

OCORRÊNCIA DE BACTÉRIAS PATOGÊNICAS OPORTUNISTAS EM UM RESERVATÓRIO DO SEMIÁRIDO DO RIO GRANDE DO NORTE, BRASIL

Viviane Felix Silva Nascimento²

Magnólia Fernandes Florêncio Araújo¹

RESUMO

A qualidade da água doce vem sendo diminuída devido a ações antrópicas, principalmente ligadas ao descarte de esgotos, os quais podem conter uma gama de microrganismos presentes na microbiota intestinal humana, como os membros da família Enterobacteriaceae que podem ser patogênicos causando infecções oportunistas. Este trabalho objetivou identificar bactérias potencialmente patogênicas em reservatórios da Bacia do Rio Piranhas-Assú, no nordeste brasileiro. Amostras de água foram coletadas no período correspondente a fevereiro de 2009 até novembro de 2010, mensalmente, abrangendo períodos de estiagem e chuva, e a identificação bioquímica foi feita utilizando-se kits comerciais de identificação. O maior percentual de isolados (78%) apresentou características morfológicas e bioquímicas de enterobactérias. Dentre as espécies encontradas, *Citrobacter diversus*, *Enterobacter agglomerans*, *Morganella morganii ssp morganii*, *Enterobacter spp*, *Proteus myxofaciens*, *Proteus penneri* e *Serratia spp*. são espécies patogênicas oportunistas. Espécies de interesse biotecnológico e ambiental como *Chromobacterium violaceum* e *Acinetobacter lwoffii* também foram identificadas. Os dados obtidos apontam para a necessidade de uma vigilância da qualidade da água utilizada na região estudada e o desenvolvimento de ações em educação ambiental e educação em saúde com a população local.

Palavras-chave: qualidade de água, enterobactérias, microrganismos

ABSTRACT

Occurrence of opportunistic pathogenic bacteria in a semiarid reservoir of Rio Grande do Norte state, Brazil. The freshwater quality has been diminished due to human activities, primarily related to the disposal of sewage, which can contain a variety of microorganisms found in the human gut microbiota, as members of the family Enterobacteriaceae that can be pathogenic causing opportunistic infections. This study aimed to identify potentially pathogenic bacteria in reservoirs of the Piranhas-Assú River Basin, in northeastern Brazil. Water samples were collected from February 2009 to November 2010, monthly, in drought and rain periods, and biochemical identification was

¹ UFRN - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Brasil. E-mail para correspondência: magffaraujo@gmail.com

² UFRN - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente, Brasil.

done using commercial identification kits. The highest percentage of isolates (78%) showed morphological and biochemical characteristics of enterobacteria. Among the species found, *Citrobacter diversus*, *Enterobacter agglomerans*, *Morganella morganii ssp morganii*, *Enterobacter spp*, *Proteus myxofaciens*, *Proteus penneri* and *Serratia spp*. are opportunistic pathogenic species. Species with environmental and biotechnological interest as *Chromobacterium violaceum* and *Acinetobacter lwoffii* were also identified. The data indicates the need for monitoring the quality of water used in the studied region, and to the environmental and health education activities to the local population.

Keywords: water quality, enterobacteria, microorganisms

INTRODUÇÃO

Um adequado suprimento de água doce é fundamental para o desenvolvimento econômico e para a qualidade de vida das populações humanas e de outros animais. A diminuição da qualidade da água é hoje um dos mais graves problemas mundiais e um grande desafio para a humanidade que terá que conviver cada vez mais com a baixa disponibilidade hídrica. Esse fato é evidenciado principalmente, dentre outras razões, pelas descargas de águas residuárias que provocam a contaminação dos corpos aquáticos com organismos patogênicos e os transformam em veículos de transmissão de enfermidades infecciosas (Andrade et al., 2009).

No Brasil, cerca de 90% da população tem acesso à água de qualidade para consumo, porém 47,8% dos municípios brasileiros ainda não dispõem de coleta de esgoto e, naqueles onde existe uma rede de esgotamento sanitário, somente 20,2% possuem sistema de tratamento (Freitas et al., 2008). Esta situação é ainda mais grave em regiões semiáridas que são caracterizadas, de modo geral, pelo clima quente e deficiência hídrica com irregularidade das precipitações pluviométricas (Silva, 2003).

Devido ao déficit hídrico significativo, na região semiárida do Nordeste brasileiro foram construídas inúmeras barragens que possibilitam à população a prática de irrigação, consumo humano e turismo, no intuito de diminuir as dificuldades socioeconômicas que se apresentam na época da seca (Bezerra-Júnior e Silva, 2007). Porém, a maioria dos reservatórios da região semiárida do nordeste brasileiro encontra-se em estado eutrófico ou hipereutrófico (Lazarro et al., 2003), o que implica em que não baste que se tenha quantidade, mas também qualidade da água, pois o uso dos reservatórios com baixa qualidade hídrica põe em risco a saúde e o bem estar das pessoas que entram em contato direto com a água poluída de rios e reservatórios do semiárido (Soares et al., 2001).

Segundo a Organização Mundial da Saúde – OMS (2003), cerca de 80% das doenças que ocorrem em países em desenvolvimento são veiculadas pela água contaminada por microrganismos patogênicos. Diversos estudos epidemiológicos mostram resultados de saúde adversos (incluindo infecções gastrointestinais, respiratórias e mortes) associados à inalação, ingestão ou ao contato com água contaminada com organismos aquáticos patogênicos (Carvalho et al., 2010). Devido ao aumento dos impactos causados pelos diversos usos dos recursos hídricos, diferentes tipos de análises e monitoramentos são necessários (Carvalho et al., 2008), empregando-se, muitas vezes, indicadores biológicos específicos, como por exemplo, protozoários e bactérias.

Os coliformes, bastonetes gram-negativos da família Enterobacteraceae, são os indicadores microbianos mais comumente empregados ao estudo de qualidade sanitária da água. Amplamente distribuídos

na natureza, propagam-se com grande facilidade e, por serem bastante comuns nas fezes humanas e de outros animais, de fácil identificação em laboratório e com fisiologia semelhante à de microrganismos patogênicos, é que eles se tornam importantes indicadores.

Alguns gêneros como *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Serratia*, vivem na água, no solo e também constituem parte da flora intestinal do homem, assim como a de outros animais de sangue quente. Vários membros da família Enterobacteriaceae podem causar infecções oportunistas, incluindo septicemia, pneumonia, meningite e infecções do trato genito-urinário. Como exemplo de gêneros que podem causar essas infecções, temos: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Morganella*, *Providencia* e *Serratia*. Em situação normal, os organismos da nossa microbiota intestinal não podem invadir outras partes do organismo, mas podem acontecer infecções oportunistas se o hospedeiro apresentar uma redução temporária de suas defesas imunológicas.

Estudos realizados nos reservatórios da Bacia do Rio Piranhas-Assu apontam que esses ambientes apresentam características eutróficas e eventualmente hipereutróficas, sinalizadas pelas elevadas concentrações de nitrogênio e fósforo total (Eskinazi-Sant'anna et al., 2007; Eskinazi-Sant'anna et al., 2009; Souza et al., 2008). Apresentam ainda dominância de cianobactérias filamentosas, favorecendo a ocorrência de florações tóxicas nos reservatórios (Souza, 2006). Foram determinadas, nesses ambientes, altas densidades de bactérias heterotróficas, se comparadas a outros reservatórios do Nordeste, alcançando em torno de 10^7 organismos por mL de amostra. A variação é significativa entre os períodos seco e chuvoso, resultado da influência do aporte de material alóctone proveniente do solo próximo das margens ou de atividades humanas e pelas elevadas temperaturas (Araújo e Costa, 2007; Sodré-Neto e Araújo, 2008). Um trabalho realizado no reservatório Boqueirão, localizado no município de Parelhas/RN, também abastecido pela Bacia do Rio Piranhas Assú, identificou a presença das bactérias potencialmente patogênicas: *Cedeceae* espécie 5, *Klebsiella planticola*, *Morganella morgani* ssp *morganii*, *Serratia plymuthica* e *Enterobacter sakasakii* (Dantas, 2010).

Nesse contexto, o estudo de microrganismos aquáticos se torna imprescindível para o diagnóstico da qualidade da água que é utilizada para múltiplos fins, pelas populações humanas, neste caso especial, aquelas da região semiárida brasileira. Com base nisto, o objetivo deste trabalho é identificar bactérias patogênicas oportunistas em reservatórios da Bacia do Rio Piranhas-Assú, em trechos dos municípios de Assú, Itajá e São Rafael.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização da Área de Estudo e Procedimentos de Amostragem

A bacia hidrográfica do Rio Piranhas-Assú possui 17.498,50 km² de superfície, distribuídos entre os estados da Paraíba e Rio Grande do Norte. Em território potiguar, está localizada no semiárido, contribuindo com 79% do total de água acumulado. No Estado, são 17 reservatórios, o que representa 49% dos açudes, fornecendo água para consumo humano, lazer e para diversas outras atividades nas comunidades favorecidas pelos açudes. A bacia possui precipitações médias variando entre 400 e 800 mm anuais, concentradas entre os meses de fevereiro a junho (Semarh, 2011). Os pontos de coleta utilizados nesta pesquisa estão situados próximos aos municípios de Assú, Itajá e São Rafael, sendo o primeiro de um ambiente

lótico e os dois últimos de ambientes semilênticos

Os pontos de amostragem (Figura 1) foram determinados de acordo com a proximidade dos municípios de São Rafael, Itajá e Assú, sendo os dois primeiros ambientes semilênticos, situados à montante da Barragem e o último, um sistema lótico, localizado à jusante do reservatório. Todos localizados próximos às margens dos corpos d'água.

As variáveis pH e temperatura foram mensuradas utilizando-se uma sonda multiparamétrica. Para a concentração de clorofila *a*, seguiu-se a metodologia recomendada por Jespersen e Christoffersen (1987). As diferenças significativas entre os dados nos diferentes períodos foram evidenciadas utilizando-se teste-t de Student para variáveis independentes ($p < 0,05$).

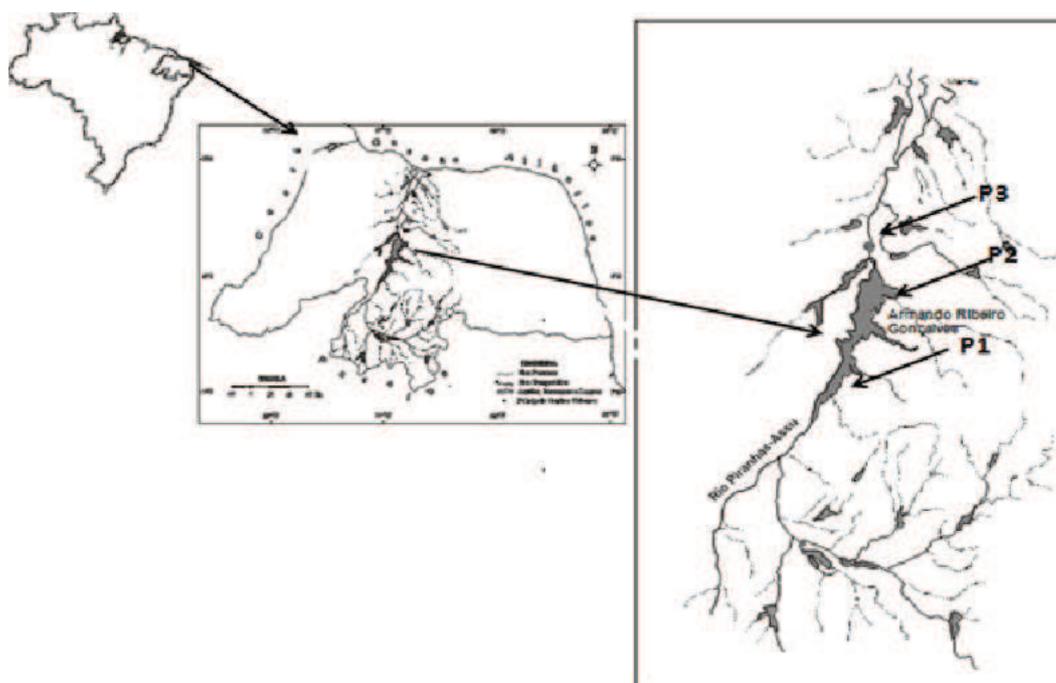


Figura 1. Localização dos pontos de amostragem. P1 – São Rafael (ambiente semilêntico), P2 – Itajá (ambiente semilêntico) e P3 – Assú (ambiente lótico).

As amostras de água para pesquisa de bactérias potencialmente causadoras de doenças de veiculação hídrica foram coletadas no período correspondente a fevereiro de 2009 até novembro de 2010, mensalmente, abrangendo períodos de estiagem e chuva. Foram realizadas na sub-superfície da água, a uma profundidade de no máximo 20cm, em frascos âmbar de 100mL, estéreis. Os frascos com as amostras foram transportados e armazenados sob leve refrigeração até a chegada ao Laboratório de Microbiologia Aquática, na Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). As análises foram iniciadas imediatamente após a chegada ao laboratório.

No laboratório, foi inoculado 1 mL de amostra de cada ponto de coleta em tubos contendo caldo nutriente e 1 mL da amostra em placas de Petri contendo Agar Nutriente, e incubados em estufa bacteriológica por 18-24 horas a 37°C. Todos os tubos ou placas que apresentavam crescimento bacteriano após 18-24h, caracterizado por turvação do meio líquido ou crescimento colonial nas placas, eram transferidos, por meio de inóculo ou repique, para os meios sólidos: Agar nutriente (AN), Agar MacConkey (MC), Agar Salmonella-Shigella (SS), Agar Eosina Azul de Metileno (EAM) e Agar de Tiosulfato, citrato, bÍlis

e sacarose (TCBS), incubados a 37°C por 24-48 horas. Foram selecionadas colônias nos meios sólidos para isolamento, através da técnica de esgotamento, em placas contendo Agar nutriente. As colônias puras foram armazenadas em tubos contendo Agar nutriente inclinado em temperatura ambiente, por 24 horas, e depois armazenadas para posterior identificação. Na etapa inicial de identificação, foi realizada a caracterização morfológica macroscópica das colônias bacterianas, levando-se em conta a forma, elevação, borda, estrutura, cor, tamanho e aspecto, respectivamente.

Para identificação dos isolados, as cepas foram submetidas a testes iniciais de coloração de Gram, prova de oxidase e prova do metabolismo fermentador em meio TSI (Tríplice Açúcar-Ferro). A partir dos resultados obtidos com os testes citados, as cepas foram divididas em dois grupos: bactérias fermentadoras de glicose e bactérias não fermentadoras de glicose. Em seguida, foram aplicadas técnicas microbiológicas clássicas para a identificação bioquímica clássica. Os testes bioquímicos foram realizados com a utilização de dois kits de identificação. Para as bactérias fermentadoras de glicose, foi usado o Painel para Enterobactérias e para as bactérias não fermentadoras de glicose o kit NF II (Probac do Brasil).

RESULTADOS

Os valores médios de pH, temperatura e concentração de clorofila *a*, apresentaram diferenças significativas entre os períodos estudados ($p < 0,05$). As médias do pH de São Rafael, Itajá e Assú para 2009 e 2010, no período seco, foram respectivamente: 8,48, 8,65 e 8,11, e no período chuvoso 8,01, 8,69 e 6,98. Com relação à temperatura obteve-se para os períodos secos e chuvosos, médias de 28,2°C e 29,5°C em São Rafael, 27,9°C e 3,15°C em Itajá e em Assú 30,9°C e 31,9°C respectivamente. A clorofila *a* variou significativamente do ambiente lótico para os ambientes semilênticos. O município de Assú apresentou nos períodos secos média de 15,13 µg/L e chuvosos 12,56 µg/L. Itajá, no período seco, obteve médias de 38,36 µg/L, já nos períodos chuvosos médias de 42,71 µg/L. São Rafael apresentou as médias mais elevadas, com 54,95 µg/L nos períodos secos e 49,14 µg/L nos períodos chuvosos.

Foram obtidos 70 isolados no período estudado. Deste total, foram identificadas nove espécies e definida sua distribuição espaço-temporal. Das espécies identificadas, uma era não fermentadora de glicose, *Acinetobacter lwoffii*, e as demais fermentadoras de glicose.

Houve crescimento bacteriano de todos os isolados em Ágar Nutriente (não seletivo), MacConkey e Agar Eosina Azul de Metileno – EMB (meios diferenciais para isolamento de *Enterobacteriaceae*). No meio SS (Agar *Salmonella-Shigela*) apenas a *Chromobacterium violaceum*, *Citrobacter diversus* e *Serratia* ssp. apresentaram crescimento. No meio TCBS (Agar de Tiosulfato, citrato, bilis e sacarose), utilizado para isolamento de *Vibrio*, não houve crescimento. A técnica de coloração de Gram demonstrou que todos os isolados eram bacilos gram negativos, com reações negativas para o teste da oxidase. No meio teste TSI (ágar tríplice açúcar-ferro), a bactéria *Acinetobacter lwoffii* não foi capaz de fermentar a glicose, sendo o inverso comprovado para as demais (Tabela 1).

Tabela 1. Testes para caracterização inicial dos isolados.

Testes	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>Citrobacter diversus</i>	<i>Enterobacter agglomerans</i>	<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Morganella morganii</i> spp. <i>morganii</i>	<i>Proteus myxofaciens</i>	<i>Proteus penneri</i>	<i>Serratia</i> spp.
Crescimento em NA	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Crescimento em MC	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Crescimento em SS	-	+	+	-	-	-	-	-	+
Crescimento em EMB	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Crescimento em TCBS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coloração de Gram	BG-	BG-	BG-	BG-	BG-	BG-	BG-	BG-	BG-
Oxidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-
*TSI	-	+	+	+	+	+	+	+	+

NA - Agar Nutriente, MC – Agar MacConkey, SS - Agar Salmonella-Shiguelia, EMB - Agar Eosina Azul de Metileno, TCBS - Agar de Tiosulfato, citrato, bÍlis e sacarose. Positivo (+), Negativo (-), BG - bacilo gram negativo.* Positivo (+) – fermentador e Negativo (-) – não fermentador.

Os resultados dos testes bioquímicos para verificação das características diferenciais das bactérias fermentadoras de glicose estão descritos na tabela 2, e os resultados para os testes de identificação das bactérias não fermentadoras de glicose estão expressos na tabela 3.

Tabela 2. Resultados dos testes bioquímicos para bactérias fermentadoras de glicose.

Testes Bioquímicos	<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>Citrobacter diversus</i>	<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Enterobacter agglomerans</i>	<i>Morganella morganii</i> spp. <i>morganii</i>	<i>Proteus myxofaciens</i>	<i>Proteus penneri</i>	<i>Serratia</i> spp.
Indol	-	+	-	-	+	-	-	-
Voges Proskauer	-	+	+	-	-	+	-	+
Citrato	+	+	-	+	+	-	-	+
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-
Uréia	-	+	-	+	+	-	-	-
Lisina	-	-	+	-	-	-	-	+
Arginina	+	-	+	-	-	-	+	-
Ornitina	-	+	+	-	+	-	-	+
Malonato	-	-	-	-	-	-	+	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	-	-	+	-	-	+	-
Sacarose	-	-	-	-	-	-	-	+
Manitol	-	-	-	+	-	-	-	-
Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-
Miosina	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-
Rafinose	-	-	-	-	-	-	-	-
Raminose	-	-	-	-	-	-	+	-
Malonato	-	-	-	-	-	+	-	+
Melobiose	-	-	-	-	-	-	+	-
ONPG	-	-	-	+	-	-	-	+
Esculina	-	+	+	+	-	+	-	+

(+) positivo (-) negativo

Tabela 3. Testes bioquímicos para bactérias não fermentadoras.

<i>Acinetobacter lwoffii</i>	
Testes	Resultado
Oxidase	Negativo
MacConkey	Positivo
Lisina	NUAm
Arginina	NUAm
Glicose com óleo	NUA
Glicose	NUA
Maltose	NUA
Lactose	NUA
Atividade gelatinase	Negativo

NUAm – Não utilização do aminoácido; NUA – Não utilização do açúcar

Acinetobacter lwoffii foi identificada nos três ambientes de coleta no período seco e apenas em Itajá no chuvoso, e a *Chromobacterium violaceum* foi isolada apenas no ambiente lótico, que fica no município de Assu (Tabela 4). Foi registrada a presença de *Morganella morganii* spp. *morganii* no período chuvoso na localidade de São Rafael. *Enterobacter* spp. foi identificada na maioria dos pontos de coleta nos período seco e chuvoso, e a bactéria *Enterobacter agglomerans* foi identificada apenas nos pontos de coleta localizados nos municípios de Assú e Itajá, no ano de 2009. A bactéria *Proteus penneri* foi isolada apenas nos municípios de São Rafael e Assú. As bactérias *Serratia* spp. e *Citrobacter diversus* apareceram no período chuvoso de 2009 em Assú, e a *Proteus myxofasciens* apareceu apenas em período chuvoso em Assú e São Rafael.

Tabela 4. Presença/Ausência das espécies por período e local de coleta.

Espécie	2009						2010					
	Período seco			Período chuvoso			Período seco			Período chuvoso		
	SR	IT	AS	SR	IT	AS	SR	IT	AS	SR	IT	AS
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	X	X	X		X		X	X	X			X
<i>Chromobacterium violaceum</i>			X			X			X			X
<i>Morganella morganii</i> ssp <i>morganii</i>				X								
<i>Enterobacter</i> spp.	X			X	X	X	X				X	X
<i>Enterobacter agglomerans</i>		X			X	X						
<i>Proteus penneri</i>	X		X							X		
<i>Serratia</i> spp.						X						
<i>Citrobacter diversus</i>						X						
<i>Proteus myxofasciens</i>				X								X

SR- São Rafael; IT – Itajá; AS - Assú

DISCUSSÃO

A variedade de microrganismos presentes nos ambientes aquáticos é determinada, dentre outras variáveis, pelas características ambientais como temperatura, pH e clorofila *a*, que interferem na dinâmica dos ecossistemas aquáticos modificando a estrutura e função das comunidades microbianas (Liu e Leff, 2002). Os dados encontrados neste estudo demonstram que os ambientes aquáticos estudados estão eutrofizados, concordando com os resultados de outros trabalhos realizados nos reservatórios do semiárido norte-riograndense que apresentam condições eutróficas e eventualmente hipereutróficas (Costa et al., 2009; Eskinazi-Sant'anna, 2007; Souza, 2008).

Embora as bactérias tenham grande relevância nos ambientes aquáticos, pois são importantes para a decomposição de matéria orgânica e por sua participação nos ciclos biogeoquímicos, algumas espécies são patogênicas, podendo ser a causa de doenças, às vezes, de difícil cura e tratamento. Neste estudo, verificou-se a ocorrência de bactérias potencialmente patogênicas em todos os locais de amostragem, sendo a maioria enterobactérias, possivelmente provenientes do escoamento da água da bacia. Isso pode ser suposto pelo fato de que alguns gêneros como *Morganella* e *Serratia* tenham ocorrido apenas no período chuvoso, em alguns pontos de coleta.

Acinetobacter spp. são pertencentes ao filo Proteobacteria, comuns na natureza, e podem ser obtidas a partir da água, solo, organismos vivos e até mesmo de peles humanas. De acordo com Towner (1997), ganharam reconhecimento nos últimos anos como patógenos que têm o potencial de causar graves infecções nosocomiais em pacientes clinicamente doentes. Por outro lado, espécies de *Acinetobacter* têm atraído cada vez mais atenção em aplicações ambientais e biotecnológicas (Vanbroekhoven et al., 2004). Algumas cepas deste gênero são conhecidas por estarem envolvidas na biodegradação de um número de diferentes compostos químicos orgânicos e inorgânicos poluentes, tais como bifenilos clorados e bifenil, aminoácidos, fenol, óleo, benzoato de crude, acetonitrila, degradação de lignina (Buchan et al., 2001) e na remoção de fosfatos biológicos ou metais pesados (Francisco et al., 2002). *Acinetobacter lwoffii* foi identificada em todos os locais de estudo, especialmente nos períodos de estiagem, e é uma das principais bactérias responsáveis pela meningite.

Chromobacterium violaceum foi identificada apenas em Assú, ambiente lótico, tanto na estação seca como chuvosa, embora possua capacidade de resistir a uma ampla variedade de condições severas, incluindo escassez de nutrientes, altas temperaturas, próximas de 37°C, altos níveis de radiação, pH e elevadas concentrações de agentes tóxicos (Brazilian National Genoma Project Consortium, 2003). No Brasil, há publicações iniciais sobre sua ocorrência nas águas do Rio Negro, na região amazônica, norte do país, onde ocorre em grande abundância (Barreto et al., 2008; Martins et al., 2008). Mas, sabe-se também de sua ocorrência, em rios no sudeste do país (Martinez et al., 2000; Nardi et al., 2001); no sul (Lira et al., 2006) e na região nordeste brasileira (Antunes et al., 2006; Dias et al., 2005; Siqueira et al., 2005). É classificada como Beta-proteobactéria, pertencente à família Neisseriaceae e encontrada em uma variedade de ecossistemas nas regiões de clima tropical e subtropical, habitando normalmente o solo e a água (Garrity et al., 2001). Produz um pigmento violeta, a violaceína, que possui muitas atividades biológicas de interesse, podendo atuar contra determinados parasitas como o *Tripanosoma cruzi*, responsável pela doença de Chagas, (Dessaux et al., 2004) e protozoários do gênero *Leishmania* (Leon, 2001 e Lopes et al., 2009). Apresenta também atividade antitumoral, sendo efetiva em culturas de células de algumas leucemias, linfomas e tumores de cólon e pulmão (Lopes et al., 2009), além de linfomas relacionados à

AIDS (Durán e Menck, 2001). A violaceína também apresenta atividade antifúngica em plantas (Shirata et al., 2000) e atividade anti-viral (Andrighetti-Fröhmer, 2003). *Chromobacterium violaceum* apresenta também atividade antibiótica (Antunes et al., 2006) e a produção de polihidroxicanoatos (PHA) é outra característica importante observada em suas culturas. Em humanos, pode atuar como patógeno oportunista e causar septicemia fatal de lesões na pele com abscessos no fígado e pulmão (Shao et al., 2002). Outros relatos associados a *C. violaceum* são a granulomatose crônica, a adenite, a osteomielite, a celulite periorbital e a infecção ocular (Chattopadhyay, 2002).

Neste trabalho, as enterobactérias estiveram representadas em todos os ambientes de estudo. A família Enterobacteriaceae é encontrada no solo, água, plantas e nos animais, incluindo o homem. São responsáveis por cerca de 50% das infecções nosocomiais, sendo as mais frequentes causadas por *Escherichia* (Holt et al., 1994) e a sua maioria habita os intestinos do homem e animais, seja como membros da microbiota normal ou como agentes infecciosos (Trabulsi e Campos, 2002). O grupo inclui os gêneros *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* e *Yersinia*. Resultados semelhantes a estes foram encontrados por Borges e Bertolin (2002) e por Dantas (2010). O primeiro foi realizado em Tocantins/Brasil, para avaliação da qualidade microbiológica da água no Córrego São João, que atribuiu a predominância desses microrganismos no ambiente aquático ao carregamento de solo contaminado; e o segundo realizou a caracterização morfofototintorial e bioquímica de bactérias potencialmente patogênicas em um reservatório da região semiárida do Rio Grande do Norte, obtendo 37,5% dos isolados bacterianos com características de enterobactérias.

As espécies *Morganella morganii ssp morganii*, *Enterobacter spp*, *Enterobacter agglomerans*, *Proteus penneri*, *Serratia spp*, *Citrobacter diversus* e *Proteus myxofasciens* foram identificadas nas amostras de água. Essas enterobactérias são patogênicas oportunistas e podem causar infecções, podendo aumentar os casos de doenças gastrointestinais, ocasionalmente. Sua entrada na água deve se dar pela descarga de esgotos, ou escoamento de materiais da Bacia Hidrográfica. De outra forma, a redução da lâmina d'água nos períodos chuvosos também pode concentrar a matéria orgânica e favorecer o crescimento acentuado de outras espécies, como é o caso de *Citrobacter diversus*, que só ocorreu em período seco, no Rio Assú.

Os microrganismos identificados são comumente encontrados no ambiente e no trato intestinal de seres humanos e animais de sangue quente. Rodrigues et al. (2009), avaliando a qualidade da água do Rio Piracuama/SP, identificaram as seguintes Enterobactérias: *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella ozaenae*, *Edwardsiella tarda*, *Shigella sp.*, *Morganella morgani*, *Hafnia alvei*, *Salmonella sp.* e *Citrobacter (diversus koseri)*. Já Goni-Urriza et al. (2000) verificaram a biodiversidade e distribuição de Enterobactérias no Lago Baikal, encontrando ali *Escherichia coli*, *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Klyvera sp.*, *Citrobacter sp.*, *Serratia sp.*, *Proteus sp.* e *Yersinia frederikeni*. Os dois estudos apontam que a presença desses microrganismos está associada com a carga antrópica depositada nos ambientes aquáticos.

Apesar de sua ampla distribuição, *Morganella morganii* é uma causa rara de infecção adquirida e é mais frequentemente encontrada de casos de pós-operatório, causando infecções do trato urinário, septicemia, pneumonia, infecções do sistema nervoso central, meningite e outras infecções nosocomiais, podendo causar até a morte (Miller e Emmons, 2009). As espécies de *Enterobacter* ocorrem na água, solo e plantas podendo colonizar o trato gastrointestinal. Raramente estão implicadas nas infecções primárias e são colonizadoras importantes em pacientes hospitalizados, podendo causar doenças invasivas (Vermelho et al., 2007). Estão associadas a infecções respiratórias, de pele, trato urinário, ossos, articulações, sistema

nervoso central e trato gastrointestinal. Possuem elevadas taxas de co-infecções com outros patógenos, predominantemente em infecções de fígado e pulmão. *E. agglomerans* não é uma causa tão frequente de infecções hospitalares, e está associada com fontes exógenas. Geralmente apresentam associações com plantas, sendo bastante comuns em infecções em algodão (Sanders e Sanders, 1997).

Os membros do gênero *Proteus* estão relacionados a infecções em feridas difíceis de tratar, em especial feridas de indivíduos diabéticos, em associação a *E. coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia marcescens*. Infecções com *Proteus penneri* são frequentes nos rins e eliminados na urina, feridas no abdômen, virilha e tornozelo (Mordi e Momoh, 2009), sendo a segunda Enterobactéria mais isolada em laboratórios. *Proteus penneri* coloniza e infecta o sistema urinário e é facilmente isolado de indivíduos que têm longa permanência em hospitais e de pacientes com doenças subjacentes ou sistemas imunológicos comprometidos (Vermelho et al., 2007). Em hospitais, geralmente são isolados em pacientes com diarreia, sendo associados a casos de bacteremia e de formação de pedras nos rins, devido à enzima urease (O'hara et al., 2000). *Proteus myxofasciens* é patógeno oportunista, e agente de diferentes infecções. O gênero *Serratia* é natural do solo e água doce. Pode infectar ferimentos e ser a causa de infecções do sistema urinário e respiratório, sepsia em acessos intravenosos e septicemia (Vermelho et al., 2007).

Os membros do gênero *Citrobacter* são isolados com frequência de indivíduos doentes como um patógeno oportunista ou secundário além de serem encontrados no solo, água, esgoto e alimentos. Alguns sorotipos de *C. diversus* podem ser enteropatogênicos, causando diarreia (Holt et al., 1994), podendo provocar septicemia em pacientes hospitalizados, meningite bacteriana, abscesso cerebral e endocardite (Vermelho et al., 2007). O fato de essas bactérias serem frequentes em ambientes aquáticos pode favorecer a possibilidade de ocorrência de doenças entéricas, ou outras infecções nesses locais, posto que a população os utiliza para diversos usos. Ainda que em situações normais isso geralmente não ocorra, os casos citados na literatura de doenças oportunistas causadas pelas espécies encontradas neste trabalho tornam necessário o seu controle e acompanhamento.

CONCLUSÕES

O maior percentual de isolados (78%) apresentou características morfológicas e bioquímicas de enterobactérias. Dentre as espécies encontradas, *Citrobacter diversus*, *Enterobacter agglomerans*, *Morganella morganii ssp morganii*, *Enterobacter* spp., *Proteus myxofasciens*, *Proteus penneri* e *Serratia* spp. são espécies patogênicas oportunistas, podendo causar doenças em pessoas com situação de baixa imunidade. Espécies de interesse biotecnológico e ambiental como *Chromobacterium violaceum* e *Acinetobacter lwoffii* também foram identificadas, levantando a possibilidade de estudos futuros que envolvam o uso e aplicação dessas espécies em atividades dessa natureza.

De modo geral, os resultados sugerem a necessidade de uma vigilância da qualidade bacteriológica da água utilizada na região estudada e o desenvolvimento de ações em educação ambiental e educação em saúde para a divulgação dos problemas potenciais que podem ocorrer advindos desse fato. As possíveis fontes poluidoras devem ser identificadas e controladas, resultando na melhoria da vida da população que vive próxima aos ambientes estudados.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, E. M. et al. 2009. Impacto da lixiviação de nitrato e cloreto no lençol freático sob condições de cultivo irrigado. **Ciência Rural**, **39**(1):88-95.
- ANDRIGHETTI-FRÖHMER, C. R. 2003. **Avaliação da citotoxicidade, da genotoxicidade e da potencial atividade antiviral da violaceína, produzida pela *Chromobacterium violaceum***. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade Federal de Santa Catarina, 135p.
- ANTUNES, A. A. et al. 2006. Characterization of *Chromobacterium violaceum* isolated from Paca River, Pernambuco, Brasil. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, **1**:48-53.
- ARAÚJO, M. F. F.; COSTA, I. A. S. 2007. Comunidades microbianas em reservatórios do semi-árido brasileiro. **Oecologia Brasiliensis**, **11**(3):422-432.
- BARRETO et al. 2008. Diversity in antifungal activity of strains of *Chromobacterium violaceum* from the Brazilian Amazon. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol**, **35**(7):783–790.
- BEZERRA-JÚNIOR, J. G. O.; SILVA, N. M. 2007. Caracterização geoambiental da microrregião do Seridó Oriental do Rio Grande do Norte. **Holos**, **23**(2):78-91.
- BORGES, K. P.; BERTOLIN, A. O. 2002. Avaliação microbiológica da qualidade da água do córrego São João, Porto Nacional – TO, Brasil. **Holos Environment**, (2):174-184.
- BUCHAN, A.; NEIDLE, E. L.; MORAN, M. A. 2001. Diversity of the ring-cleaving dioxygenase gene *pcaH* in a salt marsh bacterial community. **Appl. Environ. Microbiol.**, **67**:5801-5809.
- BRAZILIAN NATIONAL GENOMA PROJECT CONSORTIUM. 2003. The complete genome sequence of *Chromobacterium violaceum* reveals remarkable and exploitable bacterial adaptability. **PNAS**, **100**(20):11660-11665.
- CARVALHO, et al. 2008. Aspectos qualitativos da água do açude de Bodocongó em Campina Grande – PB. **Engenharia Ambiental**, **5**(2):94-109.
- CARVALHO, A. P.; MORAES-NETO, J. M.; LIMA, V. L. A. 2010. Avaliação do índice de balneabilidade a partir de indicadores biológicos do açude Soledade em Soledade, Paraíba, Brasil. **Engenharia Ambiental**, **7**(2):263-273.
- CHATTOPADHYAY, A. et al. 2002. *Chromobacterium violaceum* infection: a rare but frequently fatal disease. **J. Pediatr. Surg.**, **37**:108–111.
- CBH PIRANHAS-ASSU. Comitê de Bacias Hidrográficas – Piranhas-Açu. Disponível em: <http://www.piranhasacu.cbh.gov.br/A_bacia.aspx>. Acesso em: 21 ago. 2011.
- COSTA, I.A. S. et al. 2006. Occurrence of toxin-producing cyanobacteria blooms in a brazilian semiarid reservoir. **Brazilian Journal of Biology**, **66**(B):211-219.
- COSTA, I. A. S. et al. 2009. Dinâmica de cianobactérias em reservatórios eutróficos do semi-árido do Rio Grande do Norte. **Oecol. Bras.**, **13**(2):382-401.
- DANTAS, C. M. 2010. **Ocorrência de bactérias potenciais causadoras de doenças de veiculação hídrica em um açude de região Semi-Árida**. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) -

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 55p.

DESSAUX, Y.; ELMERICH, C.; FAURE, D. 2004. Violacein: a molecule of biological interest originating from the soil-borne bacterium *Chromobacterium violaceum*. **Rev. Med. Intern.**, **25**:659-662.

DIAS J. P. et al. 2005. Chromobacteriosis in Ilhéus, Bahia: epidemiologic, clinical and laboratorial investigation. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, **38**:503-506.

DURÁN, N.; MENCK, C. F. M. 2001. *Chromobacterium violaceum*: a review of pharmacological and industrial perspectives. **Critical Reviews in Microbiol.**, **27**:201-222.

ESKINAZI-SANT'ANNA, E. M. 2009. Dinâmica de cianobactérias em reservatórios eutróficos do semi-árido do Rio Grande do Norte. **Oecol. Bras.**, **13**(2):382-401.

ESKINAZI-SANT'ANNA, E. M. et al. 2007. Composição da comunidade zooplanctônica em reservatórios eutróficos do semi-árido do Rio Grande do Norte. **Oecol. Bras.**, **11**(3):410-421.

FRANCISCO, R.; ALPOIM, M. C., MORAIS, P. V. 2002. Diversity of chromium-resistant and -reducing bacteria in a chromium-contaminated activated sludge. **J. Appl. Microbiol.**, **92**:837-43.

FREITAS, A. M.; SIRTORI, C.; ZAMORA, P. G. P. 2008. Avaliação do potencial de processos oxidativos avançados para remediação de águas contaminadas com geosmina e 2-mib. **Quim. Nova**, **31**(1):75-78.

GARRITY, G. M., WINTERS, M.; SEARLES, D. B. 2001. **Taxonomic outline of the prokaryotic genera**. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2. ed. New York: Springer-Verlag, 39p.

GOÑI-URRIZA et al. 2000. Impact of an urban effluent on antibiotic resistance of riverine Enterobacteriaceae and Aeromonas spp. **Appl Environ Microbiol**, **66**(1):125-32.

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

JESPERSEN, A. M.; CHRISTOFFERSEN, K. 1987. Measurements of chlorophyll-a from phytoplankton using ethanol as extraction solvent. **Arch. Hydrobiol.**, **109**(3):445-454.

LAZARRO, X. et al. 2003. Do fish regulate phytoplankton in shallow eutrophic Northeast Brazilian reservoirs? **Freshwater Biology**, **48**:649-668.

LEON, L. L. et al. 2001. Antileishmanial activity of the violacein extracted from *Chromobacterium violaceum*. **J. Antimicrob. Chemother.**, **48**:449-450.

LOPES, S. C. P. et al. 2009. Violacein extracted from *Chromobacterium violaceum* inhibits *Plasmodium* growth in vitro and in vivo. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, **53**:2149-2152.

LIRA, V. et al. 2006. Caracterização de linhagens de *Chromobacterium* isoladas de rios de Santa Catarina quanto à amplificação de genes de resistência a metais pesados. In: 52º CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA E 12º CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE GENÉTICA, 2006, Foz do Iguaçu, PR.

LIU, J.; LEFF, L. G. 2002. Temporal changes in the bacterioplankton of a northeast Ohio (USA) river. **Hydrobiologia**, **489**(1-3):151-159.

- MARTINEZ R. et al. 2000. *Chromobacterium violaceum* infection in Brazil. A case report. **Rev. Inst. Med. Trop.**, **42**(2):111-113.
- MARTINS, R. N. et al. 2008. Diversity of *Chromobacterium violaceum* isolates from aquatic environments of state of Pará, Brazilian Amazon. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, **103**(7):678-682.
- MILLER, J. R.; EMMONS, W. W. Morganella infections. Disponível em: <<http://www.emedicine.com/med/topic1502htm>>. Acesso em: 28 mar. 2009.
- MORDI, R. M.; MOMOH, M. I. 2009. Incidence of *Proteus* species in wound infections and their sensitivity pattern in the University of Benin Teaching Hospital. **African Journal of Biotechnology**, **8**(5):725-730.
- NARDI, R. M. et al. 2001. Isolamento de *Chromobacterium violaceum* em riachos de altitude no Parque Nacional da Serra do Cipó-MG, ao longo de um gradiente longitudinal. In: XXI CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2001, Foz do Iguaçu - PR, p. 18.
- PANOSSO, R. F. et al. 2007. Ocorrência de cianobactérias e cianotoxinas em reservatórios do semi-árido potiguar, e o potencial controle das florações pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Oecologia Brasiliensis**, **11**:433-449.
- RODRIGUES, J. R. D. D.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. 2009. Avaliação da qualidade das águas de duas áreas utilizadas para recreação do rio Piracuama-SP. **Revista Biociências**, **15**(2):88-94.
- SANDERS JR., W. E.; SANDERS, C. C. 1997. *Enterobacter* spp.: pathogens poised to flourish at the turn of the century. **Clinical Microbiology Reviews**, **10**(2):220-241.
- SEMARH, Secretaria de Estado do Meio Ambiente e dos Recursos Hídricos. Disponível em: <<http://www.semarh.rn.gov.br>>. Acesso em: 07 ago. 2011.
- SHAO, P. L. et al. 2002. *Chromobacterium violaceum* infection in children: a case of fatal septicemia with nasopharyngeal abscess sand literature review. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, **21**:707-709.
- SHIRATA, A. et al. 2000. Isolation of bacteria producing bluish-purple pigment and use for dyeing. **Japan Agric. Res. Quart.**, **34**:131-140.
- SILVA, R. M. A. 2003. Entre dois paradigmas: combate à seca e convivência com o semi-árido. **Sociedade e Estado**, **18**(1/2):361-385.
- SIQUEIRAI. C. et al. 2005. *Chromobacterium violaceum* in Siblings, Brazil. **Emerg. Infect Dis.**, **11**:1443-1445.
- SODRÉ-NETO, L.; ARAÚJO, M. F. F. 2008. Spatial and temporal fluctuations in bacterioplankton and correlated abiotic variables in eutrophic environments of the Brazilian semi-arid region. **Acta Limnologica Brasiliensia**, **20**(4):325-331.
- SOARES, N. S. C. et al. 2001. Distribuição espaço temporal de bactérias indicadoras de contaminação e vírus num riacho do Trópico do Semiárido. In: 21º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 2001, João Pessoa – PB, p.1-10.
- SOUSA, W. et al. 2008. The response of zooplankton assemblages to variations in the water quality of four man-made lakes in semi-arid northeastern Brazil. **Journal of Plankton Research**, **30**(6): 699-708.

- TOWNER, K. J. 1997. Clinical importance and antibiotic resistance of *Acinetobacter* spp. **J. Med. Microbiol.**, **46**:721–746.
- TRABULSI, L. R.; CAMPOS, L. C. 2002. Generalidades sobre enterobactérias. In: L. R. Trabulsi et al. **Microbiologia**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, p. 207-213.
- VANBROEKHOVEN, K. et al. 2004. *Acinetobacter* diversity in environmental samples assessed by 16S rRNA gene PCR–DGGE fingerprinting. **FEMS, Microbiology Ecology**, **50**:37–50.
- VERMELHO, A. B.; BASTOS, M. C. F.; BRANQUINHA, M. H. S. 2007. **Bacteriologia Geral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 582p.