis.

Conclusões

A ocorrência de cepas resistentes e multiresistentes no arroio Dilúvio cujas águas são lançadas no Lago Guaíba, manancial que abastece e banha nossa cidade, merece atenção por parte da população em geral e ações efetivas por parte do setor público que busquem a melhoria da qualidade de suas águas a fim de evitar problemas de contaminação e o surgimento e disseminação de microrganismos cada vez mais resistentes a antimicrobianos.

Bibliografia

Agenda 21. Proteção da qualidade e do abastecimento dos recursos hídricos: aplicação de critérios integrados no desenvolvimento, manejo e uso dos recursos hídricos. Água em Rev: Suplemento das Águas; 1996. p.14-33.

Archer, G.L. & Climo, M.W. Antimicrobial Susceptibility of Coagulase-Negative Staphylococci Antimicroblal Agents And Chemotherapy, 1994, p. 2231-2237 Vol. 38,

D'azevedo, P. A.; Dias, C. A. G.; Lemos, S. K.; Bittencourt, J. A. F.; Teixeira, L. M.; Sensibilidade aos antimicrobianos entre amostras de *Enterococcus* isolados na cidade de Porto Alegre, RS, Brasil. Braz. J. Microbiol. V. 35 n. 3, 2004.

Eliopoulos, G.M. Increasing problems in the therapy of enterococcal infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1993; 12 : 409-12.

Facklan, R.R.; Carvalho, M.G.S. & Teixeira, L.M. History, taxonomy, biochemical characteristics and antibiotic susceptibility testing of enterococci. In: Gilmore, M.S. (Ed.), The Enterococci – Pathogenesis, Molecular Biology and Antibiotic Resistance, Washington DC: ASM Press,2002. Cap. 1, p. 1-54.

Falkenmark, M.; Allard, B. Water Quality and disturbances of natural freshwaters. In: Hutzinger O, editor. The handbook of environmental chemistry. Part A – Water pollution. Berlin: Ed. Springer Verlag; 1991. V. 5. p. 46-78.

Faria, C. M.; Morandi, I. C. Pesquisa Ecos, Ano 3 – Nº 6: 7-22, 2002.

Fayer, R.; Dubey, J.P.; Lindsay, D.S. Zoonotic protozoa: from land to sea. Trends in Parasitol. 20(11): 531-536, 2004.

Holt, J.G. *et al.* Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9. ed. Baltimore: Williams e Wilkins, 1994. 787 p.

Huycke, M.M.; Sahm, D.f.; Gilmore, M.S. Multiple-drug resistant enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future. *Emerging Infectious Disease*, Atlanta, v. 4, n.2, p. 239-249, June 1998. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/>. Acesso em 27 maio 2007.

Jeljaszewicz, J; Mlynarczyk, G; Mlynarczyk A. Antibiotic resistance in Gram-positive cocci, 16: 473-478, 2000.

Johnson, A. P.; Uttley, A.H.C.; Woodford, N.; George, R.C. Resistance to vancomycin and teicoplanin: a emerging clinical problem. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34 : 280-91.

Kayser, F.H. Safety aspects of enterococci from the medical point of view. *Int J Food Microbiol.* 88: 255-262, 2003.

Libânio, P. A. C.; Chernicharo, C. A. L.; Nascimento, N.O. A dimensão da qualidade de água: avaliação da relação entre indicadores sociais, de disponibilidade hídrica, de saneamento e de saúde pública. Vol. 10 n. 3: 219-228, 2005.

Machado-Homem, J.C.M. *Les Effluents Hospitaliers*. Paris: Université Louis Pasteur. Institut Mécanique des Fluides. 1986.

Miura, E. Infecção pelo estafilococo coagulase-negativo em recém-nascidos: mito ou verdade? *J. Pediatra.* (Rio J.) vol.78 n°. 4. Porto Alegre, 2002.

Morrison, D.; Woodford, N. & Cookson, B. Enterococci as emerging pathogens of humans. *Soc. Appl. Bacteriol. Symp. Ser.* Vol. 26, 89-99, 1997.

Noskin, G.A.; Peterson, L.R.; Warren J.R. *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* bacteremia: acquisition and outcome. *Clin Infect Dis.* 20 : 296-301, 1995.

Ortolan, M. G. S. ; Cardoso, M. R. I. Ayub, M. A. Z. Perfil Microbiológico de Bactérias Mesofílicas do Efluente do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000.

Saraiva, I. H.; Jones, R. N.; Erwin, M. *et al.* Avaliação da sensibilidade a antimicrobianos de 87 amostras clínicas de enterococos resistentes à vancomicina. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 43, n. 3, p. 217-222, 1997.

Schaechter, M. ; Engleberg, N. C. ; Eisenstein, B. I. ; Medoff, G. *Mechanisms of microbial disease*. 3th edition, Ed. Lippincott, Williams & Wilkins, 1999.

Silveira, I.C.T.; Monteggia, L.O. O uso de contadores biológicos rotatórios no tratamento de efluente hospitalar. In: 22 Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2003, Joinville, SC. Anais do 22 Congresso Brasileiro de Eng. Sanitária e Ambiental, 2003.

Smith, R. D.; Coast, J. Antimicrobial resistance: a global response. *Bull World Health Organ.* 80 : 126-32, 2002.

Tavares, W. Bactérias Gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. Rev. Soc. Bras. Méd. Trop. Vol.33 Uberaba May/June 2000.

Teixeira LM, et al. Correlation between phenotypic characteristics and DNA relatedness within *Enterococcus faecium* strains. Journal of Clinical Microbiology, 1520-1523, vol 33, No. 6, 1995.

Ternes, T.A.; Kreckel, P.; Mueller, J. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – II. Aerobic batch experiments with activated sludge. Science Total Environmental, n. 225, p. 91-99, 1999.

Willey, B.M.; McGeer, A.J.; Ostrowski, M.A.; Kreiswirth, B.N.; Low, D.E. The use of molecular typing techniques in the epidemiologic investigation of resistant enterococci. Infect Control Hosp Epidemiol; 15 : 549-55, 1994.

Wrege, M. A ética da água. InformANDES (96):12, 2000.

Author Guidelines

Authors are requested to indicate which section is most appropriate for their paper.

1. Manuscripts may be written in English, with one abstract in English and another in Portuguese.
2. Whenever feasible, articles should be arranged in the following order: title, authors' full names, abstract, key words (up to six); title, abstract and key words in the second language; introduction, materials and methods, results, discussion and conclusion (the latter two may be together or separate), acknowledgements, bibliographic references, tables, and list of legends for the figures. Information about the authors will appear as a footnote on the title page. It should be placed immediately after the title and the authors' names in full, referenced by Arabic superscript (not asterisks), and come before the abstract, with a line above and another below to indicate that it is a footnote. Scientific notes and reviews should be condensed to at most four pages, with only title, text, bibliographic references, illustrations, author(s) and address.
3. The manuscript should be submitted on-line. It is requested to the corresponding author to create a login and upload the manuscript file.
4. Illustrations (photographs, drawings, graphics and maps) must be sent present in the manuscript files, JPEG format, with high resolution (mimimum of 300dpi). Color illustrations are acceptable, if the author assumes the costs involved in their use.
5. Tables must adhere to the appropriate rules of the IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), Brasília.
6. Bibliographic references and the respective bibliography should follow standards of the ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas), Rio de Janeiro, rules (ABNT 6023, Aug. 2000).

Following are examples:

BARCELOS, M. F. P. Ensaio tecnológico, bioquímico e sensorial de soja e guandu enlatados verdes e maturação de colheita. 1998. 160 f. Tese (Doutorado em Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

CÂNDIDO, J.L. et al. Microsclere variations of *Dosilia pydanielli* (Porifera, Spongillidae) in Caracaranã Lake (Roraima-Brazil). Palaeoenvironmental implication. Biociências, Porto Alegre, v. 8, n. 2, p.77-92, dez. 2000.

GOMES, L. G. F. F. Novela e sociedade no Brasil. Niterói: EdUFF, 1998. 137 p. (Coleção Antropologia e

Ciência Política, 15).
IBICT. Manual de normas de editoração do IBICT. 2. ed. Brasília, DF, 1993. 41 p.
ROMANO, G. Imagens da juventude na era moderna. In: LEVI, G.; SCHMIDT, J. (Org.). História dos jovens 2: a época contemporânea. São Paulo: Companhia das Letras, 1996. p. 7-16.
SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Coordenadoria de Planejamento Ambiental. Estudo de impacto ambiental - EIA, Relatório de impacto ambiental - RIMA: manual de orientação. São Paulo, 1989. 48 p. (Série Manuais).
SOUZA, L. S.; BORGES, A. L.; REZENDE, J. O. Influência da correção e do preparo do solo sobre algumas propriedades químicas do solo cultivado com bananeiras. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 21., 1994, Petrolina. Anais... Petrolina: EMBRAPA, CPATSA, 1994. p. 3-4.

7. Specific and generic names must be in italics or underlined and only the first citation in the abstract and in the text should be in full and include optional data. Words foreign to the basic language of the article should be in bold type or double-underlined.
8. Submission of manuscripts implies the author's agreement to transfer of author's rights to BIOCÊNCIAS and on-line publication of the manuscript.
9. Authors assume full responsibility for the content and grammatical accuracy of their manuscript and for guaranteeing that it is being submitted exclusively to BIOCÊNCIAS.
10. Mail address: Comissão Editorial do BIOCÊNCIAS, Faculdade de Biociências da PUCRS - Av. Ipiranga 6681, Prédio 12-C, CEP 90619-900, PORTO ALEGRE, RS, Brazil (E-mail: biocienciaspucrs@pucrs.br).