

Pesquisa de Microrganismos Resistentes aos Metais Pesados e de Mecanismo de Co-resistência e

Resistência Cruzada aos Antimicrobianos na Baía de Guanabara

Lanna, A. S. R., Gonçalves-Brito, A.S., Bianco, K., Clementino M.M.
Setor de Arqueas, Laboratório de Microrganismos de Referência
maysa.mandetta@incqs.fiocruz.br

INTRODUÇÃO

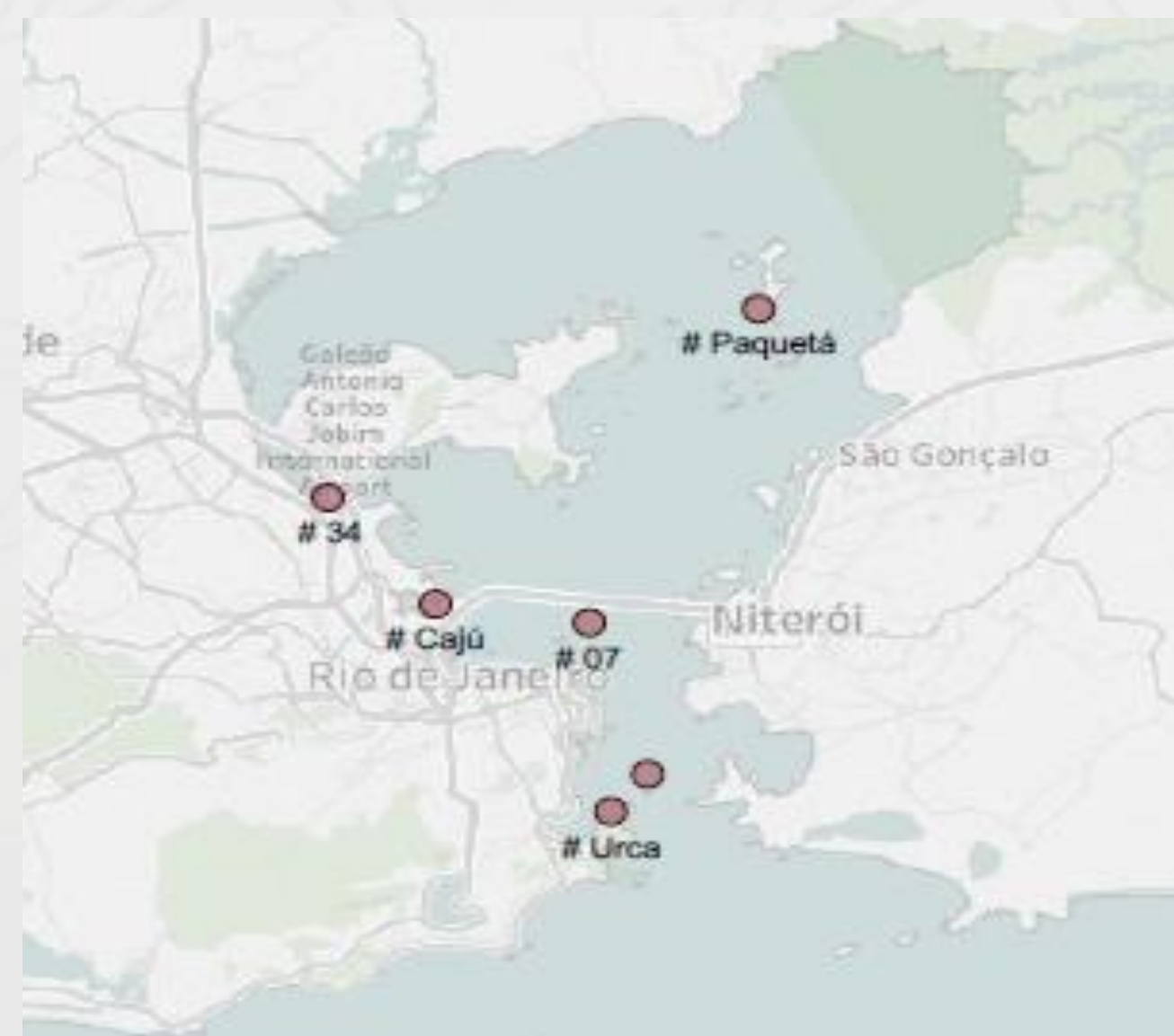
Cerca de 70% do planeta é coberto por água, embora a distribuição pelos continentes não seja igualitária. A América possui a maior cobertura (39,6%), abrigando o Brasil, país com maior disponibilidade hídrica do mundo, com cerca de 12%. Com o crescimento agrícola e industrial, o ambiente aquático se tornou um dos mais ameaçados pela poluição. O lançamento de poluentes cresce de modo gradual e gera contaminação dos recursos hídricos por metais pesados e fármacos, por exemplo. Uma vez no ambiente aquático, esses poluentes podem gerar pressão seletiva e promover a transferência horizontal de genes favorecendo a disseminação da resistência aos antimicrobianos.

Os metais pesados representam uma pressão seletiva de longa data, generalizada e recalcitrante com importância tanto ambiental como clínica que, por seleção indireta, contribui para a manutenção e disseminação de fatores de resistência aos antimicrobianos. O objetivo deste estudo é avaliar os mecanismos de co-seleção frente à presença de zinco e níquel em recursos hídricos destinados a recreação no Rio de Janeiro (Baía de Guanabara). Será realizado o isolamento em meios acrescidos desses metais e os isolados serão avaliados quanto à tolerância aos metais pesados. O perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos dos isolados considerados sensíveis a todos os antimicrobianos será novamente avaliado na presença de níquel e zinco. Para avaliar a alteração da atividade de efluxo dos isolados frente a esses metais, será utilizado o brometo de etídio como substrato indefinido para bombas de efluxo. Nossos resultados poderão contribuir para incentivar discussões a respeito do aprimoramento de políticas ambientais mais eficazes, em relação ao saneamento básico e o monitoramento da qualidade dessas águas.

OBJETIVO

Pesquisar a presença de microrganismos tolerantes aos metais pesados e analisar a influência dos metais nos mecanismos de co-resistência e resistência cruzada aos antimicrobianos na Baía de Guanabara.

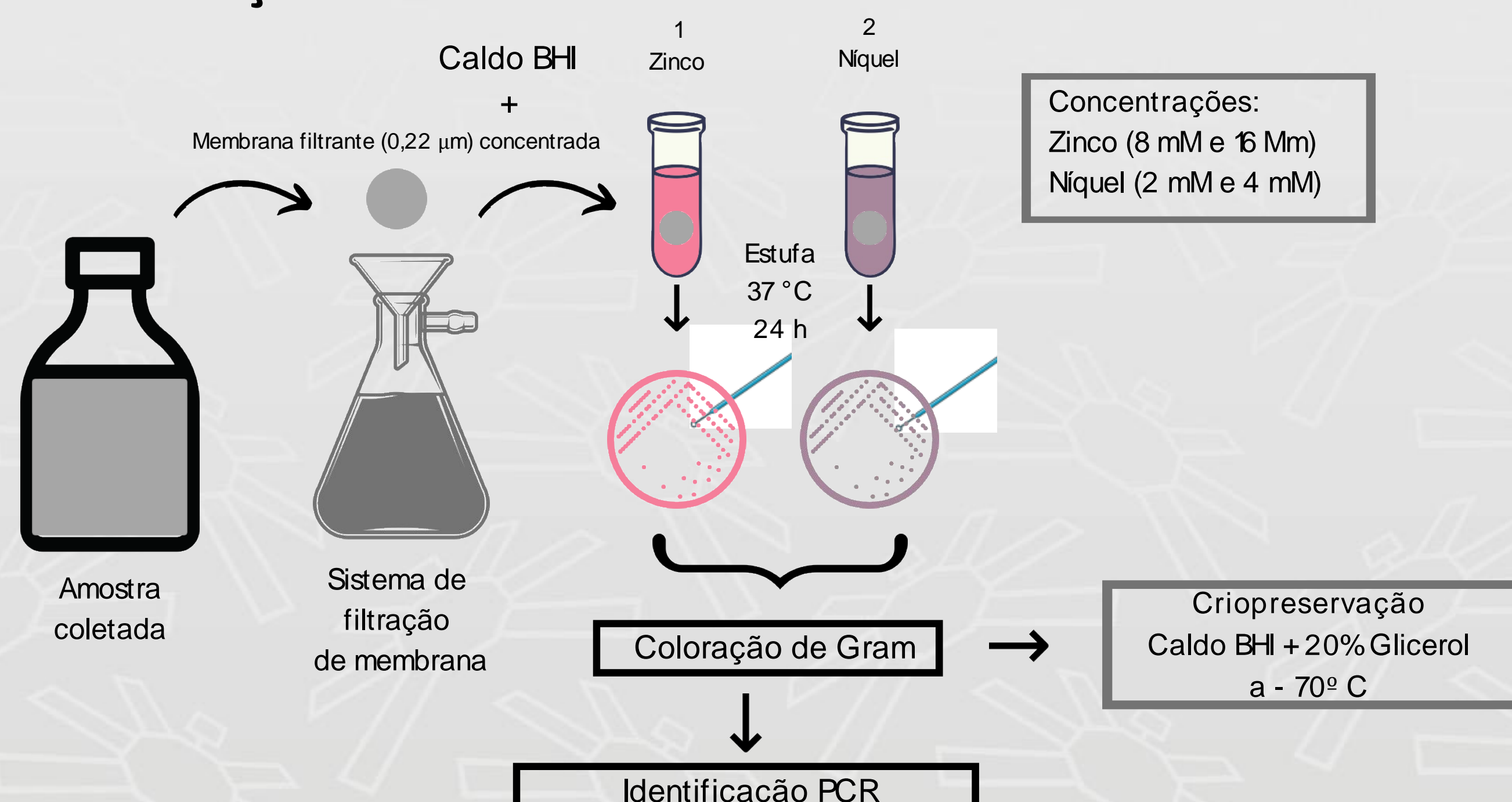
Local de estudo e coleta das amostras



- 01
- 07
- 34
- Cajú
- Paquetá
- Urca

(Localização dos pontos da coleta na Baía de Guanabara)

Concentração das amostras e isolamento



MATERIAIS E MÉTODOS

Identificação molecular dos isolados

Para a identificação, os isolados suspeitos de *Pseudomonas* spp. serão submetidos a extração de DNA por fervura e o fragmento específico do gene *rrs* do 16S rRNA deste gênero será amplificado pela PCR.

Determinação do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos

A susceptibilidade aos antimicrobianos foi determinada através da técnica de disco-difusão (método de Kirby-Bauer), segundo os critérios estabelecidos pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST, 2022).

Os isolados serão classificados non-MDR (non Multidrug-resistant), MDR (Multidrug-resistant), XDR (Extensively drug-resistant) ou PDR (Pandrug-resistant).

Avaliação dos efeitos da presença de metais pesados no perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos

O perfil dos isolados susceptíveis a todos os antimicrobianos será novamente avaliado, desta vez, na presença de níquel (1,0 e 2,0 mM) e zinco (2,0 e 4,0 mM) com a finalidade de avaliar o efeito destes metais no perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos.

Avaliação da atividade de efluxo induzida pelos metais pesados

O método Cartwheel permite a detecção da atividade de efluxo, utilizando o Brometo de Etídio (EtBr) como substrato inespecífico de bombas de efluxo. Quanto maior for a concentração de EtBr necessária para produzir fluorescência bacteriana num determinado isolado, maior será a atividade de efluxo do mesmo (M. Martins et al., 2011, 2013).

RESULTADOS PRELIMINARES

Até o momento foram analisadas 14 amostras, 8 foram confirmadas como *Pseudomonas* spp.

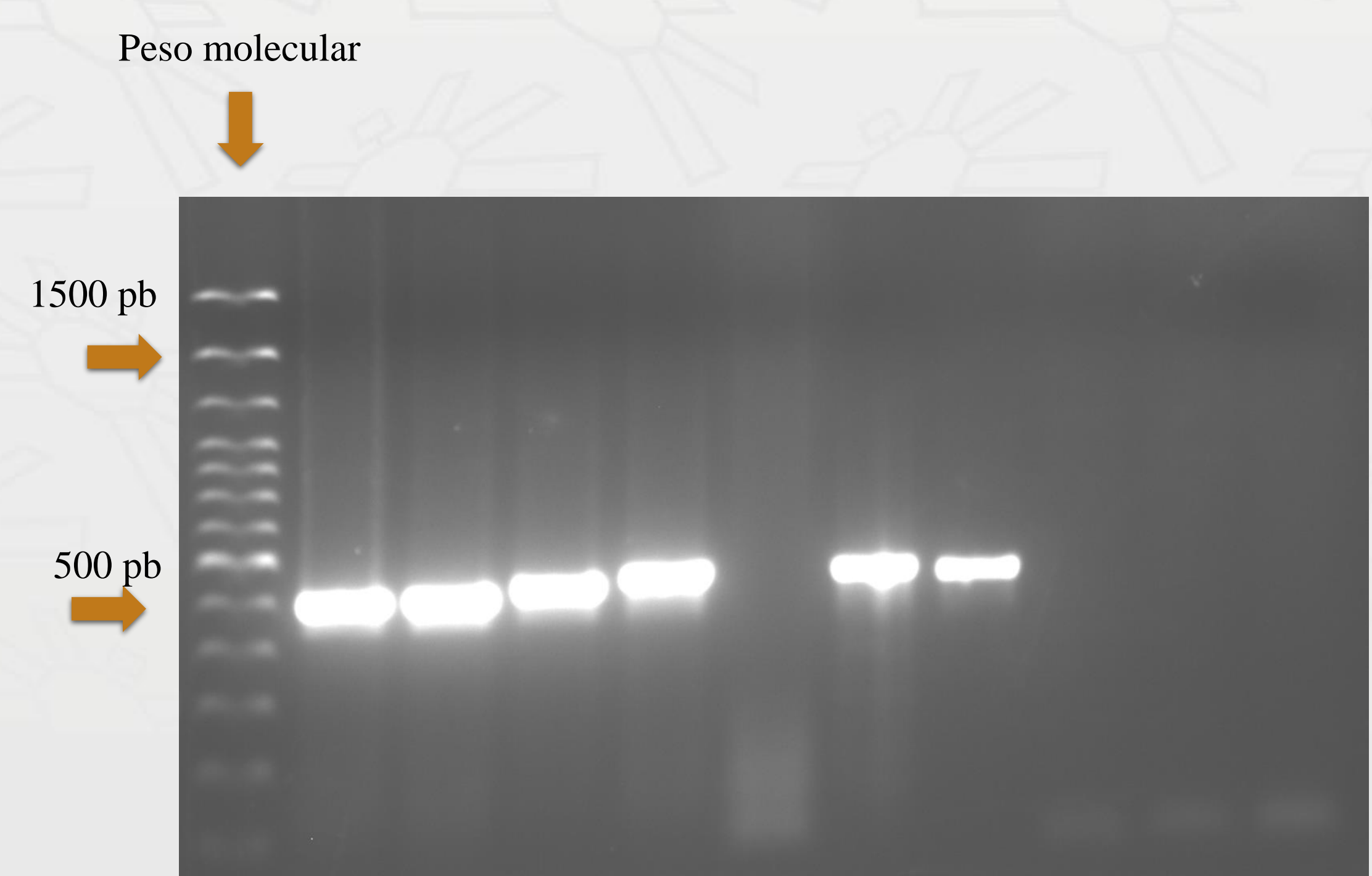


Figura 1. Gel da PCR representativo: linha 1 – isolado 5914; linha 2 – isolado 5928; linha 3 – isolado 5951; linha 4 – isolado 5952; linha 5 – isolado 5959; linha 6 – isolado 6282; linha 7 – *Pseudomonas aeruginosa* CBRVS 099; linha 8 – *Escherichia coli* CBRVS 325; Linha 9 – H₂O

PERSPECTIVAS

Após a identificação de todas as cepas, será realizado o antibiograma, análise da influência de metais na resistência aos antimicrobianos e estabelecimento do perfil gênico de resistência aos metais pesados. Os resultados obtidos poderão fornecer uma melhor avaliação da influência de metais pesados na disseminação e persistência do resistoma na Baía de Guanabara.