UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE BIOCIÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

KAROLAYNE SILVA SOUZA

# VIGILÂNCIA AMBIENTAL, POR MEIO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DE UM RIACHO URBANO IMPACTADO EM RECIFE-PE, BRASIL

Recife-PE,

2021

KAROLAYNE SILVA SOUZA

# VIGILÂNCIA AMBIENTAL, POR MEIO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DE UM RIACHO URBANO IMPACTADO EM RECIFE-PE, BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Meio Ambiente

Orientadora: Dra. Maria Betânia Melo de Oliveira

Co-orientadora: Dra. Livia Caroline Alexandre de Araújo

Recife-PE,

2021

Catalogação na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB4/1788

Souza, Karolayne Silva
Vigilância ambiental, por meio de parâmetros físico-químicos e microbiológicos de um riacho urbano impactado em Recife-PE, Brasil / Karolayne Silva Souza. – 2021.

108 f. : il.

Orientadora: Dra. Maria Betânia Melo de Oliveira.
Coorientadora: Dra. Livia Caroline Alexandre de Araújo.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológic, Recife, 2021.
Inclui referências.

1. Água - Poluição. 2. Saúde ambiental. 3. Águas residuais nos rios, lagos, etc. I. Oliveira, Maria Betânia Melo (orientadora). II. Araújo, Livia Caroline Alexandre de (coorientadora). III. Título.

577.6 CDD (22.ed.) UFPE/CB – 2022-134

KAROLAYNE SILVA SOUZA

**VIGILÂNCIA AMBIENTAL, POR MEIO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DE UM RIACHO URBANO IMPACTADO EM RECIFE-PE, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre/doutor em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 03/12/2021

**BANCA EXAMINADORA**

_____

Profª. Dra. Maria Betânia Melo de Oliveira (Presidente da banca)

Universidade Federal de Pernambuco

_____

Profª. Dra. Patricia Maria Guedes Paiva (Examinadora Interna)

Universidade Federal de Pernambuco

_____

Profª. Dra. Kátia Cilene da Silva Felix (Examinadora Externa)

Centro Universitário do Rio São Francisco

Dedico este trabalho a Deus por me conceder forças nessa caminhada, à minha família, amigos e professores que auxiliaram na conclusão dessa dissertação.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me conduzir em mais uma etapa da vida, sendo um autor essencial em minha vida, permitindo minha saúde e forças para superação nas dificuldades eminentes. Me ausento de palavras que possa emergir na retribuição pela perseverança que tem me proporcionado durante toda minha vida e por seu amor incondicional em meu sustento nas adversidades.

À minha família, mais precisamente a minha mãe Kátia Maria Silva Souza, a meu pai Deusdete Bezerra de Souza, a minha avó Julizete Maria Santos de Melo, as minhas tias Katiana Pereira da Silva e Maria José, e ao meu tio Cícero Bezerra Mota Ferreira, pela qual, não estimaram esforços para que eu concluísse mais uma fase da vida. A estes, meu total agradecimento pelo apoio e incentivo, que serviram de alicerces para minhas realizações e estando sempre presentes em minhas conquistas e momentos difíceis com palavras de motivação.

Agradeço a minha amiga Milena Roberta Freire da Silva, que me acompanhou nessa caminhada. Serei sempre grata aos momentos de amizade, felicidades e companherismo, os quais me incentivaram e me apoiaram em momentos desafiantes que tive que enfrentar, além da sua família que também foi fundamental para esse suporte. Agradeço a Deus sempre por essa amizade.

A minha orientadora Dra. Maria Betânia, que se fez sempre presente para sanar dúvidas e auxiliar em todo o processo do mestrado. Esta que me depositou confiança e me motivou durante toda a pesquisa e escrita desse trabalho, o meu muito obrigada!

Agradeço a minha co-orientadora Dra. Lívia Caroline, que também me ajudou e me deu todo o suporte durante o mestrado. Obrigada pela confiança e dedicação que foi de suma importância para essa caminhada de formação.

Agradeço também aos professores Kátia Felix, Kaline Catiely e Ilton Palmeira, que desde a graduação me auxiliaram em todo o suporte até aqui, essa caminhada não seria possível sem vocês. Sou muito grata por toda a confiança depositada.

A Bruno Veras, Rodrigo Reges, Caio e Isac pela ajuda e contribuição na execução desse trabalho durante o mestrado.

Agradeço aos componentes do Laboratório de Biologia Molecular( BioMol) do Departamento de Bioquímica da UFPE por compartilhar conhecimentos.

Agradeço, também, aos parceiros do Laboratório de Microbilogia do Instituto

Aggeu Magalhães\Fiocruz, Recife, e ao Laboratório de Biologia Molecular e Tecnologia Ambiental (LABIOTA) do Centro de Tecnologia e Geociência (CTG-UFPE) por todo auxílio na execução das análises.

Por fim, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pelo suporte financeiro para a realização desse trabalho.

“Os nossos maiores problemas não estão nos obstáculos do caminho, mas na escolha da direção errada.”

Augusto Cury

## RESUMO

O Riacho Cavouco é um afluente de uma das principais bacias hidrográficas do estado de Pernambuco. Estudos anteriores mostram que este ambiente vem sofrendo impactos de origem antrópica, os quais tem contribuído para mudanças expressivas na qualidade da água e propagação de microrganismos. O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo de vigilância no Riacho Cavouco por meio de dados atuais e retrospectivos das condições ambientais deste ecossistema, além de realizar uma análise da literatura, afim de gerar artigos de revisão relacionados ao tema. Para o aporte de dados atuais foi obtido coleta de água em pontos específicos do “Cavouco”. A determinação dos parâmetros físico-químicos e metais foram efetuadas por meio de equipamentos e kits específicos. Já a detecção de contaminantes emergentes foi realizada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência e a análise da microbiota foi realizada por parâmetros morfológicos e moleculares (MALDI-TOF-MS e sequenciamento do gene *16S rRNA*); além de parâmetros parasitológicos. Os resultados apontaram que a maioria dos pontos investigados estavam em não conformidade com a Resolução nº 357/2005 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), principalmente os metais investigados, os quais estavam presentes em todos os pontos, com o Alumínio (Al) e o Ferro (Fe) apresentando valores acima dos limítrofes estabelecidos pela legislação. Os demais contaminantes (anilina, ácido benzoico, catecol, ácidos orgânicos voláteis, açúcares, álcoois, 2,4-diaminoanisol, 2,4-dinitroanisol e 2-metoxi-5-nitroanilina, não foram detectados pelas análises cromatográficas. Em relação a microbiota, foi verificado que o “Cavouco” apresenta uma alta diversidade bacteriana, representada por isolados Gram-positivos e Gram-negativos, alguns de origem ambiental e outros de origem clínica, com a presença de parasitas (*Paramecium)* apenas no ponto 2. O estudo realizou, também, uma análise restrospectiva e comparativa de dados obtidos a partir de 2013 até o presente momento (2021). Os resultados revelaram uma bioacumulação gradativa de metais e cargas orgânicas, além de uma significativa diversidade microbiana. Essa condição ambiental revela que este ambiente continua sofrendo impacto ambiental e, serve como um alerta para a gestão e a comunidade acadêmica e circunvizinha de que, medidas efetivas precisam ser tomadas para resgatar e conservar a

qualidade da água e vida deste ecossistema.

**Palavras-chave:** Monitoramento; Isolados Bacterianos; Efluentes.

## ABSTRACT

The Riacho Cavouco is a tributary of one of the main hydrographic basins in the state of Pernambuco. Previous studies show that this environment has been suffering from anthropogenic impacts, which have contributed to significant changes in water quality and the spread of microorganisms. The objective of this work was to carry out a surveillance study in the Riacho Cavouco through current and retrospective data on the environmental conditions of this ecosystem, in addition to carrying out a literature review in order to generate review articles related to the topic. For the input of current data, water was collected at specific points in the “Cavouco”. The determination of physical-chemical parameters and metals were carried out using specific equipment and kits. The detection of emerging contaminants was performed using high-performance liquid chromatography and the microbiota analysis was performed using morphological and molecular parameters (MALDI-TOF-MS and 16S rRNA gene sequencing); in addition to parasitological parameters. The results showed that most of the investigated points were in non-compliance with Resolution No. 357/2005 of CONAMA (National Council for the Environment), especially the investigated metals, which were present in all points, with Aluminum (Al) and Iron (Fe) presenting values above the limits established by legislation. The other contaminants (aniline, benzoic acid, catechol, volatile organic acids, sugars, alcohols, 2,4-diaminoanisole, 2,4-dinitroanisole and 2-methoxy-5-nitroaniline, were not detected by the chromatographic analysis, it was verified that “Cavouco” has a high bacterial diversity, represented by Gram-positive and Gram-negative isolates, some of environmental origin and others of clinical origin, with the presence of parasites (Paramecium) only in point 2. The study also carried out a retrospective and comparative analysis of data obtained from 2013 to the present time (2021). The results revealed a gradual bioaccumulation of metals and organic loads, in addition to a significant microbial diversity.This environmental condition reveals that this environment continues to be impacted by the environment and serves as a warning to management and the academic community and the surrounding community that effective measures need to be taken to rescue and conserve water. quality of water and life in this ecosystem.



**Keywords:** Monitoring; Bacterial isolates; Effluents.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Figura 1 - Proporção da cobertura global de água potável, 2000-2017 ..... 17

Figura 2 - Principais fontes de poluição em ambientes aquáticos ..... 19

Figura 3 - Localização do riacho Cavouco no estado de Pernambuco, no Nordeste do Brasil ..... 21

### ARTIGO DE REVISÃO 2

Figura 1 - Fluxograma de análise de inclusão e exclusão dos artigos selecionados de acordo com as diretrizes do protocolo PRISMA ..... 48

Figura 2 - Distribuição e predominância dos microrganismos pelos continentes. ..... 57

### ARTIGO EXPERIMENTAL 1

Figura 1 - Análise comparativa de métodos moleculares (MALDI-TOF-MS e sequenciamento do gene 16S rRNA) na identificação e distribuição de isolados bacterianos em um ambiente aquático impactado..... 85

Figura 2 - Dendograma gerado a partir das sequências do gene 16S rRNA de isolados bacterianos obtidos do riacho Cavouco e sequencias referências depositadas no GenBank ..... 86

### ARTIGO EXPERIMENTAL 2

Figura 1 - Descrição geográfica dos pontos de coleta no Riacho Cavouco em Recife-PE. ..... 90

Figura 9 - Linha do tempo com descrição dos estudos realizados no riacho Cavouco. ..... 98

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO DE REVISÃO 2

Tabela 1 - Síntese quantitativa de publicações por continente e países ..... 49

Tabela 2 - Síntese qualitativa dos principais gêneros e espécies de microrganismos encontrados em ambientes de água doce impactados..... 50

### ARTIGO EXPERIMENTAL 1

Tabela 1 - Características morfológicas de isolados bacterianos obtidos de um riacho urbano impactado em Pernambuco, Brasil..... 80

Tabela 2 - Caracterização molecular (MALDI-TOF-MS e sequenciamento do gene 16S rRNA) de isolados bacterianos obtidos de um riacho urbano impactado em Pernambuco, Brasil..... 82

### ARTIGO EXPERIMENTAL 2

Tabela 1 - Avaliação dos parâmetros físico-químicos investigados em três pontos do riacho Cavouco ..... 92

Tabela 2 - Concentração de metais detectados nos três pontos do riacho Cavouco e comparação dos seus valores com o estabelecido pela legislação..... 95

Tabela 3 - Análise de coliformes totais e E. coli nos três pontos investigados. ..... 96

Tabela 4 - Comparativo de parâmetros físico-químicos do Riacho Cavouco ..... 98

Tabela 5 - Comparativo de metais no Riacho Cavouco..... 99

Tabela 6 - Comparativo de isolados bacterianos no Riacho Cavouco..... 99

**SUMÁRIO**

**1 INTRODUÇÃO ..... 14**

**2 OBJETIVOS ..... 16**

2.1 GERAL ..... 16

2.2 ESPECÍFICOS ..... 16

**3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA ..... 17**

3.1 IMPACTOS CAUSADOS AO ECOSSISTEMA AQUÁTICO ..... 17

3.2 POLUENTES EM ECOSSISTEMAS AQUÁTICOS ..... 18

3.3 MICRORGANISMOS EM AMBIENTES AQUÁTICOS ..... 20

3.4 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO RIACHO DO CAVOUCO ..... 21

**4 RESULTADOS E DISCUSSÃO ..... 23**

4.1 ARTIGO DE REVISÃO ..... 23

4.2 ARTIGO DE REVISÃO ..... 43

4.3 ARTIGO EXPERIMENTAL 1 ..... 65

4.4 ARTIGO EXPERIMENTAL 2 ..... 87

**5 CONCLUSÕES ..... 104**

**6 SÚMULA CURRICULAR ..... 105**

**REFERÊNCIAS ..... 106**

# 1 INTRODUÇÃO

A água é um bem de consumo renovável e essencial, pois permite a sustentabilidade da biodiversidade e o funcionamento das diversas formas de vida nos ecossistemas, comunidades e populações. No entanto, com o aumento populacional, tem aumentado também a demanda hídrica, o que resulta no comprometimento da disponibilidade deste recurso (FROES; LIMA 2020).

A qualidade da água é resultante de dois fatores: os fenômenos naturais e a atuação humana. Desta forma, é necessário avaliá-la por meio de parâmetros físicos, químicos e biológicos e verificar se estes estão em conformidade com os padrões de potabilidade e balneabilidade destinados ao consumo e uso humano, respectivamente. O consumo de água contaminada tem sido associado a diversos problemas de saúde (CARTAXO et al., 2020), sendo as doenças de veiculação hídrica a segunda maior causa de morte na infância (PINTANEL; CECCONELLO; CENTENO, 2021).

Os rios e os riachos encontram-se entre os ecossistemas mais vulneráveis e sujeitos a diversos impactos antrópicos, sendo os riachos urbanos locais que recebem alto grau de poluição provenientes do lançamento de esgoto *in natura* e resíduos sólidos, considerados locais alvos para proliferação de espécies precusoras de donças, podendo resultar negativamente na qualidade de vida dos que reside em seu entorno (ALVES; MARTINS; JESUS 2019).

O riacho Cavouco é um afluente que tem sua nascente no *Campus* Recife da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e desagua na bacia hidrográfica do Rio Cabibaribe. O trecho que percorre na universidade, este recebe uma alta carga poluidora de resíduos proveniente dos laboratórios de ensino e pesquisa, bem como resídos de unidades de saúde e despejos domésticos oriundos da popuação circunvizinha (ARAÚJO; OLIVEIRA 2013).

Neste contexto, a avaliação da qualidade da água deste ambiente é primordial, pois possibilita analisar parâmetros que auxiliam na detecção do grau de poluição presente, bem como auxiliam na tomada de decisões por meio de estratégias que melhorem a qualidade da água e vida desses ecossistemas (QUINELATO et al., 2020).

O objetivo deste trabalho foi contribuir e ampliar os estudos ja realizados neste ambiente, por meio de uma vigilância ambiental do Riacho Cavouco. Para

isso, foram considerados dados anteriores (retrospectivos) e atuais (comparativos) para verificar as condições ambientais deste ecossistema ao longo do tempo.

# 2 OBJETIVOS

## 2.1 GERAL

Realizar um estudo de vigilância no Riacho Cavouco por meio de dados atuais e retrospectivos das condições ambientais deste ecossistema ao longo do tempo.

## 2.2 ESPECÍFICOS

- Realizar artigos de revisão abordando as seguintes temáticas: 1. Monitoramento de ambientes aquáticos impactados; 2. Predominância de bactérias em ambientes de água doce;
- Avaliar a qualidade da água do Riacho Cavouco por meio de parâmetros físicos e químicos, e comparar os resultados com a legislação nacional vigente;
- Avaliar a qualidade da água por meio da quantificação de coliformes totais e *Escherichia coli*;
- Analisar qualitativa e quantitativamente metais de transição tóxicos na água e
- Realizar análises cromatográficas para identificação de compostos químicos na água;
- Identificar isolados bacterianos do Riacho Cavouco por meio de diferentes técnicas moleculares;
- Avaliar a qualidade da água e vida deste ambiente ao longo de uma escala temporal.

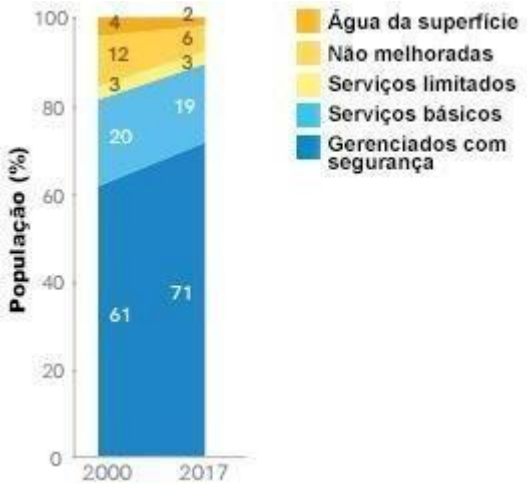
# 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

## 3.1 IMPACTOS CAUSADOS AO ECOSSISTEMA AQUÁTICO

Os ecossistemas aquáticos são de suma importância para o meio ambiente, a biosfera e as populações humanas. Entretanto, devido aos estresses ocasionados pelos impactos antrópicos têm sido evidenciado crescentes mudanças nesse ecossistema, dos quais, se torna uma preocupação cada vez maior, principalmente no que se refere ao gerenciamento deste ambiente (DUBOIS et al., 2018).

De acordo com dados publicados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) juntamente com o Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF) que avaliou sobre as estimativas do “Progresso na água potável para uso doméstico, saneamento e higiene” no período de 2000-2017, um a cada três pessoas, ou seja, 2,2 bilhões de pessoas no mundo não possuem algum tipo de tratamento adequado para potabilidade da água e mais da metade da população global, ou seja, 4,2 bilhões de pessoas carecem de um saneamento seguro para os serviços básicos (WHO, 2019). A figura 1, apresenta dados referentes a cobertura global populacional de água potável entre 2000-2017.

Figura 1 - Proporção da cobertura global de água potável, 2000-2017.




Fonte: WHO (2019).

A água têm sido utilizada ao longo dos anos para vários fins: consumo, saneamento, atividades agrícolas e industriais, considerada, portanto, um recurso

natural essencial para a manutenção da vida. Seu uso adequado precisa, na maioria das vezes, de um tratamento prévio e específico, o que exige atenção e investimento. Devido a expanção populacional em grandes cidades, a demanda por água potável têm sido cada vez mais crescente no mundo, resultando na necessidade de uma abordagem mais sustentável e consciente sobre o esgotamento desse recurso (BEIRAS, 2018; DUBOIS et al., 2018, MARTINS; ANTUNES, 2019).

O ambiente aquático é composto de ecossistemas marinhos e água doce, visto que, os de água doce é um dos principais ecossistemas que tem sofrido com crecentes intervenções antrópicas. Ao decorrer dos anos, a liberação continuada e descontrolada de compostos orgânicos, como fármacos, pesticidas e aditivos industriais tem aumentado significativamente, causando uma preocupação cada vez maior com a qualidade da água, além dos organismos ali presentes (GARCÍA et al., 2020).

Segundo o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), os padrões de potabilidade da água para o consumo humano deve estar livre de contaminações físicas, químicas, microbiológicas e radioativas, de modo que, não possa oferecer quaisquer riscos à saúde (CONAMA, 2011). Portanto, é de suma importância o estudo para avaliação de contaminantes nestes ecossistemas, mesmo em concentrações baixas, para que consigam ser adotados antecipadamente medidas de prevenção que diminuam os efeitos tóxicos que possam ser danosos (CARTAXO *et al*., 2020).

## 3.2 POLUENTES EM ECOSSISTEMAS AQUÁTICOS

Os ecossistemas aquáticos são responsáveis por cobrir aproximadamente dois terços do planeta terra, o qual possuem um papel fundamental na estabilização do clima global. Todavia, devido aos impactos provocados pelas atividades antrópicas, tem sido cada vez mais frequente efeitos deletérios nesses ambientes (HÄDER et al., 2020), ocasionados, principalmente, por escoamentos agrícolas, industriais e urbanos, os quais, causam impactos negativos nos organismos presentes, afetando, consequentemente o fornecimento de água potável (BEIRAS, 2018). Desse modo, esses compostos lançados de forma esporádica ou contínua são capazes de serem adsolvidos por sedimentos, e com isso perdurar por vários anos (CARDOSO *et al.,* 2019).

As principais fontes de poluição antrópicas que prejudicam ecossistemas aquáticos marinhos e principalmente de água doce são: esgotos, nutrientes, materiais terrestres, petróleo, metais pesados e plásticos (HÄDER et al., 2020). Esses problemas emergentes são detalhados na figura 2, que mostra as principais fontes de poluição bem como seus mecanismos de dispersão e mitigação.

Figura 2 - Principais fontes de poluição em ambientes aquáticos.

Fonte: Adaptado, Häder et al (2020).

Atualmente, há uma crescente preocupação sobre a presença de compostos orgânicos sintéticos em ambientes aquáticos, uma vez que estes podem causar efeitos prejudiciais tanto no meio ambiente quanto na saúde humana (LORENZO; CAMPO; PICÓ, 2018). Esses compostos, em sua maioria, causam alterações em estruturas populacionais de ecossistemas, como por exemplo, interferência em seu metabolismo bioquímico (BERNHARDT; ROSI; GESSNER, 2017, SINGH *et al*., 2020).

Devido a extensão das atividades industriais e a urbanização, tem sido desafiador para os seres humanos a disponibilidade por água potável, principalmente devido a crescente variedade de poluentes que são lançados na água, tornando-a, assim, cada vez mais escassa, e permitindo mudanças ambientais preocupantes (BERNHARDT; ROSI; GESSNER, 2017).

Para análise dos principais poluentes e suas consequências nestes ambientes são utilizados diferentes biomarcadores e bioindicadores em estudos de diagnósticos e monitoramento ambiental. Este tema será apresentado no tópico resultado em foram de artigo de revisão já publicado (ver adiante).

## 3.3 MICRORGANISMOS EM AMBIENTES AQUÁTICOS

As atividades ecossistêmicas remediada por microrganismos possuem impactos nas taxas de fluxo de energia e nutrientes, assim como, veemência em interações tróficas. Sendo assim, os microrganismos aquáticos são conhecidos por possuírem elevadas taxas de metabolismo e crescimento, na qual, possuem características de serem demasiadamente responsivos às pressões globais e locais, além de serem influenciados por mudanças físicos-químicas do meio e entradas de compostos poluentes, orgânicos e inorgânicos (MARECKOVA et al., 2020).

A excessiva atividade humana e a degradação ambiental causada pelos impactos de descargas xenobióticas resultaram no aparecimento de bactérias multirresistentes (RESENDE; SILVA; DINIZ, 2020). Esses microrganismos são abundantes em sistemas de transporte e tratamentos de água, no qual, são removidos uma parte da biomassa desses microrganismos. Entretanto, devido aos imensos volumes de água que são descarregados nesses locais, deriva-se um grande carregamento de seres unicelulares nos ambientes aquáticos (NEWTON; MCCLARY, 2019).

Desse modo, os microrganismos tem potencial de atuar fornecendo resistência e resiliência contra distúrbios em ambientes aquáticos, visto que, as respostas mensuráveis aos estressores ambientais causadas pelas atividades antrópicas são capazes de serem previstas por mudanças na dinâmica, atividade e diversidade microbiana (JOUSSET et al., 2017, GARCIA et al., 2018).

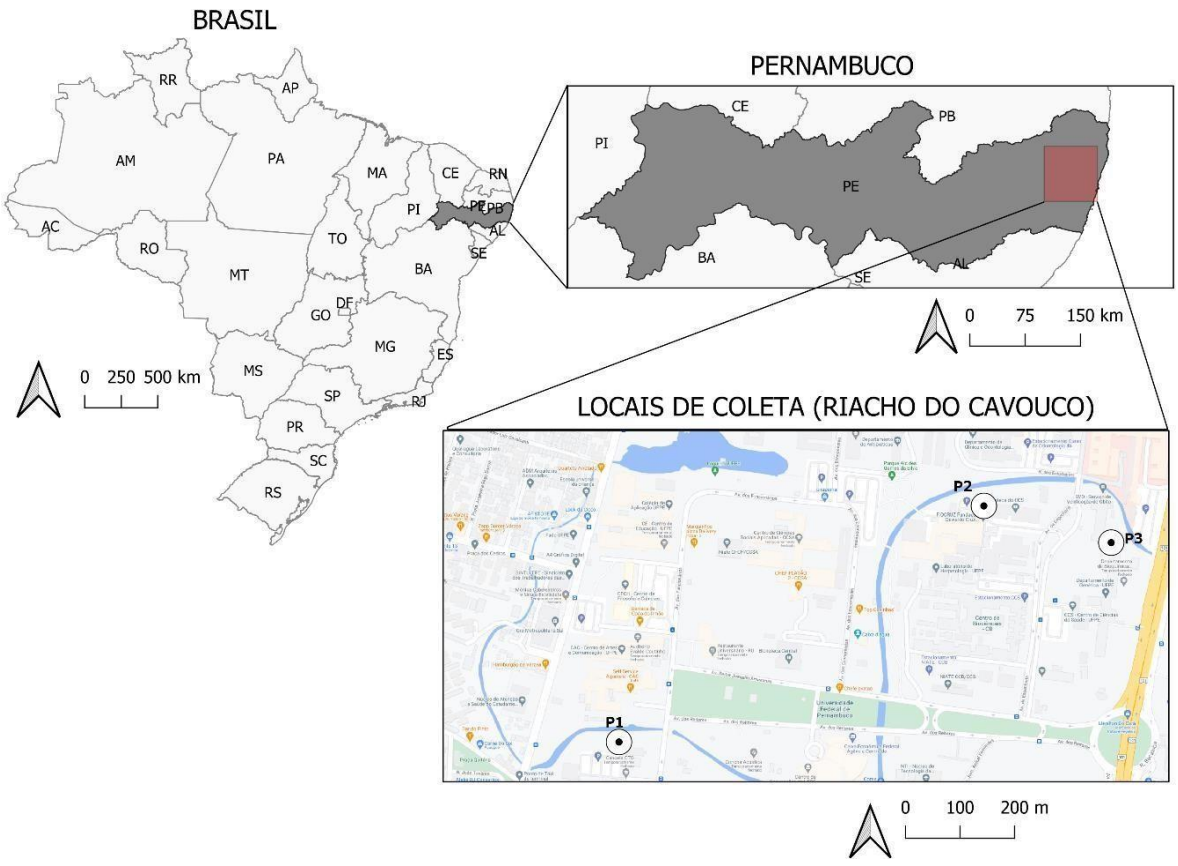
Este tópico será melhor detalhado em um artigo de revisão abordando os principais microrganismos encontrados nestes ecossistemas (ver tópico de

resultados).

## 3.4 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO RIACHO DO CAVOUCO

O riacho Cavouco é um afluente que tem sua nascente no *Campus* da UFPE (Universidade Federal de Pernambuco) e deságua na margem direita da bacia hidrográfica do Rio Capibaribe (Figura 3), utilizado como principal fonte de rescursos hídricos para indústrias, agricultura e pesca local (ESPINDULA; SANTOS, 2004; PURIFICAÇÃO et al., 2017).

Figura 3 - Localização do riacho Cavouco no estado de Pernambuco, no Nordeste do Brasil.




O Cavouco totaliza um percurso de aproximadamente 6 km que atravessa o interior da UFPE, o qual recebe uma carga significativa de resíduos poluentes de laboratórios de pesquisa e ensino, assim como, de serviços de saúde e domésticos de populações circunvizinhas (FREITAS et al., 2016).

Durante vários anos este riacho tem sofido com impactos antrópicos causado

pela urbanização, além da poluição das águas, da fauna e flora, de modo que, tem causado desiquílibrios ecológicos nesse ambiente, modificando expressivamente a qualidade da água e contribuindo para a propagação de microrganismos resistentes (ARAÚJO et al., 2019).

O Núcleo de Biossegurança e Meio Ambiente (NuBIOMA) da UFPE é um grupo de pesquisa que tem desenvolvido desde 2012 estudos de monitoramento deste ecossistema. Os trabalhos possibilitaram o isolamento e identificação de espécies e gêneros bacterianos, dos quais, pôde-se originar uma Bacterioteca de Ambientes Aquáticos Impactados (PURIFICAÇÃO et al., 2017). Outros trabalhos com o intuito de monitorar metais, outras substâncias químicas (colina, agrotóxicos anticolinesterásicos, etc.) vem sendo realizados (ARAÚJO et al., 2020; 2018). No entanto, estes dados foram publicados isoladamente. De modo que se faz necessário uma análise retrospectiva e comparativa das condições ambientais deste ambiente. Sendo assim, esta pesquisa foi realizada com a pretensão de resgatar estas informações e compará-las com as condições atuais, considerando o contexto histórico atual em que as atividades presenciais da instituição ficaram suspensas por um período significativo devido a pandemia da COVID-19.

# 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados desta dissertação serão apresentados na forma de artigos.

## 4.1 ARTIGO DE REVISÃO

A revisão de literatura sobre a estado-da-arte de biomarcadores como uma ferramenta para monitorar o impacto ambiental em ecossistemas aquáticos foi construída na forma de artigo de revisão publicado em outubro de 2020 no periódico: Brazilian Journal of Development, link para acesso: file:///C:/Users/Milena/Downloads/17871-46056-1-PB%20(3).pdf

Brazilian Journal of Development

# Biomarkers as a tool to monitor environmental impact on Aquatic Ecosystems

# Biomarcadores como ferramenta para monitorar o impacto ambiental nos Ecossistemas Aquáticos

DOI:10.34117/bjdv6n10-120

Recebimento dos originais: 08/09/2020
Aceitação para publicação: 07/10/2020

**Milena Roberta Freire da Silva**
Biomédica
UFPE/Campus - Recife
Address: Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901
E-mail: milena.freire@hotmail.com

**Karolayne Silva Souza**
Biomédica
UFPE/Campus - Recife
Address: Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901
E-mail: karolayne.silvasouza@ufpe.br

**Caio Rodrigo Dias de Assis**
PhD
UFPE/Campus - Recife
Address: Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901
E-mail: caiodias2@hotmail.com

**Rafael Artur de Queiroz Cavalcanti de Sá**
Mestre
UFPE/Campus - Recife
Address: Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901
E-mail: r.artur.queiroz@gmail.com

**Milena Danda Vasconcelos Santos**
Mestre
UFPE/Campus - Recife
Address: Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901
E-mail: milenadanda@gmail.com

**Maria Betânia Melo de Oliveira**
Doutora
Address: Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901
E-mail: maria.bmoliveira@ufpe.br

**ABSTRACT**
The assessment of aquatic contaminants through biomarkers is an efficient approach in studies of environmental risk and impact since it detects the effects of living beings exposed to the polluted environment early. In this sense, this study aims to demonstrate the use of metallothionein, acetylcholinesterase, micronuclei, comet assay, and cytochrome P450 biomarkers, correlating them

Brazilian Journal of Development

to the xenobiotic process in the aquatic environment and how they signal changes in this environment. This is a bibliographic review, which was carried out searches in the VHL databases: Lilacs, Medline, and Google Scholar, from 2006 to 2020. Metallothioneins is a biomarker that assesses the process of detoxification and homeostasis of metal ions. Acetylcholinesterase is used to assess the neurotoxic effects caused by xenobiotics. Exposure to genotoxic compounds is verified by the micronucleus tests and comet assay, being this an evaluation at the cellular level, where the first analyzes nuclear abnormalities or deformation in the morphology of the nucleus, and the other verifies breaks in the DNA structure. Cytochrome P450 plays a central role in oxidative metabolism and detoxification of natural and xenobiotic substances present in pesticides and fertilizers. It is known that aquatic contamination is a threat to the conservation and management of these ecosystems, making it necessary to use specific and sensitive biomarkers that are capable of detecting the damage early. Therefore, biomarkers correspond to an effective tool for this purpose, as it enables the production of reliable data, favoring the implementation of adequate measures for the prevention, either-or recovery of aquatic ecosystems.

**Keywords:** monitoring, polluted environment, contaminants.

**RESUMO**

A avaliação de contaminantes aquáticos através de biomarcadores é uma abordagem eficiente nos estudos de risco e impacto ambiental, uma vez que detecta os efeitos dos seres vivos expostos ao ambiente poluído precocemente. Neste sentido, este estudo visa demonstrar o uso de metalotionina, acetilcolinesterase, micronúcleos, ensaio de cometa e biomarcadores de citocromo P450, correlacionando-os com o processo xenobiótico no ambiente aquático e como eles sinalizam mudanças neste ambiente. Esta é uma revisão bibliográfica, que foi realizada através de buscas nas bases de dados da BVS: Lilacs, Medline, e Google Scholar, de 2006 a 2020. Metallothioneins é um biomarcador que avalia o processo de desintoxicação e homeostase de íons metálicos. A acetilcolinesterase é utilizada para avaliar os efeitos neurotóxicos causados pelos xenobióticos. A exposição a compostos genotóxicos é verificada pelos testes de micronúcleo e ensaio de cometa, sendo esta uma avaliação a nível celular, onde o primeiro analisa anormalidades nucleares ou deformações na morfologia do núcleo, e o outro verifica quebras na estrutura do DNA. O citocromo P450 desempenha um papel central no metabolismo oxidativo e na desintoxicação de substâncias naturais e xenobióticos presentes em pesticidas e fertilizantes. Sabe-se que a contaminação aquática é uma ameaça à conservação e ao manejo destes ecossistemas, tornando necessário o uso de biomarcadores específicos e sensíveis, capazes de detectar os danos precocemente. Portanto, os biomarcadores correspondem a uma ferramenta eficaz para este fim, pois permitem a produção de dados confiáveis, favorecendo a implementação de medidas adequadas para a prevenção, ou a recuperação dos ecossistemas aquáticos.

**Palavras-chave:** monitoramento, meio ambiente poluído, contaminantes.

## 1 INTRODUCTION

The world population growth caused the expansion of urban and rural activities, triggering an increase in industrial activities and in the production of chemical residues that are produced on a large scale, constituting, in most cases, the main polluting source of the aquatic environment. As a consequence, these environments have been undergoing serious changes resulting from large amounts of effluents without previous treatment, which generates physical, chemical, and biological

Brazilian Journal of Development

deterioration, putting at risk the organisms that live there and the population health (AGUILLAR et al., 2020; SAVASSI, 2019; PURIFICAÇÃO JÚNIOR et al., 2017).

According to the World Health Organization (WHO), water scarcity will affect two-thirds of the world population in 2050 as a result of the excessive use of water resources for food production and agriculture (FAO, 2015). Brazil holds almost 15% of the world's water reserves, which is a scarce natural resource, indispensable for life and most economic activities. Contamination of this water can occur in several ways, with emphasis on pollution by sewage, heavy metals, pesticides, and fertilizers (MIGUEL, 2019).

The consequences resulting from impacts on the aquatic environment lead to the degradation of this environment, through changes in the characteristics of the local biota, resulting from human activities that directly or indirectly affect the health of this ecosystem (GARCIA et al., 2018). Therefore, it is necessary to assess the impact that pollutants cause on environmental quality, thus identifying their effects on the living beings of these ecosystems. The use of biological parameters to assess water quality is based on the response of organisms to the environment in which it is inserted. In this context, the use of biomarkers arises, which are important tools for assessing ecological risks, also used to assist in understanding the effects at the population or community level, besides to determine the degree of impact on the biota, as well as identifying the stressors or pollutants responsible for this effect. These biomarkers also assist in the diagnosis of risk of exposure to the human population (GOMES et al., 2019).

Thus, the assessment of aquatic contaminants through biomarkers is an efficient approach in studies of risk and environmental impact due to they detect early the effects that are occurring in living beings exposed to the polluted environment. Also, The use of biomarkers is essential so that protective measures can be taken for this environment. This review demonstrates the use of metallothionein, acetylcholinesterase, micronuclei, comet assay, and cytochrome P450 biomarkers. These correlated to the xenobiotic process in the aquatic environment and how they can signal the processes of alteration in this medium.

## 2 METHODOLOGIES

This is a bibliographic review with a qualitative approach to the exploratory narrative type. For this, there used as a strategy for the identification and selection of articles, the survey of studies indexed in the databases available in the Virtual Health Library - VHL such as Lilacs, Medline, and Google Scholar. In the bibliographic survey, there used descriptors based on the Health Sciences Descriptors (HSD): Biomarkers and Aquatic Environment, also used in isolation and combination.

There used uncontrolled descriptors to meet the objective of this study, which are aquatic environment and pollution biomarkers. Controlled descriptors represent the terms registered in the HSD, while the uncontrolled ones refer to words or synonyms that represent the subject to be searched. There used studies from 2006 to 2019, Portuguese and English were considered eligible, besides theses and dissertations.

## 3 ENVIRONMENTAL IMPACTS CAUSED TO THE AQUATIC ECOSYSTEM

Water is an indispensable resource for the survival of various forms of living beings. Also, it is essential for the maintenance of the physiological conditions of organisms. Due to the increased demand for consumption, the availability of potable water is becoming increasingly limited, as well as the increase in population and the consequent degradation of its quality (YAMAMOTO, 2016).

According to CONAMA Resolution No. 01 of 01/23/86, the designation of environmental impact corresponds to any changes in the physical, chemical, and biological properties of the environment, as a result of human activities that, directly or indirectly, affect the health, safety, either-or well-being of the population. Besides, social and economic activities, biota, sanitary and aesthetic conditions of the environment, and quality of environmental resources.

Industrial growth and urbanization have been increasing exponentially in recent decades, causing the expansion of urban and rural activities and significantly altering the aquatic ecosystem, due to the multiple impacts arising from human activities. The increase in these activities generates important damages to these environments, since the improper destination of aquatic contaminants such as solid, liquid, and volatile residues. Without the proper treatment, it can subsequently lead to bioaccumulation and biomagnification processes in the different trophic levels of the food chain, thus reaching places far from the starting point of the discharge (MENEZES et al., 2019; SILVA, 2016).

In Brazil, there produced, approximately 214 thousand tons of solid waste daily, almost all of them are disposed of on the ground, either in the form of landfills, controlled landfills, or open-air dumps. The main arising damages from these residues that can be considered the eutrophication of water bodies, leaching, mainly nitrate, and the emission of greenhouse gases. The inadequate disposal of organic waste produced through agricultural activities, mainly ranching, leads to the production of a large number of contaminants in the environment. The main damages resulting from these residues are the eutrophication of water bodies, which causes partial and even total death of aquatic life, and leaching, mainly of nitrate, which can reach groundwater, generating damage mainly for the man who uses this water for consumption. If not treated efficiently before being

released into the environment, Leachates are potentially adverse to the environment and can contaminate soil and ground, and surface water (MORAES et al., 2020; TROMBETTA et al., 2020). This changing process in the aquatic environment over time can compromise the species' permanence in the ecosystem, which causes higher ecological damage if the community is affected as a whole (SANTOS, 2013).

The environmental impact assessment (EIA) is a measure to predict changes that will occur in the environment and aims to assess environmental impacts and their consequences. According to the United Nations (UN), the United Nations Environment Program (UNEP) corresponds as the main global authority on the environment, responsible for promoting conservation and sustainable development to improve the quality of population´s life without compromising environmental resources and services of future generations (ALMEIDA; GARRIDO; ALMEIDA, 2017).

## 4 BIOMARKERS AS A TOOL FOR ASSESSING EXPOSURE TO CONTAMINANTS

The homeostasis of a natural ecosystem depends on the process of monitoring and adopting adequate prevention and precautionary measures, based on the analysis of the harmful effects caused by contaminants to the aquatic environment. Therefore, environmental contamination biomonitoring is a tool that provides information about the effects caused in this environment. One of these biological tools is biomarkers, which can define as a measurable response that reflects the interaction between a biological system and a potential stressor, whether physical, chemical, or biological (SILVA, 2016; YAMAMOTO, 2016).

Biomarkers can be identified at the biochemical, cellular, individual, population, community, or ecosystem levels. However, the initial effects have the highest impact on the most basic organizational levels of biochemical and molecular responses. These responses can be used as biomarkers of early contamination since, at a low level, it is sufficient to cause physiological effects. Thus, determining the nature and degree of contamination, making it possible, in some situations, to reverse the impact or prevent the environment from a more severe impairment (LOUREIRO, 2017).

The use of biomarkers is largely advantageous since it is considered an indicator of biological response to contaminants or environmental stressors. Its inclusion in environmental research, especially in contaminated areas, is increasingly frequent. It is due to its potential to evaluate the general health of organisms that live in contaminated ecosystems, in addition to having the ability to detect contaminants early, reflecting a reversible toxic effect and subclinical. These

enable efficiently and relatively quickly environmental changes, as they are low cost and robust in their information (GOMES et al., 2019; VASCO et al., 2016).

The need to detect and evaluate arising impacts from polluting substances in low concentrations and sublethal leads to the assessment of a range of biological responses in several species, often using biomarkers at the cellular/molecular level. They assess changes in high levels of biological organization, which is before death or disease onset. These can analyze damage caused by exposure to metals, organic xenobiotics, and organometallic compounds. The choice of the species that indicates the quality of the environment under study, it must be done correctly, since it will assist in the process of identifying the impacts caused to the environment.

Among the countless animals present in these ecosystems, fish, mollusks, and benthic macroinvertebrates have been widely used in the biomonitoring of aquatic environments, due to their easy geographical distribution and position in the trophic chain (CAMARGO; SOUZA; BURANELLO, 2019; RIBEIRO; NUNES 2017).

## 5 GENERAL CLASSIFICATION OF BIOMARKERS

Several types of biomarkers respond differently to the toxic effect of contaminants, presenting different functions, where some allow defining the presence of substances that cause changes in the genetic material of the organism. It can cause mutagenic either-or potentially carcinogenic effects (VASCO et al., 2016). These can be divided into three different classes the exposure, effect, and susceptibility biomarkers.

Exposure biomarkers are capable of detecting and quantifying exogenous substances or a metabolite, or even a product of the interaction between the xenobiotic or metabolite and an endogenous component, establishing a relationship between external exposure and internal concentrations (OLIVEIRA, 2014). Exposure to a xenobiotic is a necessary condition, although not sufficient to bring about changes in the body. Bearing in mind that these can be used for the most varied purposes, such as leading to the early detection of exposure, although significant changes in the health of the exposed organism have not yet occurred. Thus, they can contribute to the primary prevention and adoption of measures useful for reducing exposure (SILVA, 2016).

The effect biomarkers do not provide information about their nature, but they are characteristic of the occurrence of stress that can be reversible. These include biochemical, physiological, or other changes in the tissues of an organism, which begins with an adaptive response at the molecular/biochemical level. However, if this recognition mechanism fails or if its response capacity is exceeded, it can lead to physiological or histopathological irreversible damage,

depending on the capacity of the organ or system to respond to the stressor (CANTANHÊDE, 2016; NOGUEIRA, 2013).

Susceptibility biomarkers are indicators of processes that cause variations in responses over time between exposure and the effect of a xenobiotic, which are predominantly genetic, although pathologies, physiological changes, drugs, and exposure to other environmental agents can also change individual susceptibility (CANTANHÊDE, 2016).

Thus, biomarkers are sensitive and specific to chemical exposure and reflect the interaction between a substance and a biological system, being able to identify an early effect before it becomes irreversible at a more complex level of biological organization (YAMAMOTO, 2016). Below are described some of the biomarkers used in programs for monitoring impacted aquatic environments.

## 5.1 METALLOTHIONEINS

Metallothioneins (MT) correspond to a class of cytosolic proteins, rich in cysteines that have low molecular weight and affinity for divalent cations. TM has the function of detoxification and homeostasis of metal ions. It is through the presence of thiol groups (-SH) that they bind to excess metals, polluting or not, protecting the organism from the toxicity of these compounds. It acts on the intracellular metabolism of copper (Cu), zinc (Zn), and cadmium (Cd), helping to protect against oxidative damage and toxicity resulting from excessive exposure to third metals. Thus, they act as fundamental chelating agents for the mechanism detox (LAVRADAS et al., 2016; GÓMEZ et al., 2018; KROON; STRETENN; HARRIES, 2017).

In aquatic organisms, there is induced production of MT by an increase in the entry of metals into cells. The gills, kidney, and digestive glands are directly involved in this process of entry, storage, and excretion. These also act against cellular oxidative stress, being directly connected to the cellular antioxidant defense system (SEVCIKOVA et al., 2013; SAVASSI, 2019).

The study by Rajeshkumar; Mini; Munuswamy (2013), found that the metals most often related to inducing MT synthesis are Cd and Hg. Although the higher synthesis of this protein is associated with the organs involved in the uptake, metabolism, and excretion of metals, this author detected a higher concentration of metals in the liver of the evaluated organism, the milk-fish (*Chanos chanos*).

According to Buzzi; Marcovecchio (2016), MTs are early warning signs of exposure to metals. In this study, they evaluated the levels of heavy metals in sediments and the synthesis of MT in the crab Neohelice granulata from the estuary of Bahía Blanca, Argentina. The authors

demonstrated that there was a slow decrease in the level of metals in the analyzed area, and the female crabs showed a higher MT when compared to the males.

## 5.2 ACETYLCHOLINESTERASE (ACHE)

Acetylcholinesterase (AChE) is a biomarker widely used in the diagnosis of neurotoxic effects resulting from xenobiotics. It is an enzyme in the group of serine esterases that catalyzes the hydrolysis of the neurotransmitter acetylcholine (ACh) in excess in the synaptic cleft, releasing choline and acetate and preventing an exacerbated stimulation of neurons in order to guarantee the normal functioning of the motor and sensory system (ARAUJO et al., 2016).

Inhibition of AChE activity leads to a block in the transmission of nerve impulses, paralyzing vital functions, resulting from the overlap of nerve impulses caused by the permanence of open $Na^+$ channels. This consequence results in death in the exposed organisms, as an effect of hyperstimulation of the parasympathetic autonomic nervous system (ARAÚJO et al., 2018; FU et al., 2018).

Besides, AChE is inhibited by pesticides of the carbamate and organophosphate classes, as well as by metals. The toxicity mechanism results in the accumulation of acetylcholine in the synaptic cleft, leading to cholinergic hyperstimulation and alterations in the functionality of the Central Nervous System (CNS), causing changes in behavior and even the death of the organism. Thus, this enzyme has been frequently used in the biomonitoring of the aquatic environment, being considered as one of the best indicators of effect on acute or chronic exposure of fish species (ARAÚJO et al., 2016; MORENO et al., 2019).

The organophosphate compounds phosphorylate AChE irreversibly, which prevents the hydrolysis of acetylcholine, causing its accumulation in the muscarinic and nicotinic synapses, resulting in a continuous propagation of nerve impulses. Carbamates cause an action similar to organophosphates, differing only in the intensity and duration of the carbamylation bond, which is lower, causing a reversible inhibition of acetylcholinesterase (SILVA, 2016).

Although these pesticides are rapidly hydrolyzed in the environment, the increase in their use and discharge causes high toxic effects to the organisms exposed in the aquatic ecosystem. Determination of the activity inhibition of this enzyme is a useful tool in the evaluation of the effects of contamination, which makes it possible to monitor the presence of these compounds and their possible risk for both the environment and human health (COIMBRA et al., 2018; ARAÚJO et al., 2016).

In their research, Alavinia et al., (2019) report that the exposure of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to malathion leads to inhibition of AChE activities due to the binding of this pesticide to the active enzyme site and consequent over-stimulation in synaptic transmission between nerve cells. The maximum reduction in AChE activity in brain tissue during the time of exposure to malathion can be seen by the increase in neurotransmission at synapses and subsequent hyperactivity of cholinergic pathways. Recently, some researchers have reported significant inhibition of AChE brain activity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) (HAMED, 2015, as well as juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) (WANG et al., 2016).

According to Araújo et al., (2016), the activity of cholinesterases (ChEs) of several fish has been widely used as biomarkers in programs for monitoring water resources. In their work, the authors investigated the activity of ChEs in the Jaguar cichlid (*Parachromis managuenis*), observing the behavior of the enzyme in the presence of different substrates and selective inhibitors, metal ions, as well as organophosphate and carbamate pesticides. The use of these substrates and selective inhibitors evidenced the presence of AChE and butyrylcholinesterase (BChE) in the brain of *P. managuensis*. In another work by Araújo et al., (2018), they observed the in vitro exposure of Tamoatá (*Hoplosternum littorale*) to pesticides and metal ion, and it led to AChE inhibition in the brain of this species, as well as in the presence of specific AChE (BW284c51) and BChE (Iso-OMPA) inhibitors (ARAÚJO et al., 2018).

## 5.3 MICRONUCLEUS

Another biomarker recently used for monitoring aquatic environments corresponds to micronuclei. These are biomarkers at the cellular level for exposure to genotoxic compounds, formed from the condensation of the acentric chromosomes either-or whole chromosomes that do not migrate to the poles of the mitotic spindles in cell mitosis, as they present a delay in cell division due to lack of centromere, damage or defect in cytokinesis. These nuclear abnormalities or deformations in the nucleus' morphology are considered indicators of genotoxic effects (SANTOS et al., 2016).

Xenobiotics can act in two ways on the nucleus, directly on the chromosome or on the mitotic spindle, leading to the loss of part or all of the chromosome (D'COSTA; SHYAMA; HUMAR, 2017). As previously mentioned, this process occurs during cytokinesis in the formation of the nuclear envelope and, if not incorporated into the main nucleus, they form their own envelope, generating the micronuclei. These changes tend to be irreversible and continue to manifest

themselves in future generations through heredity, which may lead to a reduction in species diversity in the impacted aquatic ecosystems (BUENO et al., 2017; COIMBRA et al., 2018).

The frequency of micronucleus has been used as a quick and sensitive indication of changes as it shows breaks in the genetic material that lead to chromosomal abnormalities. This test aims to assess the mutagenic potential that substances have to cause structural or numerical chromosomal damage to cells in the division stage. Damage is often associated with the appearance either-or progression of tumors and with adverse reproductive effects, which makes early detection importante (CANTANHÊDE, 2016; COBANOGLU et al., 2019).

According to Costa; Shyama; Kumar (2017), the increased incidence of micronucleus in the blood cells of *Arius arius* fish occurred due to high concentrations of trace metals, after long-term exposure even with low concentrations of these, leading to an increase in the effects genotoxic in cells of this species and potentially other aquatic organisms.

The work of Khalek; Morsy; Shati (2020) demonstrated that the *O. niloticus* (Nile tilápia) species, when exposed to zinc, showed an increase in nuclear deformities. However, when exposed to nanoparticles of this metal, a significant increase in MN induction was observed, thus exerting a clastogenic effect causing direct, irreversible chromosomal damage to DNA and loss of genetic information. A similar result was demonstrated in the study by Gaete et al., (2019), showing that when *Perumytilus purpuratus* was exposed to copper, the frequency of micronuclei was significantly higher in all concentrations tested (1, 30 and 45 $\mu g\ L^{-1}$ by 24, 48 and 96 h).

It is worth mentioning that this test constitutes a relatively simple, inexpensive, and fast results methodology on mutagenicity effects through simple laboratory tests of cell staining and observation under an optical microscope. The erythrocyte's observation under the microscope allows this identification. However, to be considered a micronucleus, it must be separated from the main nucleus of the cell, which presents distinguishable edges and with the same refringence as the main nucleus. It is possible to observe changes in the morphology and the nuclear envelope since they are caused by the effects of chemical substances present in the water (ALVES, 2017).

## 5.4 COMET TEST

The comet assay (SCGE, Single-Cell Gel Electrophoresis) is an alternative widely used to determine genotoxicity in aquatic environments. This method checks for breaks in the DNA structure after exposure that can be performed in vivo or in vitro. It has as a principle the investigation of DNA damage of cells, which are identified in the shape of a comet structure, whose tail size is proportional to the damage suffered in the genetic material (LAPUENTE et al., 2015).

It is a test widely used to assess the genotoxic effects of industrial, domestic, and agricultural effluents that cause damage induction and DNA repair. It has the advantage of high sensitivity to various types of damage, being considered in some cases more sensitive to the action of toxic agents than the micronucleus test, in addition to requiring a small number of cells and the mitotically active cells do not need to be analyzed, enabling the analysis of any cell nucleus. This assay allows the detection of breaks in single and double DNA bands, cross-links, alkali labile sites, and incomplete excision repair sites (BIANCHI et al., 2017).

The basic principle of the test is the lysis of cell membranes, followed by the induction of electrophoretic migration of DNA released in an agarose matrix. Thie test, in turn, promotes the migration of DNA fragments through the flow of electrons. The smaller fragments after migration along with the larger ones (encapsulated in the agarose mesh), when viewed under a microscope, assume the apparent shape of a comet, with its head, nuclear region, and tail. Cells with a round nucleus are considered normal and without detectable damage. In contrast, the injured are visually identified by a species of the tail, which corresponds to the DNA fragments that were dragged by the electrophoresis electric current, and the damage observed is proportional to the length of the comet's tail (KNAPPIK; RAMSDORF, 2020).

According to Singh et al., (2019), exposure to metals in freshwater triggered the process of genotoxicity in fish of the species Channa punctatus. This study evaluated exposure to metals in different periods and concentrations and revealed that they cause selective DNA damage, with Arsenic (As), Nickel (Ni), and Chromium (Cr) being the main ones. Cadmium (Cd) did less damage. However, at the time of the tail extension, the damage was observed in all evaluated organisms.

According to Gallão et al., (2019), the leaching process increases the damage to the DNA of fish exposed to sublethal concentrations, given that this is considered a polluting process of aquatic ecosystems that provides the transport of several toxic substances, such as metals. When present in water bodies, these agents can interact with aquatic organisms and present risks to local biota due to their deleterious effects on organisms at various trophic levels. The use of the comet assay technique in this condition allows detection even in small concentrations of these substances when it causes DNA damage.

### 5.5 CITOCHROME P450

Cytochrome P450 (CYP 450) belongs to the family of enzymes of the Mixed Function Monooxygenase (MFO) system and plays a central role in the oxidative metabolism and detoxification of natural and xenobiotic substances present in pesticides and fertilizers, for example.

The isoenzymes of CYP 450 are an enzyme complex that contains the heme group involved in the metabolism of many drugs, steroids, and carcinogenic agents, and these enzymes are responsible for catalyzing the oxygenation of numerous endogenous and xenobiotic substrates (RAINONE et al., 2015).

CYP 450 has different isoforms, some of which are used as biomarkers. These are present mainly in the liver, although they occur in a lower concentration in extrahepatic tissues. In fish, different cytochrome subfamilies are responsible for the metabolism of xenobiotics, such as CYP1, CYP3, and, to a lesser extent, CYP4, while CYP 450 is related with the metabolism of endogenous substrates (BHUTIA; RAI; PAL, 2015; CARDOSO; OLIVEIRA; ROCHA, 2019).

The subfamily CYP1A, especially the enzyme etoxiresorufina-O-deethylase (EROD), plays an important role in the biotransformation of organic compounds, including polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs), and dioxins. They are among the most dangerous compounds released into aquatic habitats. The induction of this enzyme represents one of the most studied biomarkers for contamination, as its levels and activities are related to exposure to aromatic hydrocarbons in a dose-dependent manner, both in fish and in mammals (VIEIRA et al., 2018; YAMAMOTO, 2016).

This enzyme has the function of metabolizing lipophilic xenobiotics into more hydrophilic compounds to favor its excretion, but many of these metabolites formed in the detoxification process are potentially reactive and can be genotoxic, which can cause DNA damage or lead to carcinogenesis. After exposure to xenobiotics, EROD levels increase, and this is the basis for using this enzyme as a biomarker of the effects of water contamination by organic pollutants resulting from anthropic activities (BURKINA et al., 2018; SANTANA et al., 2018).

According to Araújo et al., (2018), there reported increasing EROD activity in fish exposed to a wide range of pollutants, such as PAHs. These findings demonstrate that the lowest EROD activity is concentrated in an area where most pollutants are incorporated into the sediment by decantation due to the decrease in water flow. In contrast, Leggieri et al., (2019) showed that oil contamination induces the enzyme CYP1A in rainbow trout (*Oncorhynchus mykis*). Similar results have been reported in *O. niloticus* under oil pollution, as demonstrated in the study of Ahmed et al., (2019), which showed that oil spills into natural water resources expose fish to serious problems. The authors also observed a significant increase in CYP1 A1 mRNA expression levels in the liver tissue of this fish.

Brazilian Journal of Development

## 6 CONCLUSION

Aquatic contamination represents a direct threat to the conservation and management of these ecosystems and drastically reduces the availability of quality water for the population. Besides, it causes damage to the organisms that live there, influenced directly by human activities.

The growing use of toxic substances, such as pesticides, metals, and other organic compounds, brings to the fore the need for their effects being evaluated in the environments in which they are disseminated, to analyze the damage caused, and avoid consequences to the aquatic environment. In this context, the use of biomarkers is a very useful tool for this purpose.

Biomarkers serve different purposes in the aquatic environment, as shown throughout this study, and can be used for assessments of genotoxicity, neurotoxicity, cytoplasmic organelle integrity, which are indicators often used to assess damage to aquatic organisms caused by xenobiotics.

For effective monitoring with these tools, it is important to pre-determine which biomarkers and species will be used as a possible damage indicator. Besides, taking into consideration the internal particularities of each biomarker, considering extrinsic and intrinsic factors process that may cause changes in the assessment.

Therefore, there strongly recommended the use of biomarkers in assessing impacts on the aquatic environment, so that reliable data can be produced, enabling the implementation of appropriate measures for the prevention, either-or recovery of aquatic ecosystems.

Brazilian Journal of Development

## REFERENCES

AGUILLAR, C. N. et al., Evaluation of heavy metal contents in water in Rio Paranaíba – MG, Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 9, p. 64781-64880, 2020.

ALAVINIA, S. J. et al., DNA damage, acetylcholinesterase activity, and hematological responses in rainbow trout exposed to the organophosphate malathion, Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 182, 2019.

AHMED, Y. H. et al., Histopathological, biochemical and molecular studies on the toxic effect of used engine oil on the health status of Oreochromis niloticus, Acta Histochemica, v. 121, p. 563-574, 2019.

ALMEIDA, F. S.; GARRIDO, F. S. R. G.; ALMEIDA, A. A. Avaliação de impactos ambientais: uma introdução ao tema com ênfase na atuação do gestor ambiental, Diversidade e Gestão, v. 1, n. 1, p. 70-87, 2017.

ALVES, R. S. Uso de peixe como bioindicador de poluição aquática do rio catolé grande, Bahia, 70 F. 2017, Dissertação (Mestre em Ciências Ambientais), Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2017.

ARAÚJO, F. G. et al., Biomarkers and bioindicators of the environmental condition using a fish species (Pimelodus maculatus Lacepède, 1803) in a tropical reservoir in Southeastern Brazil, Brazilian Journal of Biology, v. 78, n. 2, 2018.

ARAÚJO, M. C. et al., Brain acetylcholinesterase of jaguar cichlid (Parachromis managuensis): From physicochemical and kinetic properties to itspotential as biomarker of pesticides and metal ions, Aquatic Toxicology v. 177, 2016.

ARAÚJO, M. C. et al., Characterization of brain acetylcholinesterase of bentonic fish Hoplosternum littorale: Perspectives of application in pesticides and metal ions biomonitoring, Aquatic Toxicology, v. 205, 2018.

BHUTIA, D.; RAI, B. K.; PAL, J. Hepatic Cytochrome P450 as Biomarkers of Cypermethrin Toxicity in Freshwater Teleost, Channa punctatus (Bloch), Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 58, n. 1, 2015.

BIANCHI, E. et al., Monitoring the Genotoxic and Cytotoxic Potential and the Presence of Pesticides and Hydrocarbons in Water of the Sinos River Basin, Southern Brazil, Arch Environ Contam Toxicol, v. 72, n. 3, 2017.

BUENO, A. P. M. et al., Teste de micronúcleos em peixes e parâmetros físico-químicos da água da represa Cocais, Minas Gerais, Acta Brasiliensis, v. 1, n. 3, 2017.

BURKINA, V. et al., Complex effects of pollution on fish in major rivers in the Czech Republic, Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 164, 2018.

BUZZI, N. S.; MARCOVECCHIO, J. E. A baseline study of the metallothioneins induction and its reversibility in Neohelice granulata from the Bahía Blanca Estuary (Argentina), Marine Pollution Bulletin, v. 112, 2016.

CAMARGO, P. R. S.; SOUZA, F.; BURANELLO, P. A. A. Influência de impactos antrópicos na comunidade de macroinvertebrados na bacia do baixo Rio Grande, Revista em Agronegócio e Meio Ambiente, v. 12, n. 2, p. 643-662, 2019.

CANTANHÊDE, S. M. Biomarcadores em peixes como ferramenta na avaliação da qualidade de ambientes estuarinos na ilha do Maranhão, Brasil, 62 F. 2016, Dissertação (Pós-graduação em Recursos Aquáticos e Pesca), Universidade Estadual do Maranhão, São Luiz, 2016.

CARDOSO, P. G.; OLIVEIRA, R. R.; ROCHA, E. Combined effects of increased temperature and levonorgestrel exposure on zebrafish female liver, using stereology and immunohistochemistry against catalase, CYP1A, HSP90 and Vitellogenin, Environmental Pollution, v. 252, p. 1059-1067, 2019.

CASTRO, C. N.; PEREIRA, C. N. Revitalização do rio São Francisco, Boletim regional, urbano e ambiental, v. 17, 2017.

CHIVITTZ, C. C. Avaliação do biomarcador de contaminação ambiental CYP1A em duas espécies de peixes guarús liitiitlii, 74 F. 2014, Dissertação (Mestre em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais), Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2014.

COBANOGLU, H. et al., Results of buccal micronucleus cytome assay in pesticide-exposed and non-exposed group, Environmental Science and Pollution Research, v. 26, 2019.

COIMBRA, R. S. C. et al., Metal loads and biomarker suite responses in a tropical carnivorous fish indicative of anthropogenic impacts in a Southeastern Brazilian lagoon, Environ Monit Assess, v. 190, n. 9, 2018.

COSTA, A.; SHYAMA, S. K.; KUMAR, M. K. P. Bioaccumulation of trace metals and total petroleum and genotoxicity responses in an edible fish population as indicators of marine pollution, Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 142, p. 22-28, 2017.

D'COSTA, A.; SHYAMA, S. K.; KUMAR, P. Bioaccumulation of trace metals and total petroleum and genotoxicity responses in an edible fish population as indicators of marine pollution, Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 142, 2017.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Towards a water and food secure future: critical perspectives for policy-makers. Rome: FAO, 2015.

FU, H. et al., Acetylcholinesterase is a potential biomarker for a broad spectrum of organic environmental pollutants, Environmental Science e Technology, v. 52, n. 15, 2018.

GAETE, H. et al., Lysosomal Membrane Stability in Hemocytes and Micronuclei in Gills of Perumytilus purpuratus Lamarck 1819 (Bivalvia: Mytilidae) Exposed to Copper, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, v. 103, n. 6, p. 796-801, 2019.

GALLÃO, M., et al., The Impact of Sublethal Concentrations of Treated Leachate on Nile tilápia (Oreochromis niloticus), Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, v. 120, n. 11, 2019.

GARCIA, J. M. et al., Degradação ambiental e qualidade da água em nascentes de rios urbanos, Sociedade e Natureza, v. 30, n. 1, p. 228-254, 2018.

GOMES, J. B. et al., Evaluation of aquatic contamination in an urban lagoon environment in a coastal region in the north of brazil, Bioscience Journal, v. 35, n. 3, p. 920-932, 2019.

HAMED, H. S. Impact of a Short – Term Malathion Exposure of Nile Tilapia, (Oreochromis niloticus): The Protective Role of Selenium, International Journal of Environmental Monitoring and Analysis, v. 3, n. 5-1, p. 30-37, 2015.

HOLTH, T. F. et al., Effects of water accommodated fractions of crude oils and diesel on a suite of biomarkers in Atlantic cod (Gadus morhua), Aquatic Toxicology, 2014.

KHALEK, A. A. A.; MORSY, K. SHATI, A. Comparative Assessment of Genotoxic Impacts Induced by Zinc Bulkand Nano-Particles in Nile tilapia, Oreochromis niloticus, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, v. 104, n. 1, 2020.

KNAPIK, L. F. O.; RAMSDORF, V. Ecotoxicity of malathion pesticide and its genotoxic effects over the biomarker comet assay in Daphnia magna, Environ Monit Assess, v. 192, n. 5, 2020.
KROON, F.; STRETEN, C.; HARRIES, S. A protocol for identifying suitable biomarkers to assess fish health: A systematic review, PLoS One, v. 12, n. 4, 2017.

LAPUENTE, J. et al. The comet assays and its applications in the field of ecotoxicology: a mature tool that continues to expand its perspectives. Frontiers in Genetics., v. 6, 2015.

LAVRADAS, R. T. et al., Investigation of thermostable metalloproteins in Perna perna musselsfrom differentially contaminated areas in Southeastern Brazil bybioanalytical techniques, Journal of Trace Elements in Medicine and Biology v. 34, 2016.

LEGGIERI, L. R. et al., Gills CYP1A of Oncorhynchus mykiss as a sensitive biomarker of crude oil pollution in freshwater environments, Environmental Toxicology and Pharmacology, v. 67, p. 61-65, 2019.

LEITE, K. A. S.; ZANDONATO, V. V.; FLUMINHAN, A. Avaliação da genotoxicidade provocada por fatores ambientais em Tradescantia pallida cv purpurea através do ensaio cometa, IX Fórum Ambiental da Alta Paulista, v. 9, n. 11, P. 399-417, 2013.

LIMA, P. A. S. Análise morfológica e detecção de micronúcleo em hemócitos de biomphalaria glabrata exposto ao oxifluorfen (GOAL BR®), 48 F. 2011, Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2011.

LOUREIRO, S. N. Efeitos da poluição aquática e do ectoparasitismo sobre distintos órgãos de peixes de água doce: uma abordagem em baixo nível de organização biológica, 108 F. 2017, Tese (Doutora em Ecologia Aquática e Pesca), Universidade Federal do Pará, Belém 2017.

MARCONI, M. A; LAKATOS, E. M. Fundamentos de metodologia científica, 7º Ed. São Paulo: Atlas, 2010.

MENEZES, C. T. B. et al., Percepção de impactos socioambientais e a gestão costeira: estudo de caso em uma comunidade de pescadores no litoral sul de Santa Catarina, Brasil, R. gest. sust. ambient., v. 8, n. 3, p. 457-481, 2019.

MIGUEL, F. L. F. Acções para diminuir os impactos ambientais aquáticos resultantes da ausência de drenagem pluvial sobre o rio cacolo, Revista Electrónica KULONGESA, v. I, n. 1, 2019.

MORAIS, M. V. A. et al., Análise físico-química e microbiológica do lixiviado do aterro sanitário no município de rio branco – Acre, South American Journal of Basic Education, Technical and Technological, v. 7, n. 1, p. 282-292, 2020.

MORENO, D. H. et al., Brain biomarkers in tench (Tinca tinca L.) after semi-static exposure to the pesticide carbofuran, Rev Colomb Cienc Pecu, v. 32, n. 3, 2019.

MOORE, M. N.; ALLEN, J. I.; MCVEIGH, A. Environmental prognostics: An integrated model supporting lysosomal stress responses as predictive biomarkers of animal health status, Marine Environmental Research, v. 61, 2006.

NOGUEIRA, L. A. M. Análise dos efeitos de fármacos no meio ambiente aquático – uso de biomarcadores, 43 F. 2013, Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas), Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013.

NOGUEIRA, L. S. P. et al., Uso de ferramentas químicas e biológicas na avaliação de ambientes contaminados por hidrocarbonetos policíclicos e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos, Ciência e Saúde Coletiva, v. 12, n. 1, 2007.

OLIVEIRA, L. L. D. Biomarcadores enzimáticos e testes ecotoxicológicos na avaliação de toxicidade de fármacos em invertebrados aquáticos, 279 F. 2014, Tese (Doutor em Ciências da Engenharia Ambiental), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

PURIFICAÇÃO JÚNIOR, A. F. et al., Microbiota sampled from a polluted stream in Recife- PE, Brazil and its importance to public health, African Journal of Microbiology Research, v. 11, n. 28, 2017.

RAINONE, A. et al., Clinically relevant of cytochrome p450 family enzymes for drug-drug, WCRJ, v. 2, n. 2, 2015.

RAJESHKUMAR, S.; MINI, J.; MUNUSWAMY, N. Effects ofheavy metal sonante oxidant sand expression of HSP70 in differenttissuesofMilk fish (Chanos chanos) of Kaattuppalli Island, Chennai, India, Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 98, p. 8-18, 2013.

REIMANN, M. M. Utilização de enzimas citocromo P- 450 de tilápias (Oreochromis niloticus niloticus) como biomarcadores no monitoramento da qualidade da água do Rio Guandu, 39 F. 2012, Trabalho de conclusão de curso (Ciências Biológicas), Centro Universitário Estadual da Zona Oeste, Rio de Janeiro, 2012.

RIBEIRO, M. F. R.; NUNES, J. L. S. Comparação de dois métodos de análise de impacto ambiental no Rio Munim, Boletim do Laboratório de Hidrobiologia, v. 27, n. 19-24, 2017.

RIVERO, C. L. G. Perfil da frequência de micronúcleos e de nados no DNA de diferentes espécies de peixes do lago Paranoá, Brasilia-DF, Brasil, 113 F. 2007, Dissertação (Mestre Patologia Molecular), Universidade de Brasília, 2007.

SANTANA, M. S. et al., Biomarker responses in fish exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): Systematic review and meta-analysis, Environmental Pollution, v. 242, 2018.

SANTOS, D. R. Uso de biomarcadores na avaliação da resposta de peixes à poluição aquática nos reservatórios do iraí e passaúna, 94 F. 2013, Dissertação (Mestre em Biologia Celular e Molecular), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

SANTOS, M. S. et al., Avaliação da qualidade da água do Rio dos Sinos (Brasil) por meio do teste de micronúcleos em Cyprinus carpio e de análises físico-químicas e microbiológicas, Acta Toxicol. Argent. v. 24, n. 3, 2016.

SAVASSI, L. A. Efeitos da contaminação por metais pesados e biomarcadores de impacto ambiental em peixes da bacia do rio São Francisco, MG, 59 F. 2019, Tese (Doutor em Ciências), Universidade Federal de Minas Gerais, 2019.

SEVCIKOVA M.et al., Effect of Metals on Metallothionein Content in Fish from Skalka and Želivka Reservoirs, Int. J. Electrochem. Sci., v. 8, 2013.

SILVA, A. C. A. Biomarcadores de Contaminação Ambiental, 72 F. 2016, Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas), Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2016.

SINGH, M. et al., Distinctive fingerprints of genotoxicity induced by As, Cr, Cd, and Ni in a freshwater fish, Environmental Science and Pollution Research, v. 26, n. 2, 2019.

SOUZA, D. G. et al., Aplicação de técnicas de análise exploratória no monitoramento da qualidade da água do rio Cuiá, João Pessoa-PB, Ambiência - Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais, v. .15 n. .1, 2019.

SOUZA, I. C. et al., Avaliação da resposta celular do mexilhão Perna perna (Linnaeus, 1758) na Baía do Espírito Santo por meio do tempo de retenção do vermelho neutro (TRVN), Natureza Online, v. 9, n. 2, 2011.

TROMBETTA, L. J. et al., Resíduos orgânicos e suas implicações com o carbono orgânico e microbiota do solo e seus potenciais poderes poluentes, Braz. J. of Develop, v. 6, n. 7, p. 43996-44005, jul. 2020.

VASCO, G. et al., Biomarcadores para avaliação de alterações na qualidade ambiental de ambientes aquáticos, Regulamentação Ambiental, Desenvolvimento e Inovação, 2016.

VENTURA, L. et al., Single Cell Gel Electrophoresis (Comet) assay with plants: Research on DNA repair and ecogenotoxicity testing, Chemosphere, v. 92, p. 1-9, 2013.

VIEIRA, L. M. et al., Historical Pollution of an Urban Watershed Based in Geochemical, Geoacumulation, and EROD Activity in PLHC-1 Analyses in Sediment Cores, Arch Environ Contam Toxicol, v. 72, n. 2, 2018.

WANG, L. et al., Olfactory Transcriptional Analysis of Salmon Exposed to Mixtures of Chlorpyrifos and Malathion Reveal Novel Molecular Pathways of Neurobehavioral Injury, Toxicological Sciences, v. 149, n. 1, 2016.

YAMAMOTO, F. Y. Avaliação da qualidade da água e detecção de desreguladores endócrinos em cinco reservatórios do rio iguaçu, 197 F. 2016, Tese (Doutor em Biologia Celular e Molecular), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

## 4.2 ARTIGO DE REVISÃO

A revisão sistemática sobre o estado-da-arte: MICROBIOTA AQUÁTICA: PREDOMINÂNCIA DE BACTÉRIAS EM AMBIENTES DE ÁGUA DOCE foi construída na forma de artigo.

**ARTIGO**

# MICROBIOTA AQUÁTICA: PREDOMINÂNCIA DE BACTÉRIAS EM AMBIENTES DE ÁGUA DOCE

Karolayne Silva Souza[1]; Milena Roberta Freire da Silva[1]; Ilton Palmeira da Silva[2]; Lívia Caroline Alexandre de Araújo[1]; Maria Betânia Melo de Oliveira[1]

*[1]Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE*
*[2]Centro Universitário do Rio São Francisco – UniRios*

**Autor correspondente:**
Prof.ª Maria Betânia Melo de Oliveira
Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Bioquímica
E-mail: maria.bmoliveira@ufpe.br

**Resumo**

Os ambientes de água doce são os principais ecossistemas que estão sujeitos a diversos impactos antropogênicos, o que tem causado a veiculação hídrica de doenças causadas principalmente por bactérias. O objetivo principal deste trabalho foi realizar uma análise sistemática através da literatura sobre os principais microrganismos encontrados em ambientes aquáticos impactados de água doce e relacionar os dados com os riscos para a saúde pública. Esta revisão foi conduzida, planejada e relatada seguindo o protocolo PRISMA, dos quais, utilizou-se a estratégia PECO. As buscas por estudos foram realizadas a partir das bases eletrônicas *PubMed*, Medline e *LILACS* em setembro de 2021, utilizando a estratégia de busca controlada: “Bacteria” AND “Ecosystem” AND “Enviroment” AND “Aquatic” AND “Impacted. Sendo assim, foram considerados elegíveis os estudos que atendenssem os critérios de eligibilidade, contando

com a participação de dois revisores independentes. Um total de 1058 trabalhos foram encontrados, dos quais, apenas 31 foram elegíveis para compor os resultados dessa revisão sistemática. Diante dos resultados, observou-se que os gêneros bacterianos predominantes em água doce são: *Pseudomonas, Aeromonas e Escherichia*, tendo o continente asiático apresentado maior variedades de espécies bacterianas detectadas. Esses microrganismos são responsáveis por ocasionar doenças que podem levar o indivíduo a óbito, o que mostra a importância do monitoramento constante deste ambientes por meio deste parâmetro.

**Palavras-Chave:** Água. Microrganismos. Patogenicidade. Incidência.

## Introdução

A água é um dos recursos indispensáveis à manutenção da vida. Entretanto, atividades antropogênicas têm ocasionados graves problemas de poluição, principalmente àqueles ambientes de água doce (NGANJE et al., 2020). Um dos principais fatores que causam deteriorizações nestes ecossistemas corresponde ao lançamento de efluentes sem tratamento prévio, principalmente pelas atividades agrícolas, industriais e pecuárias, podendo acarretar danos à saúde das pessoas e aos organismos que ali habitam (GARCÍA et al., 2020).

A água pode veicular bactérias danosas à saúde, visto que, estes microrganismos podem causar doenças de veiculação hídrica capazes de levar ao óbito, conhecidos por se adaptarem aos mais distintos ambientes de forma isolada ou agrupada (MURRAY et al., 2020). Estes microrganismos, por sua vez, possuem papel fundamental no fornecimento de resistência e resiliência contra alterações/poluições, os quais são capazes de mensurar os estressores ambientais presentes pela prática e/ou manejo inadequados destes ecossistemas (GARCIA et al., 2018).

Segundo a Organização das Nações Unidas (ONU), a maior parte das doenças e óbitos em países em desenvolvimento são ocasionadas por doenças de veiculação hídrica por microrganismos, principalmente pela falta de saneamento, dos quais, podem elevar os gastos com internações hospitalares

(PINTANEL; CECCONELLO; CENTENO, 2021), representando, portanto, risco à saúde humana, causando cerca de aproximadamente 870.000 mortes ao ano (MELLO, 2020, AMORIM et al., 2021).

Portanto, a investigação de microrganismos em ambientes aquáticos de água doce é fundamental para avaliar mudanças nestes ecossistemas. Sendo assim, o objetivo principal deste artigo foi realizar uma análise sistemática por meio da literatura sobre os principais microrganismos encontrados em ambientes aquáticos impactados de água doce e relacionar os dados com os riscos para a saúde pública.

## Metodologia

### Protocolo

Esta revisão sistemática foi conduzida de acordo com os Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA), sendo organizada nas fases de planejamento, condução e relato dos dados.

### Critérios de elegibilidade

Utilizou-se a estratégia PECO para a condução desta revisão sistematizada: População – Microrganismos, Exposição – Ambientes aquáticos de água doce, Comparação – não aplicável e *Outcomes* (desfecho) – Principais microrganismos encontrados em ambientes aquáticos de água doce.

Considerou-se elegíveis estudos que contemplassem os principais microrganismos isolados em ambientes aquáticos de água doce sem restrições de ano e/ou idioma. A exclusão competiu a arquivos editoriais, documentos de discussão geral, comentários, cartas, estudos com dados incompletos ou insuficientes (estudos que não continham informações de metodologia de identificação de microrganismos) e duplicatas.

## Fontes de Informação e Pesquisa

As buscas foram realizadas nas bases eletrônicas *PubMed*, Medline e *LILACS* em setembro de 2021. A definição dos descritores e sinônimos foram selecionados no Medical Subject Headings (MeSH) e Decs (Descritores de Ciências da Saúde), dos quais, também foram utilizadas palavras-chaves para auxiliar na estratégia de busca controlada dos estudos científicos. Portanto, os termos resultantes para a estratégia de busca foram: “Bacteria” AND “Ecosystem” AND “Enviroment” AND “Aquatic” AND “Impacted”.

## Seleção de Estudos

A seleção de estudos contou com a participação de dois revisores independentes, dos quais, tornou-se a seleção confiável, de forma separada e cega, visto que, considerou-se as variáveis: Motivos de inclusão e exclusão dos estudos. A 1ª Etapa consistiu na análise de estudos por título, de modo que, foram eliminadas duplicatas. A 2ª etapa foi composta pela discussão dos critérios de elegibilidade, com a relação da estratégia PECO, visto que, foram eliminados estudos que não se relacionavam com a estratégia proposta. A 3ª e última etapa contou com a eliminação de estudos após leitura do resumo e leitura completa dos estudos, dos quais, não forneciam informações e dados suficientes para a condução desta revisão sistemática, como: Gênero e espécie dos microrganismos e o tipo de ambiente do estudo.

## Processo de Coleta de Dados

Logo após a seleção de estudos foram extraídas informações através de um formulário criado pelos autores com o propósito de registrar os dados dos estudos selecionados, na qual utilizou-se um protocolo definido. Os itens inclusos consistiram: Primeiro autor, ano de publicação, local do estudo, gênero e espécie do microrganismo isolado e tipo de ambiente que o autor (es) realizou o estudo, sendo assim tabuladas em uma planilha Excel. Quaisquer cálculos necessários para os dados foram realizados por dois pesquisadores, e caso houvesse discrepâncias, seriam resolvidas por meio de discussão em

grupo.

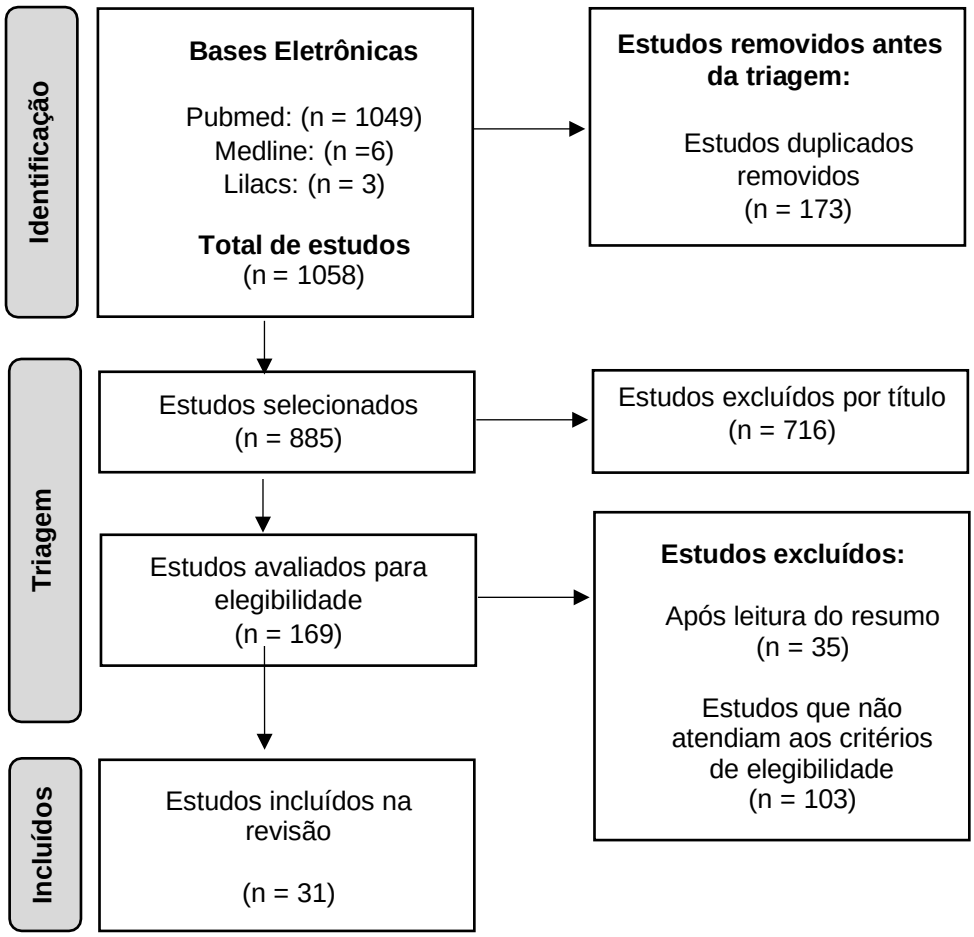
Risco de viés

O risco de viés foi avaliado utilizando a lista de verificação de avaliação crítica do Instituto Joanna Briggs (JBI) para pesquisa qualitativa (LOCKWOOD et al., 2017). A classificação do risco consistiu em: Alto (maior que 49% dos estudos pontuando em “sim”), Moderado (estudos alcançando 50 a 69% de pontuação “sim”) e Baixo (estudos atingindo maior que 70% a pontuação “sim”), sendo assim, excluídos àqueles que apresentassem alto viés de publicação. Diante disso, dois revisores avaliaram cada estudo de modo independente, e, em seguida, as informações foram verificadas, de modo que, havendo ambiguidade, um terceiro revisor foi envolvido na avaliação de viés dos estudos.

## Resultados

De acordo com as buscas realizadas nas bases eletrônicas, obteve-se uma totalidade de 1058 estudos, dos quais, 173 foram eliminados por duplicação, 716 por título e 103 por não atenderem aos critérios de elegibilidade, contabilizando um apanhado total de 31 estudos incluídos nesta revisão sistemática. A Figura 1 corresponde ao fluxograma demonstrando os respectivos dados quantitativos e qualitativos da exclusão e inclusão dos artigos.

s




**Fonte:** Autores, 2021.

Diante dos estudos elegíveis, foi realizada uma primeira análise identificando a predominância dos microrganismos nos ambientes aquáticos distribuídos nos diferentes continentes. Como primeiro resultado, observou-se que os continentes norte americano e asiático tiveram maiores números de estudos publicados sobre este tema, dos quais, a China e os Estados Unidos foram os que mais contemplaram publicações na área. Em relação ao continente latino-americano, o Brasil se destaca como o país que possui maior quantitativo de publicação. A síntese dos dados relacionada às publicações do tema por continente e seus respectivos países pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1 - Síntese quantitativa de publicações por continente e países.

| CONTINENTE | PAÍSES | ESTUDOS | Nº | Total |
|---|---|---|---|---|
| **África** | República Democrática do Congo | Laffite et al., 2016 | 1 | 1 |
| **América do Norte** | Canadá | Gromala; Neufeld; Mcconkey, 2021 | 1 | 9 |
| | EUA | Williams et al., 2018, Choi; Dunams; Jiang, 2010, Chu et al., 2018, Skwor et al., 2020, Harmon et al., 2019, Londono et al., 2019, Bared et al., 2013 | 7 | |
| | México | Brito et al., 2015 | 1 | |
| **América do Sul** | Brasil | Carvalho et al., 2007, Conte et al., 2021, Regina et al., 2021, Purificação et al., 2017 | 4 | 6 |
| | Colômbia | Perlaza et al., 2019 | 1 | |
| | Chile | Leon et al., 2012 | 1 | |
| **Ásia** | China | Chen et al., 2019, Li et al., 2019, Liang et al., 2020, Liao et al., 2018, Niu et al., 2019, Xiao et al., 2013, Xie et al., 2021, Zhang et al., 2020 | 8 | 9 |
| | Japão | Miyagi et al., 2019 | 1 | |
| **Europa** | Espanha | Piedra et al., 2017 | 1 | 6 |
| | França | Devarajan et al., 2015, Girlich, Poirel, Nordmann, 2011 | 2 | |
| | Itália | Adelowo; Akinlabi; Fagade, 2012 | 1 | |
| | Portugal | Tacao; Correia; Henriques, 2015 | 1 | |
| | Suíça | Corno et al., 2014 | 1 | |

**Fonte:** Autores, 2021.

No que se refere aos principais gêneros e espécies de microrganismos encontrados nestes ambientes, pode-se observar a distribuição qualitativa na Tabela 2. Foi observado um total de 99 diferentes gêneros bacterianos e 150 espécies

Tabela 2 - Síntese qualitativa dos principais gêneros e espécies de microrganismos encontrados em ambientes de água doce impactados.

| GÊNERO | ESPÉCIE | TIPO DE AMBIENTE | ESTUDOS |
|---|---|---|---|
| ***Aeromonas*** | *Aeromonas Spp.* | Rio, Lagoa | Chu et al., 2018, Liang et al., 2020, Regina et al., 2021, Girlich; Poirel; Nordmann, 2011 |
| | *A. veronii* | Águas Residuais, Rio, Lagoa | Brito et al., 2015, Skwor et al., 2020, Harmon et al., 2019, Tacao; Correia; henriques, 2015, Conte et al., 2021 |
| | *A. caviae* | Águas Residuais | Conte et al., 2021, Skwor et al., 2020 |
| | *A. sanarelli* | Águas Residuais | Conte et al., 2023 |
| | *A. hydrophila* | Águas Residuais, Lagoa, Rio | Conte et al., 2024, Corno et al., 2014, Skwor et al., 2020, Tacao; Correia; henriques, 2015 |
| | *A. jandaei* | Rio | Skwor et al., 2020, Tacao; Correia; henriques, 2015 |
| | *A. média* | | Skwor et al., 2020 |
| ***Acidovorax*** | *Acidovorax Spp.* | Riacho | Londono et al., 2019 |
| ***Acinetobacter*** | *Acinetobacter Spp.* | Lagoa, Rio, Riacho | Chu et al., 2018, Gromala; Neufeld; Mcconkey, 2021, Liao et al., 2018, Londono et al., 2019, Regina et al., 2021, Zhang et al., 2020 |
| ***Alkaliphilus*** | *Alkaliphilus Spp.* | Rio | Niu et al., 2019 |
| ***Anammoxglobus*** | *Anammoxglobus Spp.* | | Chen et al., 2019 |
| ***Aquabacterium*** | *Aquabacterium Spp.* | Lagoa | Li et al., 2019 |
| ***Arenimonas*** | *Arenimonas Spp.* | | Li et al., 2020 |
| ***Arcicella*** | *Arcicella Spp.* | Riacho | Londono et al., 2019 |
| ***Arcobacter*** | *Arcobacter Spp.* | Lagoa | Li et al., 2019 |
| ***Armatimonas*** | *Armatimonas Spp.* | Riacho | Londono et al., 2019 |
| ***Bacillus*** | *Bacillus Spp.* | Lagoa, Rio | Li et al., 2019, Niu et al., 2019 |
| | *B. cereus* | Riacho | Adelowo; Akinlabi; Fagade, 2012 |
| | *B. subtilis* | | Adelowo; Akinlabi; Fagade, 2013 |
| | *B. licheniformis* | | Adelowo; Akinlabi; Fagade, 2014, Purificação et al., 2017 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | *B. pumilis* | | Purificação et al., 2017 |
| ***Bacteroides*** | *Bacteroides Spp.* | Rio, Lagoa | Perlaza et al., 2019, Regina et al., 2021, Williams et al., 2018 |
| ***Brevundimonas*** | *Brevundimonas Spp.* | Lagoa | Gromala; Neufeld; Mcconkey, 2021 |
| | *B. intermedia* | | Corno et al., 2014 |
| | *B. vesiculares* | Riacho | Londono et al., 2019 |
| ***Brocadia*** | *Brocadia Spp.* | Rio | Chen et al., 2019 |
| ***Burkholderia*** | *B. cepacia* | Riacho | Adelowo; Akinlabi; Fagade, 2014 |
| ***Chromobacterium*** | *C. haemolyticum* | Rio | Tacao; Correia; henriques, 2015 |
| ***Citrobacter*** | *C. diversus* | Riacho | Miyagi et al., 2019 |
| ***Clostridium*** | *Clostridium Spp.* | Lagoa | Li et al., 2019 |
| ***Cronobacter*** | *Cronobacter Spp.* | Rio | Niu et al., 2019 |
| ***Cryobacterium*** | *Cryobacterium Spp.* | Riacho | Londono et al., 2019 |
| ***Cupriavidus*** | *C. gilardii* | Lagoa | Harmon et al., 2019 |
| ***Delftia*** | *D. tsuruhatensis* | Riacho | Londono et al., 2019 |
| ***Desulfatiglans*** | *Desulfatiglans Spp.* | Lagoa | Li et al., 2019 |
| ***Desulfatirhabdium*** | *D. butyrativorans* | | Williams et al., 2018 |
| ***Desulfobacca*** | *Desulfobacca Spp.* | | Li et al., 2019 |
| ***Dolichospermum*** | *Dolichospermum Spp.* | Rio | Liao et al., 2018 |
| ***Enterobacter*** | *Enterobacter Spp.* | | Regina et al., 2021 |
| | *E. clocae* | Riacho, Rio | Purificação et al., 2017, Miyagi et al., 2019, Piedra et al., 2017 |
| | *E. aerogenes* | Riacho | Miyagi et al., 2019 |
| | *E. asburiae* | Lagoa, Rio | Harmon et al., 2019, Tacao; Correia; henriques, 2015 |
| | *E. ludwigii* | Rio | Tacao; Correia; henriques, 2015 |
| ***Enterococcus*** | *Enterococcus Spp.* | Lagoa, Águas Residuais | Devarajan et al., 2015, Laffite et al., 2016 |
| ***Escherichia*** | *Escherichia Spp.* | Lagoa | Chu et al., 2018 |
| | *E. coli* | Rio, Águas Residuais, Lagoa | Adelowo; Akinlabi; Fagade, 2014, Bared et al., 2013, Perlaza et al., 2019, |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | | | Purificação et al., 2017, Miyagi et al., 2019, Piedra et al., 2017, Laffite et al., 2016, Devarajan et al., 2015 |
| | *E. coli enterohemorrágica* | Rio | Xiao et al., 2013 |
| ***Exiguobacterium*** | *Exiguobacterium Spp.* | Rio, Lagoa | Zhang et al., 2020, Liao et al., 2018 |
| ***Faecalibacterium*** | *Faecalibacterium Spp.* | Rio | Perlaza et al., 2019 |
| ***Flavobacterium*** | *Flavobacterium Spp.* | Lagoa, Rio, Riacho | Li et al., 2019, Liao et al., 2018, Londono et al., 2019, Xie et al., 2021 |
| | *F. aquatile* | Riacho | Adelowo; Akinlabi; Fagade, 2014 |
| | *F. rigense* | | |
| ***Fluoribacter*** | *F. dumoffii* | Rio | Carvalho et al., 2007 |
| ***Fluviicola*** | *Fluviicola Spp.* | Rio, Riacho | Liao et al., 2018, Londono et al., 2019 |
| ***Francisella*** | *Francisella Spp.* | Lagoa | Chu et al., 2018 |
| ***Gaiella*** | *Gaiella Spp.* | | Li et al., 2019 |
| ***Geobacter*** | *Geobacter Spp.* | | Williams et al., 2018 |
| ***Haliangium*** | *Haliangium Spp.* | | Li et al., 2019 |
| ***Helicobacter*** | *Helicobacter Spp.* | | Chu et al., 2018 |
| ***Jetternia*** | *Jetternia Spp.* | Rio | Chen et al., 2019 |
| ***Klebsiella*** | *K. pneumoniae* | Riacho, Rio | Adelowo; Akinlabi; Fagade, 2014, Purificação et al., 2017, Piedra et al., 2017, Miyagi et al., 2019 |
| | *K. aerogenes* | Riacho | Adelowo; Akinlabi; Fagade, 2014 |
| | *K. ozaenae* | | Miyagi et al., 2019 |
| | *K. oxytoca* | Rio | Piedra et al., 2017 |
| ***Kuenenia*** | *Leclercia Spp.* | Rio | Liang et al., 2020 |
| ***Leclercia*** | *Legionella Spp.* | Lagoa | Chu et al., 2018 |
| ***Legionella*** | *L. pneumophila* | Rio | Carvalho et al., 2007 |
| | *L. birminghamensis* | | |
| | *L. bozemonil* | | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | *L. lytica* | | |
| ***Liminohabitans*** | *Liminohabitans Spp.* | Rio, Lagoa | Liang et al., 2020, Perlaza et al., 2019, Xie et al., 2021, Zhang et al., 2020 |
| ***Luteolibacter*** | *Luteolibacter Spp.* | Rio | Liao et al., 2018 |
| | *L. agae* | Riacho | Londono et al., 2019 |
| ***Malikia*** | *Malikia Spp.* | Lagoa | Li et al., 2019 |
| ***Massilia*** | *Massilia Spp.* | | |
| ***Methylobacter*** | *M.tundripaludum* | | Williams et al., 2018 |
| ***Methylobacterium*** | *M. tardum* | Riacho | Londono et al., 2019 |
| ***Methylocaldum*** | *Methylocaldum Spp.* | | |
| ***Methylosinus*** | *Methylosinus Spp.* | Rio | Perlaza et al., 2019 |
| ***Methylotenera*** | *M. mobilis* | | Liao et al., 2018 |
| ***Methyloterna*** | *M. versitalis* | Lagoa | Williams et al., 2018 |
| ***Micrococcus*** | *M. luteus* | | Corno et al., 2014 |
| ***Microcystis*** | *Microcystis Spp.* | Rio | Liao et al., 2018 |
| ***Moraxella*** | *Moraxella Spp.* | Lagoa | Chu et al., 2018 |
| ***Mycobacterium*** | *Mycobacterium Spp.* | Rio, Lagoa | Zhang et al., 2020 |
| | *M.smegmatis* | Rio | Brito et al., 2015 |
| ***Neisseria*** | *Neisseria Spp.* | Lagoa | Chu et al., 2018 |
| ***Nitrosospira*** | *N. briensis* | | Williams et al., 2018 |
| ***Nitrospira*** | *Nitrospira Spp.* | Rio, Lagoa | Li et al., 2019, Zhang et al., 2020 |
| ***Novosphingobium*** | *Novosphingobium Spp.* | Lagoa | Li et al., 2019 |
| | *N. subterraneum* | Riacho | Londono et al., 2019 |
| ***Opitutus*** | *Opitutus Spp.* | | |
| ***Paenibacillus*** | *Paenibacillus Spp.* | Rio | Niu et al., 2019 |
| ***Pantoea*** | *Pantoea Spp.* | | Liao et al., 2018 |
| ***Phenylobacterium*** | *Phenylobacterium Spp.* | Riacho | Londono et al., 2019 |
| ***Polynucleobacter*** | *Polynucleobacter Spp.* | Rio | Liang et al., 2020, Perlaza et al., 2019 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| ***Proteus*** | *P. vulgaris* | Riacho | Adelowo; Akinlabi; Fagade, 2014 |
| | *P. mirabilis* | | Purificação et al., 2017, Miyagi et al., 2019 |
| ***Providencia*** | *P. alcaligenes* | Rio | Tacao; Correia; henriques, 2015 |
| ***Pseudomonas*** | *Pseudomonas Spp.* | Lagoa, Águas Residuais, Rio | Devarajan et al., 2015, Gromala; Neufeld; Mcconkey, 2021, Laffite et al., 2016, Leon et al., 2012, Li et al., 2019, Liang et al., 2020, Liao et al., 2018, Regina et al., 2021, Girlich; Poirel; Nordmann, 2011 |
| | *P. putida* | Lagoa, Riacho, Rio | Adelowo; Akinlabi; Fagade, 2014, Leon et al., 2012, Purificação et al., 2017 |
| | *P.aeruginosa* | Rio | Brito et al., 2015, Tacao; Correia; henriques, 2015 |
| | *P. taiwanensis* | Riacho, Rio | Londono et al., 2019, Tacao; Correia; henriques, 2015 |
| | *P. cedrina* | Lagoa | Harmon et al., 2019 |
| | *P. geniculata* | Lagoa, Rio | Harmon et al., 2019, Tacao; Correia; henriques, 2015 |
| | *P. otitidis* | | |
| | *P. stutzeri* | Lagoa | Harmon et al., 2019 |
| | *P. beteli* | Rio | Tacao; Correia; henriques, 2015 |
| | *P. hibiscicola* | | |
| | *P. protegens* | | |
| ***Pseudoxanthomonas*** | *Pseudoxanthomonas Spp.* | Rio | Liang et al., 2020 |
| ***Psychrobacter*** | *Psychrobacter Spp.* | Lagoa | Gromala; Neufeld; Mcconkey, 2021 |
| ***Rahnella*** | *R. aquatilis* | Riacho | Miyagi et al., 2019 |
| ***Raoultella*** | *R. ornithinolytica* | Rio | Piedra et al., 2017 |
| ***Rhodobacter*** | *Rhodobacter Spp.* | Lagoa, Rio | Li et al., 2019, Perlaza et al., 2019, Liao et al., 2018 |
| ***Rhodococcus*** | *Rhodococcus Spp.* | Lagoa | Corno et al., 2014 |
| | *R. equi* | Riacho | Adelowo; Akinlabi; Fagade, 2014 |
| ***Rhodoferax*** | *Rhodoferax Spp.* | Rio | Liang et al., 2020 |
| | *R. ferrireducens* | Lagoa | Williams et al., 2018 |
| ***Rhodoluna*** | *Rhodoluna Spp.* | | Xie et al., 2021 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| ***Rickettsia*** | *Rickettsia Spp.* | | Chu et al., 2018 |
| ***Roseburia*** | *Roseburia Spp.* | Rio | Perlaza et al., 2019 |
| ***Ruminococcus*** | *Ruminococcus Spp.* | | Perlaza et al., 2019 |
| ***Salmonella*** | *Salmonella Spp.* | | Xiao et al., 2013 |
| ***Scalindua*** | *Scalindua Spp.* | | Chen et al., 2019 |
| ***Sediminibacterium*** | *Sediminibacterium Spp.* | | Liao et al., 2018 |
| ***Serratia*** | *S. rubidaea* | Riacho | Miyagi et al., 2019 |
| ***Shewanella*** | *Shewanella Spp.* | Rio | Liang et al., 2020, Liao et al., 2018 |
| | *S. xiamenensis* | | Tacao; Correia; henriques, 2015 |
| ***Sideroxydans*** | *S. lithotrophicus* | Lagoa | Williams et al., 2018 |
| ***Sphingomonas*** | *Sphingomonas Spp.* | | Leon et al., 2012 |
| | *S.panni* | Riacho | Londono et al., 2019 |
| ***Sphingopyxis*** | *Sphingopyxis Spp.* | Rio | Liang et al., 2020 |
| ***Sporacetigenium*** | *Sporacetigenium Spp.* | Lagoa | Li et al., 2019 |
| ***Staphylococcus*** | *S. aureus* | Riacho | Adelowo; Akinlabi; Fagade, 2014 |
| | *S. epidermidis* | | |
| ***Stenotrophomonas*** | *S.pavanii* | Riacho | Londono et al., 2019 |
| | *S. maltophilia* | Lagoa, Rio | Harmon et al., 2019, Girlich; Poirel; Nordmann, 2011, Tacao; Correia; henriques, 2015 |
| | *S.pavanii* | Lagoa | Harmon et al., 2019 |
| ***Streptococccus*** | *S. agalactiae* | Riacho | Adelowo; Akinlabi; Fagade, 2014 |
| ***Sulfuricella*** | *S. denitrificans* | Lagoa | Williams et al., 2018 |
| ***Sulfuritalea*** | *S. hidrogenívoros* | | |
| ***Synechococcus*** | *Synechococcus Spp.* | Lagoa, Rio | Xie et al., 2021, Zhang et al., 2020 |
| ***Thiocapsa*** | *Thiocapsa Spp.* | Rio | Perlaza et al., 2019 |
| ***Trichococcus*** | *Trichococcus Spp.* | Lagoa | Gromala; Neufeld; Mcconkey, 2021 |
| ***Vibrio*** | *Vibrio Spp.* | Rio | Liang et al., 2020 |

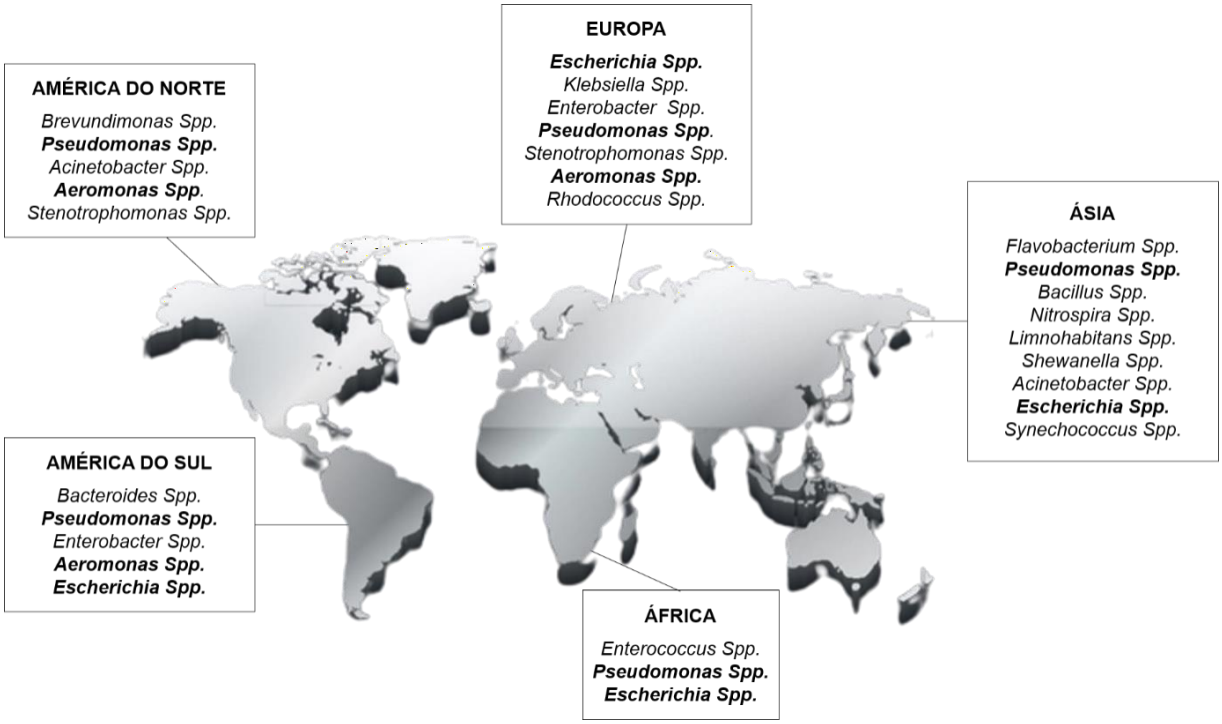
| | | | |
|---|---|---|---|
| | *V. cholerae* | | Choi; Dunams; Jiang, 2010 |
| ***Yersinia*** | *Yersinia Spp.* | Lagoa | Chu et al., 2018 |

**Fonte:** Autores, 2021.

Os gêneros bacterianos que foram encontrados com maior incidência, foram: *Pseudomonas* (n=15), *Aeromonas* (n=11) e *Escherichia* (n=9) e as especies mais abundantes foram*: Pseudomonas – P. putida, P.aeruginosa, P. taiwanensis, P. geniculata, P. otitidis, Aeromonas- A. veronii , A. caviae, A. hydrophila; Bacillus - B. licheniformis; Enterobacter - E. clocae, E. asburiae; Escherichia - E. coli e Klebsiella - K. pneumoniae.*

Em relação a diversidade de microrganismos por continente, foi verificado que os ambientes aquáticos impactados do continente asiático se destacaram, seguido da Europa, América do Norte e Sul e África (Figura 2).

Figura 2 - Distribuição e predominância dos microrganismos pelos continentes.




Fonte: Autores, 2021.

No que diz respeito a avaliação do risco de viés JBI, observou-se que a maior parte das respostas do questionário de avaliação crítica dos 31 estudos consistiram em respostas “Sim” (>70%), indicando que os respectivos estudos obtiveram baixo risco de viés. Sendo assim, possuem uma alta qualidade metodológica.

## Discussões

Os ambientes aquáticos são formados por ecossistemas marinhos e/ou doce. No entanto, os de água doce são os principais ambientes nos quais observa-se uma crescente intervenção antropogênica, como efluentes domésticos, hospitalares, industriais, agrícolas e pecuária (GARCÍA et al., 2020), uma vez que, rios, riachos e águas residuais estão entre as principais fontes que tem sofrido pela contaminação desses emergentes (ARAÚJO; OLIVEIRA, 2013, GIEBUŁTOWICZ et al., 2018).

Sendo assim, a liberação contínua desses compostos orgânicos de origem antropogênica tem ocasionado a degradação ambiental, além de resultar cada vez mais no aparecimento de microrganismos (RESENDE; SILVA; DINIZ, 2020). Esses, apresentam como características principais altas taxas de crescimento além de um metabolismo elevado, dos quais, também possuem particularidades de serem influenciáveis por alterações físico-químicas e pela introdução de compostos orgânicos, inorgânicos e poluentes no meio em que habitam (MARECKOVA et al., 2021).

O presente trabalho realizou uma revisão sistemática, na qual o continente asiático apresentou maior diversidade microbiana quando comparado aos demais continentes, sendo a China, o país que apresentou maior representatividade bacteriana. Considerando as características populacionais e de desenvolvimento que vem ocorrendo ao longo do tempo em suas áreas, sobretudo as áreas urbanas, (NGUYEN et al., 2019, CAO et al., 2020), é provável que estes eventos venham contribuindo para a poluição aquática em ambientes de água doce e, consequentemente maior diversidade bacteriana.

Taxonomicamente, os gêneros *Pseudomonas, Aeromonas e Escherichia* foram os predominantes em todos os continentes. Essas bactérias merecem destaque não apenas por sua predominância, mas por causarem doenças veiculadas a água sendo, portanto, importantes para a saúde pública. Em relação às principais espécies predominantes de gêneros bacterianos isolados pelos estudos, a *P. aeruginosa, A. veronii, A. caviae*, *A. hydrophila, K. pneumoniae* e *E. coli* são as mais relatadas, as quais, possuem capacidades patogênicas preocupantes (JANKOSKI et al., 2018, SOUZA et al., 2019, CHEN et al., 2021).

Um ponto que merece atenção é que quando identificados em ambientes aquáticos, estes microrganismos podem ser utilizados como bioindicador de

contaminações da água, refletindo a qualidade da água, seja para balneabilidade ou para potabilidade. Um exemplo de espécie bacteriana utilizada para avaliar a qualidade da água é a *E. coli;* um dos principais indicadores de contaminações fecais em ambientes aquáticos de água doce; dos quais, possuem fortes relações com riscos de doenças gastrointestinais em seres humanos (JANKOSKI et al., 2018).

Já a *P. aeruginosa* é uma bactéria isolada de forma frequente em lagoas e rios, além de águas residuais devido a elevada carga de nutrientes encontradas nesses ambientes. Estudos recentes, conferem um papel fundamental da água para a colonização desse microrganismo em seres humanos, devido ao fato dessas bactérias possuírem múltiplos fatores de virulência que promovem sua alta patogenicidade (SOUZA et al., 2019).

A *K. pneumoniae* é um microrganismo que pode habitar em ambientes aquáticos, solos, plantas e esgotos. Essa bactéria pode ser isolada da orofaringe, trato gastrointestinal de humanos e mamíferos e fezes de indivíduos sadios, além de ter a capacidade de colonizar humanos de forma assintomática. As principais infecções mais comuns consistem em pneumonia, infecções no trato urinário, feridas, bacteremia e meningite (HOLT et al., 2015).

No que diz respeito as espécies do gênero *Aeromonas*, estas são encontradas em diversos *habitats*, em particular em ambientes aquáticos, dos quais está amplamente difundida. Em ambientes de água doce, estão presentes principalmente em águas residuais, dos quais algumas espécies se apresentam como patógenos zoonóticos relevantes. Dentre estas, a *A. veronii, A. caviae* e a *A. hydrophila* tem sido relacionadas a doenças em seres humanos, em especial com sintomas de diarreia, septicemia e infecções de tecidos moles de feridas após exposição à água, consideradas uma ameaça emergente em diversos ambientes, principalmente à saúde humana (CHEN et al., 2021).

Portanto, a contaminação de microrganismos patogênicos em ambientes aquáticos, principalmente de água doce ocasionou em um extenso problema de saúde pública mundial, sobretudo no que se refere a doenças de veiculação hídrica, visto que, vários desses microrganismos são entéricos e podem levar ao óbito (KELLER; JUSTINO; CASSINI, 2013, JANKOSKI et al., 2018).

## Conclusões

Os estudos dessa revisão sistemática mensuraram que uma extensa diversidade de gêneros e espécies bacterianos foram isolados de ambientes aquáticos de água doce impactados, tendo em vista, que cada continente obteve sua particularidade de variações de microrganismos detectados. Os achados e evidências demonstraram que os gêneros *Pseudomonas, Aeromonas* e *Escherichia* e suas respectivas espécies foram os principais microrganismos isolados, ou seja, demonstraram serem os mais predominantes, o que indica que esses patógenos podem se apresentar como principais indicadores de qualidade em ambientes de água doce que estejam sendo impactos.

Contudo, estes dados sustentam a relevância de uma análise contínua de microrganismos em ambientes aquáticos de água doce, principalmente para avaliação do impacto à fauna local, e a dinâmica da qualidade da água e sobrevivência dos seres que ali estejam, auxiliando no monitoramento deste ecossistema e indicando os possiveis riscos à população que depende direta ou indiretamente destes locais. Os dados apresentado reforçam que estes ambientes não apenas albergam, mas disseminam patógenos, representando risco à saúde pública quando não monitorados ou não preservados.

## Referências

ADELOWO, Olawale Olufemi; AKINLABI, Ismail A.; FAGADE, Obasola Ezekiel. Environmental impact assessment of Attenda abattoir, Ogbomoso southwestern Nigeria on surface and groundwater quality using geo-electrical imaging and microbiological analysis. **Environmental monitoring and assessment**, v. 184, n. 7, p. 4565-4574, 2012.

AMORIM, Carolina Ferreira *et al*., Análise bacteriológica da água em bebedouros de escolas municipais de Feira de Santana/BA. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, p. e40010111742-e40010111742, 2021.

ARAÚJO, Marlyete Chagas de; OLIVEIRA, Maria Betânia Melo de. Monitoramento da qualidade das águas de um riacho da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil. **Revista Ambiente & Água**, v. 8, p. 247-257, 2013.

BARED, Rasha Maal et al. Phenotypic antibiotic resistance of Escherichia coli and E. coli O157 isolated from water, sediment and biofilms in an agricultural watershed in British Columbia. **Science of the Total Environment**, v. 443, p. 315-323, 2013.

BRITO, Elcia MS et al. Impact of hydrocarbons, PCBs and heavy metals on bacterial communities in Lerma River, Salamanca, Mexico: Investigation of hydrocarbon degradation potential. **Science of the Total Environment**, v. 521, p. 1-10, 2015.

CAO, Jingxin et al. A critical review of the appearance of black-odorous waterbodies in China and treatment methods. **Journal of hazardous materials**, v. 385, p. 121511, 2020.

CARVALHO, Fábio RS et al. Phylogenetic study of Legionella species in pristine and polluted aquatic samples from a tropical Atlantic forest ecosystem. **Current microbiology**, v. 55, n. 4, p. 288-293, 2007.

CHEN, Liming et al. Anammox response to natural and anthropogenic impacts over the Yangtze River. **Science of the Total Environment**, v. 665, p. 171-180, 2019.

CHEN, Jung-Sheng et al. Prevalence, virulence-gene profiles, antimicrobial resistance, and genetic diversity of human pathogenic Aeromonas spp. from shellfish and aquatic environments. **Environmental Pollution**, v. 287, p. 117361, 2021.

CHOI, S.; DUNAMS, D.; JIANG, S. C. Transfer of cholera toxin genes from O1 to non-O1/O139 strains by vibriophages from California coastal waters. **Journal of applied microbiology**, v. 108, n. 3, p. 1015-1022, 2010.

CHU, Binh TT et al. Metagenomics reveals the impact of wastewater treatment plants on the dispersal of microorganisms and genes in aquatic sediments. **Applied and environmental microbiology**, v. 84, n. 5, p. e02168-17, 2018.

CONTE, Danieli et al. Antimicrobial resistance in Aeromonas species isolated from aquatic environments in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 131, n. 1, p. 169-181, 2021.

CORNO, Gianluca et al. Antibiotics promote aggregation within aquatic bacterial communities. **Frontiers in microbiology**, v. 5, p. 297, 2014.

DEVARAJAN, Naresh et al. Accumulation of clinically relevant antibiotic-resistance genes, bacterial load, and metals in freshwater lake sediments in Central Europe. **Environmental science & technology**, v. 49, n. 11, p. 6528-6537, 2015.

GIEBUŁTOWICZ, Joanna et al. Occurrence of antimicrobial agents, drug-resistant bacteria, and genes in the sewage-impacted Vistula River (Poland). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 6, p. 5788-5807, 2018.

GIRLICH, Delphine; POIREL, Laurent; NORDMANN, Patrice. Diversity of clavulanic acid-inhibited extended-spectrum β-lactamases in Aeromonas spp. from the Seine River, Paris, France. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 55, n. 3, p. 1256-1261, 2011.

GROMALA, Monica; NEUFELD, Josh D.; MCCONKEY, Brendan J. Monitoring microbial populations and antibiotic resistance gene enrichment associated with Arctic waste stabilization ponds. **Applied and environmental microbiology**, v. 87, n. 7, p. e02914-20, 2021.

HARMON, Dana E. et al. Prevalence and characterization of carbapenem-resistant bacteria in water bodies in the Los Angeles–Southern California area. **Microbiologyopen**, v. 8, n. 4, p. e00692, 2019.

HOLT, Kathryn E. et al. Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, ans antimicrobial resistance in Klebsiella pneumoniae, na urgente threat to public health. **Revista PNAS**, 2015.

HUANG, Yannan et al. Disinfection and removal of human pathogenic bacteria in arctic waste stabilization ponds. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 33, p. 32881-32893, 2018.

JANKOSKI, Priscila Ribeiro et al. Qualidade microbiológica da água da área de preservação ambiental: Fazenda Guajuviras–Canoas (RS). **Nature and Conservation**, v. 11, n. 2, p. 13-21, 2018.

KELLER, R.; JUSTINO, J.F.; CASSINI, S.T.. Assessment of water and seafood microbiology quality in a mangrove region in Vitória, Brazil. **Journal of Water and Health**, Londres, v.11, n.3, p.573-580, 2013.

LAFFITE, Amandine et al. Hospital effluents are one of several sources of metal, antibiotic resistance genes, and bacterial markers disseminated in Sub-Saharan urban rivers. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1128, 2016.

LEON, Carla et al. Metabolic and molecular characterization of bacterial community associated to Patagonian Chilean oligotrophic-lakes of quaternary glacial origin. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1511-1521, 2012.

LI, Yi et al. The responses of bacterial community and N2O emission to nitrogen input in lake sediment: estrogen as a co-pollutant. **Environmental research**, v. 179, p. 108769, 2019.

LIANG, Jinsong et al. Identification and quantification of bacterial genomes carrying antibiotic resistance genes and virulence factor genes for aquatic microbiological risk assessment. **Water research**, v. 168, p. 115160, 2020.

LIAO, Kailingli et al. Integrating microbial biomass, composition and function to discern the level of anthropogenic activity in a river ecosystem. **Environment international**, v. 116, p. 147-155, 2018.

LONDONO, Nathalia et al. Effects of environmentally relevant concentrations of mixtures of TiO2, ZnO and Ag ENPs on a river bacterial community. **Chemosphere**, v. 230, p. 567-577, 2019.

MARECKOVA, Marketa Sagova et al. Expanding ecological assessment by integrating microorganisms into routine freshwater biomonitoring. **Water Research**, p. 116767, 2020.

MELLO, Rafael Reis Pereira Bandeira *et al*., Desafios No Acesso À Água E Saneamento Básico No Brasil E O Controle Da Covid-19. **Revista Augustus**, v. 25, n. 51, p. 281-293, 2020.

MURRAY, Patrick R.; ROSENTHAL, Ken S.; PFALLER, Michael A. **Medical microbiology E-book**. Elsevier Health Sciences, 2020.

MIYAGI, Kazufumi; HIRAI, Itaru. A survey of extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae in environmental water in Okinawa Prefecture of Japan and relationship with indicator organisms. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 8, p. 7697-7710, 2019.

NGUYEN, Thu Thuy et al. Implementation of a specific urban water management-Sponge City. **Science of the Total Environment**, v. 652, p. 147-162, 2019.

NIU, Aping et al. Impact of water quality on the microbial diversity in the surface water along the Three Gorge Reservoir (TGR), China. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 181, p. 412-418, 2019.

PERLAZA, Carlos Eduardo Posada et al. Bogotá River anthropogenic contamination alters microbial communities and promotes spread of antibiotic resistance genes. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2019.

PIEDRA, Núria Carrasco et al. Carbapenemase-producing enterobacteriaceae recovered from a Spanish river ecosystem. **PloS one**, v. 12, n. 4, p. e0175246, 2017.

LOCKWOOD, Craig et al. Systematic reviews of qualitative evidence. **JBI Reviewer's Manual [internet]**, p. 23-71, 2017.

PINTANEL, Suelen Ramires; CECCONELLO, Samanta Tolentino; CENTENO, Luana Nunes. Análise da correlação entre os indicadores de saneamento básico e as doenças de veiculação hídrica em municípios do sul do Rio Grande do Sul. **Revista Ambientale**, v. 13, n. 2, p. 41-52, 2021.

PURIFICAÇÃO, Antonio Fernando da et al. Microbiota sampled from a polluted stream in Recife-PE, Brazil and its importance to public health. **African Journal of Microbiology Research**, v. 11, n. 28, p. 1142-1149, 2017.

REGINA, Ana Luísa Almeida et al. A watershed impacted by anthropogenic activities: Microbial community alterations and reservoir of antimicrobial resistance genes. **Science of The Total Environment**, v. 793, p. 148552, 2021.

RESENDE, Juliana Alves; SILVA, Vânia Lúcia da; DINIZ, Claudio Galuppo. Aquatic environments in the One Health context: modulating the antimicrobial resistance phenomenon. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 32, 2020.

SOUZA, Isabela Alves et al. Análise comparativa dos fatores de virulência dos isolados clínicos e ambientais de pseudomonas aeruginosa. In: **Colloquium Vitae. ISSN: 1984-6436**. 2019. p. 41-50.

SKWOR, Troy et al. Prevalence of potentially pathogenic antibiotic-resistant Aeromonas spp. in treated urban wastewater effluents versus recipient riverine populations: a 3-year comparative study. **Applied and environmental microbiology**, v. 86, n. 3, p. e02053-19, 2020.

TACAO, Marta; CORREIA, António; HENRIQUES, Isabel S. Low prevalence of carbapenem-resistant bacteria in river water: resistance is mostly related to intrinsic mechanisms. **Microbial Drug Resistance**, v. 21, n. 5, p. 497-506, 2015.

XIAO, Guosheng et al. Occurrence and infection risk of waterborne pathogens in Wanzhou watershed of the Three Gorges Reservoir, China. **Journal of Environmental Sciences**, v. 25, n. 9, p. 1913-1924, 2013.

XIE, Guijuan et al. Bacterial diversity, community composition and metabolic function in Lake Tianmuhu and its dammed river: Effects of domestic wastewater and damming. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 213, p. 112069, 2021.

WILLIAMS, Keith Arora et al. Dynamics of microbial populations mediating biogeochemical cycling in a freshwater lake. **Microbiome**, v. 6, n. 1, p. 1-16, 2018.

ZHANG, Lei et al. Linking bacterial community shifts with changes in the dissolved organic matter pool in a eutrophic lake. **Science of the Total Environment**, v. 719, p. 137387, 2020.

## 4.3 ARTIGO EXPERIMENTAL 1

Os resultados do artigo experimental 1: APLICABILIDADE DE TÉCNICAS PARA IDENTIFICAÇÃO MICROBIANA EM UM RIACHO URBANO IMPACTADO estão apresentados no artigo a seguir, a ser submetido para publicação.

**ARTIGO**

# APLICABILIDADE DE TÉCNICAS PARA IDENTIFICAÇÃO MICROBIANA EM UM RIACHO URBANO IMPACTADO

Lívia Caroline Alexandre de Araújo[1], Maria do Carmo Silva Barreto[2], Karolayne Silva Souza[1], Milena Roberta Freire da Silva,[1]Ana Carolina de Oliveira Luz[4], Tereza Cristina Leal-Balbino[4], Márcia Vanusa da Silva[1], Maria Tereza dos Santos Correia[1], Maria Luiza Vilela Oliva[3], Maria Betânia Melo de Oliveira[1*]

*[1]Departamento de Bioquímica – Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brasil.*
*[2]Instituto de Pesquisa Agronômica – IPA, Pernambuco, Brasil.*
*[3]Departamento de Bioquímica, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brasil.*
*[4]Departamento de Microbiologia - Instituto de Pesquisas Aggeu Magalhães, Pernambuco, Brasil.*

*Autor correspondente: e-mail: maria.bmoliveira@ufpe.br

## Resumo

O crescente processo de urbanização e seus impactos ambientais têm interferido na dinâmica dos ecossistemas aquáticos, modificando a estrutura e função das comunidades microbianas. A rápida e acurada identificação de microrganismos presentes nesses ambientes é necessária para o monitoramento de mudanças dessas comunidades e para identificar possíveis riscos à saúde pública. O objetivo do presente estudo foi avaliar a aplicabilidade de técnicas na identificação de bactérias isoladas de um riacho urbano contaminado. Amostras de água foram coletadas de cinco pontos estratégicos (P1-P5) do riacho Cavouco onde 50 isolados foram obtidos e caracterizados morfologicamente (por meio de características

fenotípicas) e molecularmente (através das técnicas de MALDI-TOF-MS e sequenciamento do gene *16S rRNA*). As análises morfológicas revelaram uma uniformidade no formato das colônias e características distintas para os demais parâmetros analisados, não sendo possível, portanto, identificá-las a nível taxonômico. Diferentemente das análises moleculares, onde 86% (n=43) foram identificados ao nível de espécie e 12% (n=7) ao nível de gênero. Nessa caracterização foi verificada uma elevada concordância entre a identificação realizada pelo MALDI-TOF-MS e pelo sequenciamento do gene *16S rRNA*, onde 13 gêneros foram detectados, quatro gram-positivos e nove gram-negativos, evidenciando a importância de um constante e eficaz monitoramento da microbiota local. Os resultados obtidos confirmam a eficiência das técnicas moleculares na identificação de microrganismos e sugerem que, apesar de ser direcionada para bactérias de interesse clínico, a técnica MALDI-TOF-MS é uma alternativa rápida e eficaz na identificação de microrganismos de ambiente impactado.

**Palavras-chaves:** Fenótipo, técnicas moleculares, diversidade.

## Introdução

Os microrganismos são essenciais para o meio ambiente, pois contribuem para a estabilidade dos ecossistemas, participando de vários ciclos biogeoquímicos. No ecossistema aquático, esses organismos participam da decomposição de matéria orgânica em nutrientes e do controle da qualidade da água (MARECKOVA et al., 2020). Nas últimas décadas, esse ambiente tem sido alterado de maneira significativa em função do crescente processo de urbanização, modificando a estrutura e a diversidade da microbiota ali presente (FREITAS et al., 2011; PURIFICAÇÃO et al., 2017).

A identificação e caracterização desses microrganismos são necessárias para entender o impacto ambiental e sua influência na composição e dinâmica local (HEMME et al., 2015; TREXLER et al., 2014), além de reconhecer bactérias patogênicas de importância para saúde pública (MARTIN et al., 2017). Apesar de todas essas contribuições e necessidades, estudos sobre comunidades microbianas ambientais ainda são escassos (KOUBEK et al.,2012; VIVER et al., 2015; AVANZI et

al., 2017).

Tradicionalmente, as técnicas de identificação bacteriana são baseadas nas características morfológicas e fenotípicas e são utilizadas como primeira diferenciação entre as amostras. Contudo, essas técnicas convencionais são, muitas vezes, limitadas por sua baixa capacidade de diferenciação de espécies e pelo custo, além de consumirem tempo e serem laboriosas (WOO et al., 2008; SANTOS et al. 2016).

Com o surgimento da Biologia Molecular, diversas técnicas foram desenvolvidas, contribuindo significativamente para um grande avanço do conhecimento da diversidade microbiana. Dentre essas técnicas, a análise comparativa de sequências nucleotídicas do gene *16S rRNA* tem sido considerada como “padrão ouro” em estudos taxonômicos e filogenéticas (SRINIVASAN et al., 2015).

Recentemente, novas tecnologias têm sido desenvolvidas, como a Matrix-assisted Laser Desorption/ionization-time-of-flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS), que vem sendo utilizada como uma técnica simples, confiável e rápida (BRUYNE et al., 2011; MARTIN et al., 2017; STAROSTIN et al., 2017). Esta é baseada na análise de um *fingerprint* de proteínas ribossomais e outras proteínas básicas que são específicas para cada espécie microbiana (WILKINS et al., 2006; GIEBEL et al., 2010). Dentre suas diversas vantagens, destacam-se: utilização de células intactas de microrganismos que podem ser obtidas diretamente do meio de cultivo, custo-benefício, curto tempo de processamento e análise e alto rendimento (o consumo de material biológico é insignificante) (ALLEN et al., 2015; AVANZI et al., 2017).

Vários estudos têm demonstrado a eficiência e a alta reprodutibilidade desse método, entretanto, a maioria é direcionado para microrganismos de interesse clínico, como *Escherichia coli* e outros membros da família *Enterobacteriacea* (YU et al, 2018), *Staphylococcus aureus* (ZHANG et al., 2015) e *Streptococcus pneumoniae* (NAKANO et al., 2015), com número reduzido de estudos voltados para identificação de bactérias de origem ambiental (VIVER et al., 2015; MARTIN, et al., 2017; TIMPERIO et al., 2017).

O riacho Cavouco corresponde a um riacho urbano impactado o qual recebe um aporte de carga poluidora de resíduos provenientes de laboratórios de ensino e

pesquisa, resíduo de serviço de saúde, além de despejo doméstico oriundos da população circunvizinha. O efeito cumulativo desses resíduos vem provocando mudanças na dinâmica desse ecossistema, alterando de forma expressiva a qualidade da água e contribuindo para a ocorrência e disseminação de bactérias patogênicas (ARAÚJO; OLIVEIRA, 2013; FREITAS et al., 2016; PURIFICAÇÃO et al., 2017).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a aplicabilidade de diferentes técnicas para identificação da microbiota de um ambiente aquático impactado em Recife-Pernambuco, Brasil.

**Materiais e Métodos**

Isolamento e caracterização morfológica

Foram realizadas coletas de água (superfície e a 30 cm de profundidade) em cinco pontos estratégicos do riacho Cavouco de acordo com Purificação-Junior et al. (2016). Para o isolamento bacteriano, foi retirado 50 µl da água coletada e com auxílio de uma alça Drigalski foram semeadas em ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) e Ágar Nutriente (AN). As placas foram incubadas a 37 ºC por 24 e 48 horas e após esse período foi realizada a análise morfológica das colônias isoladas, avaliando as seguintes características: forma, borda, superfície, transparência, coloração, presença de muco e brilho. Os isolados foram identificados com a denominação de P (ponto) com número do local da coleta, S (superfície) ou P (profundidade), seguido de letra referente às colônias isoladas de cada placa.

Identificação por MALDI-TOF-MS

Após 24h de crescimento em meio Brain Heart Infusion (BHI), colônias bacterianas foram ressuspendidas em água deionizada e em seguida realizada a inativação das células e a extração de proteínas pelo método descrito por Starostin et. al. (2015), com algumas modificações. Para análise dos espectros de massa, 1µl de extrato de proteína foi colocado em placa (96 MSP, Bruker Daltonics, EUA), seguida de secagem ao ambiente. A matriz foi preparada com ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico (10 mg/mL) em acetonitrila 50% e ácido trifluoroacético 0,3% e aplicada na placa sobre as amostras para cristalização. A aquisição dos espectros

de MS em modo linear positivo (Voltagem de aceleração: 20 kV e Faixa de detecção - m/z: 2.000 – 20.000) foi realizada pelo Programa Flex Control Version 3.0 em Espectrômetro de Massa MALDI-TOF Autoflex III (BRUKER DALTONICS, BILLERICA, MA, USA).

Cada isolado foi analisado em triplicata, em dois experimentos independentes. Os espectros obtidos foram comparados com o Banco de Dados MALDI Biotyper Version 3.1 e o resultado expresso em valores de similaridades como um *log score*, seguindo os critérios: *scores* maiores que 2.000 indicaram alta probabilidade de identificação de espécie; *scores* maiores que 1.700 identificação em nível de gênero; *scores* menores que 1.700 identificação não confiável (NG et al., 2012; SCHULTHESS et al., 2013).

Extração de DNA genômico

A extração do DNA cromossômico foi realizada por meio da técnica descrita por Sambrook et al. (2001), com algumas modificações. A qualidade e a concentração do DNA extraído foi avaliada por meio de eletroforese em gel de agarose 0,8%, em tampão Tris/Borato/EDTA (TBE) 0,5x, a 100V por 1h, utilizando o marcador DNA Ladder 100 pb (Invitrogen). Em seguida, o gel foi analisado em transiluminador ultravioleta e fotodocumentado.

Amplificação e Sequenciamento do gene 16S rRNA por PCR

O gene *16S rRNA* foi amplificado utilizando os oligonucleotídeos iniciadores: fD1 (5´-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3´) e rD1 (5´-AAGGAGGTGATCCAGCC-3´) (WEISBURG et al.,1991). A amplificação das amostras foi efetuada em volume final de 25 uL contendo tampão 10X, dNTPs (10mM.), $MgCl_2$ (50mM.) e Taq polimerase (2,5 U/µl) (Invitrogen), iniciadores (15 pmol/ µl) e DNA (20 ng/ µl). As reações foram realizadas em termociclador (C1000 Thermal Cycler – BioRad), programado com um ciclo inicial de 5 minutos a 95 °C, seguido de 30 ciclos, cada ciclo consistindo de uma etapa de desnaturação (95 °C por 45 segundos), uma etapa de anelamento (60 °C por 45 segundos) e uma etapa de extensão (72 °C por 2 minutos) e, por fim, uma etapa de extensão final a 72 °C por 5 minutos.

Os produtos da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foram purificados

seguindo o protocolo do kit de purificação PureLink (Invitrogen) e em seguida sequenciados em sequenciador automático de DNA ABI 3100. As sequências obtidas foram comparadas com linhagens padrão de coleções internacionais depositadas no banco de dados Genbank do NCBI usando a ferramenta BLASTn (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) e alinhadas multiplamente com os software Mega 5.2. O programa ClustalW foi utilizado para a construção de um dendograma pelo método Neighbor-joining.

**Resultados**

Foi observado crescimento de colônias bacterianas nos cinco pontos (superfície e profundidade), sendo obtido um total de 50 isolados. As características morfológicas quanto a forma das colônias, foram normalmente uniformes (Tabela 1). Dentre os isolados, 92% (n=46) apresentaram forma circular, 6% (n=3) filamentosa e apenas o isolado P5PAb forma rizoide. Quanto à borda da colônia, foi verificado que 54% (n=27) apresentaram borda inteira, 18% (n=9) lobulada, enquanto que para borda ondulada e filamentosa foram detectadas 16% e 12%, respectivamente. Para a superfície da colônia, 74% (n=37) dos isolados apresentaram superfície lisa e os demais, superfície rugosa. Quanto a transparência, 86% (n=43) apresentaram-se opacas e 14% (n=7) transparentes. Em relação a cor, 84% (n=42) apresentou coloração creme e 16% (n=8) amarela. Já a produção de muco, foi identificada em 84% (n=42) das amostras, sendo os demais considerados secos. Por fim, de todos os isolados analisados, 56% (n=28) apresentaram colônias brilhosas (Tabela 1). Apesar da importância desse método para o isolamento e purificação das bactérias, este não foi eficiente na caracterização ao nível taxonômico.

Na técnica MALDI-TOF-MS todos os isolados foram identificados com valores de *score* entre 1.718 e 2.415, exceto o P3PAh que apresentou um *score* menor (1.518). Dentre esses, 86% (n=43) apresentaram valores maior que 2.000, sendo identificados ao nível de espécie com alta confiabilidade, e 12% (n=7) com valores maiores que 1.700, possibilitando a identificação confiável de gênero (Tabela 2).

A partir dos resultados obtidos, foram identificados 13 gêneros bacterianos, sendo quatro gram-positivos (*Bacillus*, *Staphylococcus*, *Brachybacterium*, *Exiguobacterium*) e nove gram-negativos (*Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Brevundiomonas*, *Alcaligenes*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*,

*Providencia*). Entre os gram-positivos, o gênero *Bacillus* esteve presente em todos os pontos e foi o mais prevalente, com 18 isolados representados pelas espécies *B. cereus* (n=14), *B. pumulis* (n=2) e *B. altitunidis* (n=1). Outro gênero predominante foi *Staphylococcus* com cinco isolados pertencentes as espécies *S. saprophyticus* (n=2) e *S. sciuri* (n=3). Outras espécies gram-positivas identificadas foram *Brachybacterium faecium* (n=1) e *Exigubacterium sp*. (n=1), nos pontos 2 e 3, respectivamente.

Membros da família Enterobacteriacea foram obtidos em todos os pontos, exceto no ponto 1. Entre as gram-negativas, destaca-se a presença do gênero *Enterobacter* representado pelas espécies *E. clocae* (n=2; pontos 2 e 4), *E. kobei* (n=2; pontos 2 e 3) e *E. asburiae* (n=1; ponto 3). Além dessas, outras espécies apresentaram alta prevalência como os isolados *Escherichia coli* (n=5; pontos 2, 3, 4 e 5), *Klebsiella pneumoniae* (n=4; pontos 2, 3 e 4), *Acinetobacter radioresistens* (n=3, pontos 2 e 3) e *Proteus mirabilis* (n=3; pontos 4 e 5). Com menor frequência foram identificados isolados pertencentes as espécies *Brevundiomonas diminuta* (n=2; pontos 3 e 5), *Providencia rettgeri* (n=2; ponto 4), *Alcaligenes faecalis* (n=1; ponto 4) e *Pseudomonas putida* (n=1; ponto 3). A partir dessas análises, verificou-se que o ponto 2 apresentou maior diversidade microbiana, com nove espécies diferentes enquanto no ponto 1 foi observado a menor diversidade, representado com apenas três espécies (Figura 1).

As sequências do gene *16S rRNA* (aproximadamente 1.500 pb) foram alinhadas e comparadas com sequencias previamente depositadas no banco de dados GenBank, e apresentaram valores de similaridade entre 97-99%, revelando alto grau de similaridade genética e possibilitando a confirmação da identidade de todos os isolados obtida pela técnica MALDI-TOF-MS (Tabela 2). O isolado P3PAh, não identificado pelo MALDI-TOF-MS, apresentou 99% de similaridade com a sequencia da espécie *Exiguobacterium sp*. A partir do dendograma, observou-se o agrupamento entre as sequencias obtidas nesse estudo com as disponibilizadas no banco de dados, confirmando a identidade molecular (Figura 2).

## Discussão

A diversidade microbiana nos ecossistemas aquáticos é determinada por várias características ambientais como temperatura, salinidade, pH, entre outras

(MARECKOVA et al., 2020). Nas últimas décadas, o processo de urbanização e seus impactos ambientais têm interferido na dinâmica desses ecossistemas, modificando a estrutura e função das comunidades microbianas (RESENDE; SILVA; DINIZ, 2020). A rápida identificação de microrganismos presentes em ambientes aquáticos impactados é necessária para monitorar as mudanças ocorridas nestas comunidades e identificar possíveis riscos à saúde pública. Diante disso, o presente estudo se propôs a avaliar a aplicabilidade de técnicas que possibilitem uma rápida e confiável identificação de microrganismos provenientes de um riacho urbano impactado.

A caracterização morfológica dos 50 isolados obtidos no ecossistema investigado, revelou que apesar das diferenças morfológicas encontradas, estas apresentaram baixo poder discriminatório, não sendo suficiente para identificar a caracterização taxonômica dos isolados. Tradicionalmente, os métodos fenotípicos incluindo analises morfológicas e fisiológicas, vem sendo amplamente utilizados como primeira diferenciação microbiana. Contudo, esses apresentam uma baixa reprodutibilidade e nem sempre permitem uma identificação precisa ao nível de espécie (ELMACI et al., 2015) e por isso outros métodos complementares são recomendados para uma confiável identificação. No presente estudo, a aplicação desta metodologia apesar de não ser suficiente para identificar os gêneros e espécies presentes neste ecossistema, foi satisfatória para isolar e caracterizar as diferentes colônias bacterianas existentes nos diferentes pontos de investigação; além de contribuir para ampliar o acervo de bactérias obtidas de ambientes aquáticos impactados da UFPE.

Como alternativa para caracterização taxonômica de microrganismos, vem sendo utilizadas diferentes técnicas moleculares. Uma dessas corresponde ao MALDI-TOF-MS, amplamente aplicada na investigação e identificação de proteínas e peptídeos que caracterizam espécies bacterianas. Vários estudos têm demonstrado a alta reprodutibilidade deste método quando comparado com outros considerados “padrão-ouro” (BRUYNE et al., 2011; LO et al., 2015). Sua efetiva aplicação requer a utilização de bancos de dados internacionais, além de *softwares* específicos para comparação dos espectros proteicos. Várias plataformas comerciais foram desenvolvidas para essas análises, entretanto, são direcionadas para microrganismos de interesse clínico (CARBONNELLE et al., 2011). Diante desse fato, para microbiologia ambiental, essa técnica ainda é pouco explorada,

sendo mais utilizada para investigar espécie única ou grupos microbianos selecionados (NOWAKIEWICZ et al, 2017).

No presente trabalho, os isolados foram identificados por meio da técnica de MALDI-TOF-MS, no qual 86% foram identificados ao nível de espécie e 12% ao nível de gênero. Os espectros bacterianos obtidos podem ser influenciados pelas mudanças ambientais, alterando processos celulares, consequentemente, modificando o perfil protéico e dificultando a identificação das espécies dos microrganismos (LAY, 2001; MARTIN et al., 2017). No estudo realizado por Avazi et al. (2016) os autores identificaram bactérias isoladas de uma mina de cobre por meio do MALDI-TOF-MS e relataram a dificuldade de identificar os gêneros *Bacillus* e *Enterobacter*. Segundo eles, apesar desses isolados serem representados no banco de dados, há uma ampla diversidade genética desses gêneros dificultando sua identificação.

Dentre os isolados estudados no presente trabalho, apenas P3PAh não teve sua identidade confirmada por essa técnica, sendo posteriormente identificado como pertencente a espécie *Exiguobacterium sp*. por meio do sequenciamento do gene *16S rRNA*. Esse dado corrobora com o resultado obtido por Timperio et al. (2017), no qual um isolado pertencente a espécie *Exiguobacterium oxidotolerans* não foi identificado devido a ausência de um espectro de referência no banco de dados. Curiosamente, Purificação-Junior et al. (2016) apresentou dificuldade na identificação desse gênero no mesmo ambiente, sendo fenotipicamente identificado como pertencente a espécie *Staphylococcus hominis*. Essa divergência foi justificada pelo fato de que ambos os gêneros apresentam características morfológicas e bioquímicas semelhantes.

O sequenciamento do gene *16S rRNA* foi utilizado para confirmar a acurácia dos resultados obtidos pelo MALDI-TOF-MS. O gene *16S rRNA* é amplamente utilizado como marcador filogenético, pois apresenta sequências altamente conservadas entre regiões variáveis; está presente e desempenha a mesma função em todos os organismos, não é afetado por mudanças ambientais e apresenta um tamanho suficiente para ser utilizado em inferências taxonômicas (SRINIVASAN et al., 2015). As sequências desse gene já foram determinadas para um número grande de linhagens bacterianas e estão, em sua maioria, depositadas no GenBank (CLARRIDGE, 2004; BENSON et al., 2012), e por isso, esta técnica é considerada padrão ouro para identificação microbiana.

De acordo com Stackebrant e Goebel (1994), para considerar que isolados pertencem a mesma espécies é necessário que ela possua uma homologia na sequência do gene *16S rRNA* maior que 97%. As sequencias obtidas no presente estudo apresentaram valores de similaridade entre 97-99%, permitindo a confirmação da identidade dos isolados.

Foi observada uma concordância de 100% entre os dois métodos moleculares testados, demonstrando a confiabilidade do MALDI-TOF-MS para a identificação de microrganismos de um ambiente impactado. Alguns trabalhados vêm comparando a aplicabilidade desses dois métodos para este fim, obtendo concordância entre 50-100%, dependendo dos gêneros estudados (AVANZI et al. 2017; EMAMI et al., 2016; SANTOS et al., 2017). Timperio et al. (2017) avaliaram os dois métodos para identificar bactérias isoladas do oceano Ártico e obtiveram concordância de 100% a nível de gênero. Resultado semelhante foi obtido por Avanzi et al. (2017) ao investigar a eficiência do MALDI-TOF-MS na identificação de bactérias resistentes ao cobre isoladas de mineração ambiental.

Em controvérsia, Oberbeckman et al. (2011), obteve apenas 43% de concordância ao analisar isolados de *Vibrio* obtidos de águas temperadas. Essa diferença ocorre, principalmente, devido à limitação do banco de dados (KOPCAKOVA et al., 2014), revelando a necessidade de mais estudos na área de microbiologia ambiental, com o objetivo de adicionar novos espectros proteicos no banco de dados para consultas futuras.

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho, foi possível ampliar a caracterização da microbiota do ecossistema investigado iniciada por Purificação et al., (2017). No presente trabalho, o gênero *Bacillus* foi o mais prevalente, sendo encontrado em todos os pontos. Esse gênero é ubíquo na natureza, podendo ser encontrado na água, solo, sedimentos e plantas (CEUPPENS, et al, 2013; BRILLARD et al, 2014; MURREL, 2018). Em condições de estresse ambiental, como contaminação, essa bactéria pode produzir endósporos e se manter dormente por um longo período de tempo (GOSH; SETLOW, 2009). Das espécies identificadas, *B. cereus* é conhecida por ser um patógeno humano, podendo ser responsável por várias infecções (HAN et al., 2006; STENFORS ARNESEN et al, 2008). Além deste, outras espécies isoladas do ambiente investigado, são descritas na literatura como potenciais patógenos humanos *S. saprophyticus* (SANTOS et al., 2018), *B. diminuta* (RYAN; PEMBROKE, 2018), *A. radioresistents* (VISCA et al., 2001).

Membros da família Enterobacteriacea foram obtidos na maioria dos pontos do riacho Cavouco, representados por espécies como *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *E. clocae* e *P. rettgeri*. A maioria dessas espécies é comumente encontrada no trato intestinal de seres humanos e animais e sua presença em ambientes aquáticos indica a contaminação de origem fecal (LIU et al., 2015; PALL et al., 2015).

Purificação et al. (2017) realizaram a análise da qualidade da água e caracterizaram a microbiota amostral do riacho Cavouco, observando a presença de coliformes totais e termotolerantes e identificando espécies de enterobactérias semelhantes ao encontrado no presente estudo. Este fato confirma a importância do monitoramento desse ambiente e a necessidade de uma técnica de identificação microbiana rápida e confiável, a fim de avaliar o nível de contaminação e os possíveis riscos à saúde pública.

## Conclusão

O presente estudo revelou que o MALDI-TOF-MS foi eficiente para identificação de microrganismos isolados de um ambiente aquático impactado. Apesar da limitação dos bancos de dados, essa técnica apresentou alta taxa de identificação e corroborou com os resultados obtidos pelo sequenciamento do gene *16S rRNA*. Os dados sugerem que o MALDI-TOF-MS é uma técnica rápida, confiável e de baixo-custo para caracterizar comunidades microbianas nestes ecossistemas impactados. Contudo, para uma identificação mais acurada de espécies, os bancos de dados necessitam ser expandidos com espectros proteicos de um maior número de isolados ambientais. A partir dos resultados obtidos, verificou-se a presença de microrganismos patogênicos no riacho Cavouco, configurando esse ambiente como um risco potencial de transmissão de doenças de veiculação hídrica e evidenciando a importância de um constante e eficaz monitoramento da microbiota local.

## Referências

ARAÚJO, Marlyete Chagas de; OLIVEIRA, Maria Betânia Melo de. Monitoramento da qualidade das águas de um riacho da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil. **Revista Ambiente & Água**, v. 8, p. 247-257, 2013.

AVANZI, I.R.; GRACIOSO, L.H.; BALTAZAR, M.D.; KAROLSKI, B.; PERPETUO, E.A.; do NASCIMENTO, C.A. Rapid bacteria identification from environmental mining samples using MALDI-TOF MS analysis. **Environ Sci Pollut Res Int**. 24(4):3717-3726, 2017.

BENSON, D. A.; KARSCH-MIZRACHII; CLARK, K.; LIPMAN, D.J.; OSTELL, J.; SAYERS, E. W. Genbank. **Nucleic Acids Research**. 40: 48-53, 2012.

BRILLARD, J.; DUPONT, C.M.; BERGE O.; DARGAIGNARATZ, C.; ORIOL-GAGNIER, S.; DOUSSAN, C.; BROUSSOLLE, V.; GILLON, M.; CLAVEL, T.; BÉRARD, A. The Water Cycle, a Potential Source of the Bacterial Pathogen *Bacillus cereus*. **Biomed Res Int**. 2015:356928, 2015.

BRUYNE, K.; SLABBINCK, B.; WAEGEMAN, W.; VAUTERIN, P.; DE BAETS, B.; VANDAMME, P. Bacterial species identification from MALDI-TOF mass spectra through data analysis and machine learning. **Syst Appl Microbiol**. 34(1):20-9, 2011.

CARBONNELLE, E.; GROHS, P.; JACQUIER, H.; DAY, N.; TENZA, S; DEWAILLY, A.; VISSOUARN, O.; ROTTMAN, M.; HERRMANN, J.L; PODGLAJEN, I.; RASKINE, L. Robustness of two MALDI-TOF mass spectrometry systems for bacterial identification. **J Microbiol Methods**. 89(2), 2012.

CEUPPENS, S.; BOON, N.; UYTTENDAELE, M. Diversity of Bacillus cereus group strains is reflected in their broad range of pathogenicity and diverse ecological lifestyles. **FEMS Microbiol Ecol**. 84(3):433-50, 2013.

CLARRIDGE, J.E. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. **Clin Microbiol Rev**. 17 (4):840-862, 2004.

ELMACI, S.B.; TOKATH, M.; DURSUN, D.; ÖZÇELIK, F.; SANLIBABA, P. Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bactéria isolated from traditional pickles of the Çubuk region in Turkey. **Folia Microbiol**. 60:241-251, 2015.

EMAMI, K.; NELSON, A; HACK, E.; ZHANG, J.; GREEN, D.H.; CALDWELL, G.S.; MESBAHI, E. MALDI-TOF Mass Spectrometry Discriminates Known Species and Marine Environmental Isolates of Pseudoalteromonas. **Front Microbiol**. 12;7:104, 2016.

FREITAS, M.B.; BRILHANTE, O.M.; Almeida, L.B. The importance of water testing for public health in two regions in Rio de Janeiro: a focus on fecal coliforms, itrates, and aluminum. **Cad Saúde Pública**. 17:651-660, 2011.

GHOSH, S.; SETLOW, P. Isolation and characterization of superdormant spores of Bacillus species. **J. Bacteriol**. 191 (6):1787–1797, 2009.

HEMME, C.L.; TU, Q.; QUIN, Y.; GAO, W.; DENG, Y.; NOSTRAND, J.D.V.; WU, L.; HE, Z.; CHAIN, P.S.; TRINGE, S.G. Comparative metagenomics reveals impacto f contaminants on groundwater microbiomes**. Front. Microbiol**. 6:1205, 2015.

MURRELL, J.A.; ROJAS-BADIA, M.M, GARCÍA-SOTO, I; ROMEU-ALVAREZ, B.; BACCHETTI, T.; GILLIS, A; BOLTES-ESPINOLA, A.K.; HEYDRICH-PEREZ, M;

LUGO-MOYA, D.; MAHILLON, J. Diversity and enzymatic potentialities of Bacillus sp. strains isolated from a polluted freshwater ecosystem in Cuba. **World J Microbiol Biotechnol**. 19;34(2):28, 2018.

LIU, W.C.; CHAN, W.T; YOUNG, C.C. Modeling fecal coliform contamination in a tidal Danshuei River estuarine system. **Sci Total Env**iron 502:632-40, 2015.

LO, C.I; FALL, B.; SAMBE-BA, B.; DIAWARA, S.; GUEYE, M.W.; MEDIANNIKOV, O.; SOKHNA, C.; FAYE, N.; DIEMÉ, Y.; WADE, B.; RAOULT, D.; FENOLLAR, F. MALDI-TOF Mass Spectrometry: A Powerful Tool for Clinical Microbiology at Hôpital Principal de Dakar, Senegal (West Africa). **PLoS One**. 30;10(12), 2015.

MARECKOVA, Marketa Sagova et al. Expanding ecological assessment by integrating microorganisms into routine freshwater biomonitoring. **Water Research**, p. 116767, 2020.

MARTIN, M.S.; SANTOS, I.C.; CARLTON, D.D. JR, .; GRANADOS, P.; HILDENBRAND, Z.L.; SCHUG, K.A. Characterization of bacterial diversity in contaminated groundwater using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. **Sci Total Environ**. 1;622-623:1562-1571, 2018.

MICHAEL P. RYAN; J. TONY PEMBROKE. Brevundimonas spp: Emerging global opportunistic pathogens, **Virulence**. 9:1, 480-493 2, 2018.

NAKANO, S.; MATSUMURA, Y.; ITO, Y.; FUJISAWA, T.; CHANG, B.; SUGA, S.; KATO, K.; YUNOKI, T.; HOTTA, G.; NOGUCHI, T.; YAMAMOTO, M.; NAGAO, M.; TAKAKURA, S.; OHNISH, M.; IHARA T, ICHIYAMA S. Development and evaluation of MALDI-TOF MS-based serotyping for *Streptococcus pneumoniae*. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**. 34(11):2191-8, 2015.

NG, L.S.; SIM, J.H.; ENG, L.C.; MENON, S.;, TAN, T.Y. Comparison of phenotypic methods and matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry for the identification of aero-tolerant Actinomyces spp. isolated from soft-tissue infections. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**. 31(8):1749-52, 2012.

NOWAKIEWICZ, Aneta et al. Characterization of multidrug resistant E. faecalis strains from pigs of local origin by ADSRRS-fingerprinting and MALDI-TOF MS; evaluation of the compatibility of methods employed for multidrug resistance analysis. **PloS one**, v. 12, n. 1, p. e0171160, 2017.

OBERBECKMANN, S.; WICHELS, A.; MAIER, T.; KOSTRZEWA, M.; RAFFELBERG, S.; GERDTS, G. A polyphasic approach for the differentiation of environmental Vibrio isolates from temperate waters. **FEMS Microbiol Ecol**. 75(1):145-62, 2011.

PURIFICAÇÃO, Antonio Fernando Júnior *et al*., Microbiota sampled from a polluted stream in Recife-PE, Brazil and its importance to public health. **African Journal of Microbiology Research**, v. 11, n. 28, p. 1142-1149, 2017.

SANTOS, W.; DE SOUSA, V.S.; Giambiagi-deMarval, M. Occurrence of virulence-associated genes among *Staphylococcus saprophyticus* isolated from different sources. **Microbial Pathogenesis**. 119:9-11, 2018.

PALL, E.; NICULAE, M.; KISS, T.; ŞANDRU, C.D.; Spînu, M. Human impact on the microbiological water quality of the rivers. **J Med Microbiol** .62:1635-1640, 2013.

RESENDE, Juliana Alves; SILVA, Vâni Lúcia da, DINIZ, Claudio Galuppo. Aquatic environments in the One Health context: modulating the antimicrobial resistance phenomenon. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 32, 2020.

SANTOS, I.C.; HILDENBRAND, Z.L.; SCHUG, K.A. Applications of MALDI-TOF MS in environmental microbiology. **Analyst**. 141:2827-2837, 2016.

SANTOS, I.C.; MARTIN, M.S.; CARLTON, D.D.; AMORIM, C.L.; CASTRO, P.M.L.; HILDENBRAND, Z.L.; SCHUG, K.A. MALDI-TOF MS for the Identification of Cultivable Organic-Degrading Bacteria in Contaminated Groundwater near Unconventional Natural Gas Extraction Sites. **Microorganisms**. 10;5(3), 2017.

SCHULTHESS, B.; BRODNER, K.; BLOEMBERG, G.V.; ZBINDEN, R.; BÖTTGER, E.C.; HOMBACH, M. Identification of Gram-positive cocci by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: comparison of different preparation methods and implementation of a practical algorithm for routine diagnostics. **J Clin Microbiol**. 51(6):1834-40, 2013.

SHARMA, M.; GAUTAM, V.; MAHAJAN, M.; RANA, S.; MAJUMDAR, M.; RAY, P. Direct identification by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) from positive blood culture bottles: An opportunity to customize growth conditions for fastidious organisms causing bloodstream infections. **Indian J Med Res**. 146(4):541-544, 2017.

SRINIVASAN, R.; KRAOZ, U.; VOLEGOVA, M.; MACKICHAN, J.; KATO-MAEDA, M.; MILLER, S.; et al. Use of 16S rRNA Gene for Identification of a Broad Range of Clinically Relevant Bacterial Pathogens. **PLoS ONE**. 10(2), 2015.

STACKEBRANDT, E.; GOEBEL, B.E. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. **Int J Syst Bacteriol**. 44:846–849, 1994.

TIMPERIO, A.M.; GORRASI, S.; ZOLLA, L.; FENICE, M. Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry and MALDI BioTyper in comparison to 16S rDNA sequencing for the identification of bacteria isolated from Arctic sea water. **PLoS One**. 24;12(7), 2017.

TREXLER, R.; SOLOMON, C.; BRISLAWN, C.J.; WRIGHT, J.R.; ROSENBERGER, A.; MCCLURE, E.E.; GRUBE, A.M.; PETERSON, M.P.; KEDDACHE, M.; MASON, O.U. Assessing impacts of unconventional natural gas extraction on microbial communities in headwater stream ecosystems in Northwestern Pennsylvania. **Front. Microbiol**. 5:522, 2014.

VISCA, P.; PETRUCCA, A.; DE MORI, P.; FESTA A.; BOUMIS, E.; ANTINORI, A.; PETROSILLO N. Community-acquired Acinetobacter radioresistens bacteremia in an HIV-positive patient. **Emerg Infect Dis**. 7(6):1032-5, 2001.

VIVER, T.; CIFUENTES, A.; DÍAZ, S.; RODRÍGUEZ-VALDECANTOS, G.; GONZÁLEZ, B.; ANTÓN, J.; ROSSELLÓ-MÓRA, R. Diversity of extremely halophilic

cultivable prokaryotes in Mediterranean, Atlantic and Pacific solar salterns: Evidence that unexplored sites constitute sources of cultivable novelty. **Syst Appl Microbiol**. 38(4):266-75, 2015.

WOO, P.C.Y.; LAU, S.K.P.; TENG, J.L.L.; TSE, H.; YUEN, K-Y. Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bactéria in clinical microbiology. Clin Microbiol Infect 14:908-934, 2008.

YU, J.; LIU, J.; LI, Y.; YU , J.; ZHU, W.; LIU, Y.; SHEN, L. Rapid detection of carbapenemase activity of Enterobacteriaceae isolated from positive blood cultures by MALDI-TOF MS. **Ann Clin Microbiol Antimicrob**. 18,17(1):22, 2018.

ZHANG T, DING J, RAO X, YU J, CHU M, REN W, WANG L, XUE W. Analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* major clonal lineages by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS). **J Microbiol Methods**. 117:122-7, 2015.

## FIGURAS E TABELAS

Tabela 1 - Características morfológicas de isolados bacterianos obtidos de um riacho urbano impactado em Pernambuco, Brasil.

| Pontos | Isolados | Forma | Borda | Superfície | Transparência | Coloração | Muco | Brilho |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | P1PAa | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Creme | - | - |
| | P1PAc | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Amarela | - | - |
| | P1PAd | Circular | Lobulada | Rugosa | Opaca | Creme | - | - |
| P1 | P1PAe | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Amarela | - | - |
| | P1PAh | Circular | Ondulada | Lisa | Opaca | Creme | + | + |
| | P1SBf | Circular | Ondulada | Lisa | Opaca | Creme | - | - |
| | P1SBg | Circular | Lobulada | Rugosa | Opaca | Creme | - | - |
| | P2PBa | Circular | Lobulada | Rugosa | Opaca | Creme | - | - |
| | P2PBb | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Creme | + | + |
| | P2PBc | Circular | Lobulada | Rugosa | Opaca | Creme | - | - |
| | P2SAb | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Creme | - | + |
| | P2SAc | Circular | Inteira | Lisa | Transparente | Creme | - | + |
| P2 | P2SAd | Circular | Ondulada | Lisa | Opaca | Creme | + | + |
| | P2SBa | Circular | Filamentosa | Lisa | Opaca | Amarela | - | + |
| | P2SBc | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Creme | - | + |
| | P2SBd | Circular | Inteira | Lisa | Transparente | Creme | + | + |
| | P2SBe | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Amarela | - | - |
| | P2SBf | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Amarela | + | + |
| | P2SBg | Circular | Lobulada | Rugosa | Opaca | Creme | - | - |
| | P3PAc | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Creme | - | + |
| | P3PAd | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Creme | - | + |
| | P3PAe | Circular | Inteira | Lisa | Transparente | Creme | - | + |
| | P3PAf | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Creme | - | - |
| | P3PAg | Circular | Lobulada | Rugosa | Opaca | Creme | - | - |
| | P3SAa | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Creme | - | - |
| | P3SAb | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Creme | - | - |
| P3 | P3SAc | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Creme | - | - |
| | P3SAd | Filamentosa | Filamentosa | Rugosa | Opaca | Creme | - | - |
| | P3SAe | Circular | Inteira | Rugosa | Opaca | Creme | - | - |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | P3SAf | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Creme | - | - |
| | P3SAg | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Amarela | - | - |
| | P3SAi | Circular | Filamentosa | Lisa | Opaca | Creme | - | - |
| | P4PAb | Rizoide | Ondulada | Lisa | Opaca | Creme | - | + |
| | P4PAc | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Creme | - | + |
| | P4PAd | Circular | Ondulada | Lisa | Transparente | Creme | + | + |
| P4 | P4SAa | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Amarela | - | + |
| | P4SAb | Filamentosa | Filamentosa | Rugosa | Opaca | Creme | - | - |
| | P4SAc | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Creme | - | - |
| | P4SAd | Filamentosa | Filamentos | Rugosa | Opaca | Creme | - | - |
| | P4SAe | Circular | Lobulada | Rugosa | Opaca | Creme | - | - |
| | P4SAf | Circular | Lobulada | Rugosa | Opaca | Creme | - | - |
| | P4SAg | Circular | Inteira | Lisa | Transparente | Creme | - | + |
| | P5PAa | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Creme | - | + |
| | P5PAb | Rizoide | Ondulada | Lisa | Opaca | Creme | - | - |
| | P5PAc | Circular | Ondulada | Lisa | Transparente | Creme | + | + |
| | P5PAd | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Creme | - | + |
| P5 | P5PAe | Circular | Ondulada | Lisa | Transparente | Creme | + | + |
| | P5PAf | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Amarela | - | - |
| | P5SAa | Circular | Inteira | Lisa | Opaca | Amarela | - | + |
| | P5SAg | Circular | Filamentosa | Lisa | Opaca | Creme | - | - |
| | P5SAg$_{I}$ | Circular | Lobular | Rugosa | Opaca | Creme | - | - |

Tabela 2 - Caracterização molecular (MALDI-TOF-MS e sequenciamento do gene 16S rRNA) de isolados bacterianos obtidos de um riacho urbano impactado em Pernambuco, Brasil.

| | | **MALDI-TOF-MS** | | ***16S rRNA* gene sequencing** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Pontos** | **Isolados** | **Espécies** | **Pontuação** | **Espécies** | **Similarity** | **Adesão** |
| P1 | P1SBf | *Bacillus cereus* | 2.281 | *Bacillus cereus* | 99% | HBU07116 |
| | P1SBg | *Bacillus cereus* | 2.144 | *Bacillus cereus* | 98% | HBU07116 |
| | P1PAa | *Staphylococcus saprophyticus* | 2.277 | *Staphylococcus saprophyticus* | 99% | KM37850 |
| | P1PAd | *Bacillus cereus* | 2.134 | *Bacillus cereus* | 99% | HBU07116 |
| | P1PAh | *Bacillus pumulis* | 2.019 | *Bacillus pumulis* | 99% | MF662817 |
| P2 | P2SAb | *Enterobacter clocae* | 1.818 | *Enterobacter clocae* | 99% | HBU07116 |
| | P2SAc | *Escherichia coli* | 2.231 | *Escherichia coli* | 99% | MH532537 |
| | P2SAd | *Bacillus pumulis* | 2.028 | *Bacillus pumulis* | 99% | MF662817 |
| | P2SBa | *Brachybacterium faecium* | 2.036 | *Brachybacterium faecium* | 99% | NR_119205 |
| | P2SBc | *Staphylococcus sciuri* | 2.008 | *Staphylococcus sciuri* | 99% | MG517422 |
| | P2SBd | *Staphylococcus saprophyticus* | 2.002 | *Staphylococcus saprophyticus* | 99% | KM37850 |
| | P2SBe | *Bacillus cereus* | 2.150 | *Bacillus cereus* | 99% | HBU07116 |
| | P2SBf | *Enterobacter kobei* | 2.279 | *Enterobacter kobei* | 99% | MF953259 |
| | P2SBg | *Bacillus cereus* | 2.115 | *Bacillus cereus* | 99% | HBU07116 |
| | P2PBa | *Bacillus cereus* | 1.997 | *Bacillus cereus* | 98% | HBU07116 |
| | P2PBb | *Klebsiella pneumoniae* | 2.415 | *Klebsiella pneumoniae* | 99% | KU254764 |
| | P2PBc | *Acinetobacter radioresistens* | 2.311 | *Acinetobacter radioresistens* | 98% | KF963620 |
| P3 | P3SAa | *Acinetobacter radioresistens* | 2.369 | *Acinetobacter radioresistens* | 97% | KF963620 |
| | P3SAb | *Acinetobacter radioresistens* | 2.213 | *Acinetobacter radioresistens* | 98% | KF963620 |
| | P3SAc | *Klebsiella pneumoniae* | 2.365 | *Klebsiella pneumoniae* | 99% | JX435602 |
| | P3SAd | *Bacillus cereus* | 2.180 | *Bacillus cereus* | 99% | HBU07116 |
| | P3SAe | *Escherichia coli* | 2.340 | *Escherichia coli* | 99% | MH532537 |
| | P3SAf | *Pseudomonas sp.* | 2.063 | *Pseudomonas sp.* | 99% | JQ994361 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | P3SAg | *Enterobacter asburiae* | 2.096 | *Enterobacter asburiae* | 99% | JQ579638 |
| | P3SAi | *Bacillus cereus* | 2.196 | *Bacillus cereus* | 99% | HBU07116 |
| | P3PAc | *Escherichia coli* | 2.267 | *Escherichia coli* | 99% | MH532537 |
| | P3PAd | *Klebsiella pneumoniae* | 2.159 | *Klebsiella pneumoniae* | 99% | LC141104 |
| | P3PAe | *Enterobacter kobei* | 2.381 | *Enterobacter kobei* | 99% | MF953259 |
| | P3PAf | *Brevundiomonas diminuta* | 2.236 | *Brevundiomonas diminuta* | 98% | MH211324 |
| | P3PAg | *Bacillus cereus* | 2.227 | *Bacillus cereus* | 99% | HBU07116 |
| | P3PAh | -- | - | *Exiquobacterium sp.* | 99% | MG757525 |
| | P4SAa | *Alcaligenes faecalis* | 2.185 | *Alcaligenes faecalis* | 99% | KY357285 |
| | P4Sab | *Bacillus pumulis* | 1.880 | *Bacillus pumulis* | 99% | MF662817 |
| | P4SAc | *Enterobacter clocae* | 1.718 | *Enterobacter clocae* | 99% | KX036856 |
| | P4Sad | *Klebsiella pneumoniae* | 2.114 | *Klebsiella pneumoniae* | 99% | FJ828890 |
| | P4SAe | *Bacillus sp.* | 1.970 | *Bacillus sp.* | 99% | AB841264 |
| P4 | P4SAf | *Bacillus cereus* | 2.201 | *Bacillus cereus* | 99% | HBU07116 |
| | P4SAg | *Escherichia coli* | 2.328 | *Escherichia coli* | 99% | MH532537 |
| | $P4PAb_{I}$ | *Providencia rettgeri* | 1.928 | *Providencia rettgeri* | 99% | KX289656 |
| | $P4PAb_{II}$ | *Bacillus cereus* | 2.329 | *Bacillus cereus* | 99% | HBU07116 |
| | P4PAc | *Providencia rettgeri* | 2.381 | *Providencia rettgeri* | 99% | KX289656 |
| | P4PAd | *Proteus mirabilis* | 2.167 | *Proteus mirabilis* | 99% | MH532480 |
| | P5SAe | *Proteus mirabilis* | 2.003 | *Proteus mirabilis* | 99% | MH532480 |
| | P5SAg | *Bacillus cereus* | 2.135 | *Bacillus cereus* | 98% | HBU07116 |
| | $P5SAg_{I}$ | *Bacillus cereus* | 2.051 | *Bacillus cereus* | 99% | HBU07116 |
| P5 | $P5SAG_{II}$ | *Brevundiomonas diminuta* | 2.389 | *Brevundiomonas diminuta* | 98% | MH211324 |
| | P5PAa | *Staphylococcus sciuri* | 1.967 | *Staphylococcus sciuri* | 99% | MG517422 |
| | P5PAb | *Bacillus cereus* | 2.165 | *Bacillus cereus* | 99% | HBU07116 |
| | P5PAc | *Proteus mirabilis* | 2.171 | *Proteus mirabilis* | 99% | KX275402 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| P5PAe | *Escherichia coli* | 2.173 | *Escherichia coli* | 99% | MH532537 |
| P5PAf | *Staphylococcus sciuri* | 2.185 | *Staphylococcus sciuri* | 98% | MG517422 |

Figura 1 - Análise comparativa de métodos moleculares (MALDI-TOF-MS e sequenciamento do gene *16S rRNA*) na identificação e distribuição de isolados bacterianos em um ambiente aquático impactado.

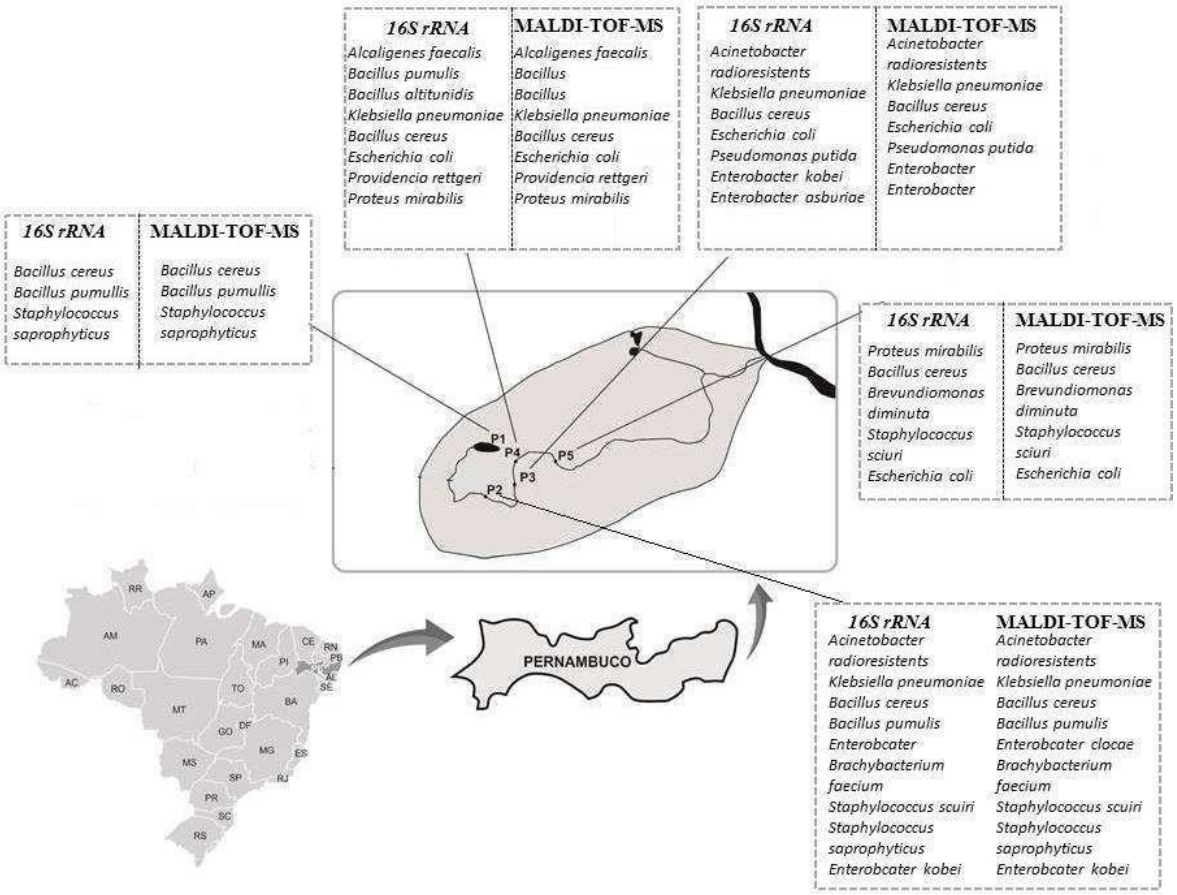
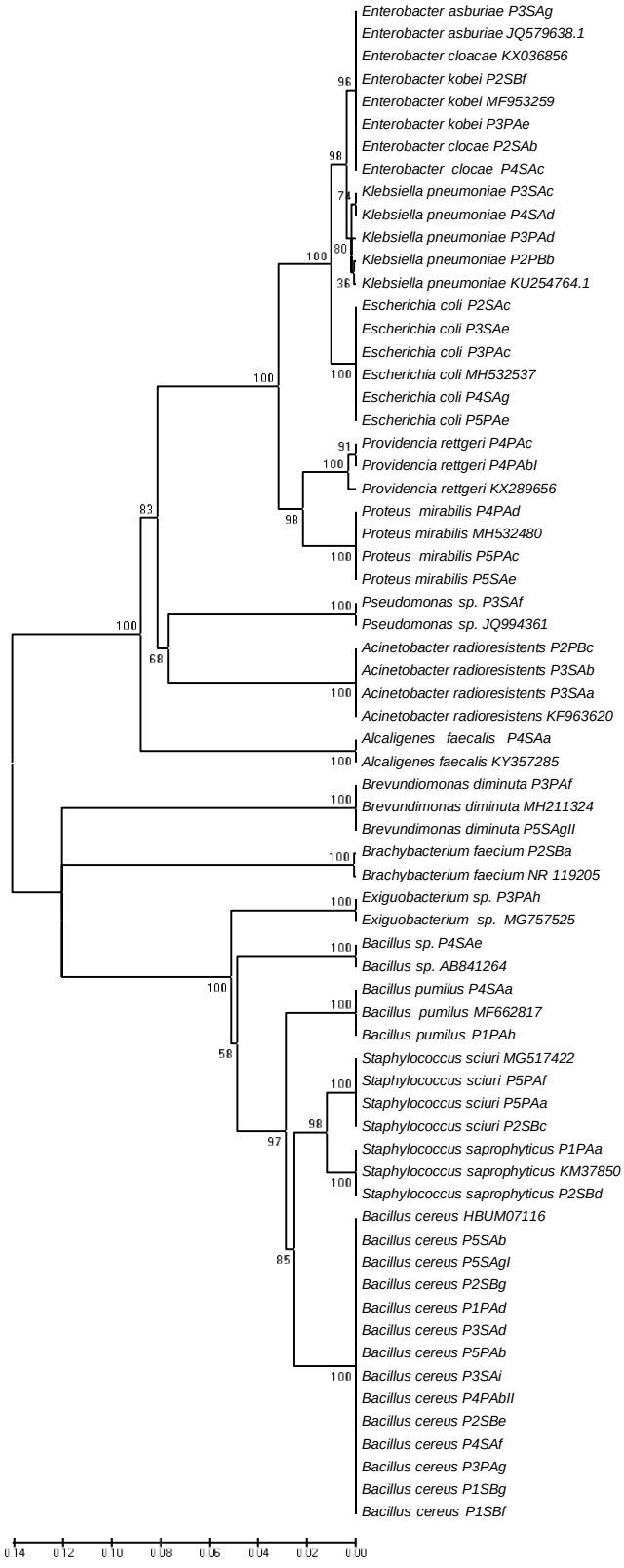


Figura 2 - Dendograma gerado a partir das sequências do gene 16S rRNA de isolados bacterianos obtidos do riacho Cavouco e sequencias referências depositadas no GenBank.



## 4.4 ARTIGO EXPERIMENTAL 2

Os resultados do estudo retrospectivo e comparativo do Riacho Cavouco estão apresentados no artigo a seguir, a ser submetido para publicação.

**ARTIGO**

# ANÁLISE RETROSPECTIVA E COMPARATIVA DE UM RIACHO URBANO IMPACTADO EM RECIFE-PE, BRASIL

Karolayne Silva Souza[1]; Milena Roberta Freire da Silva[1]; Bruno Oliveira de Veras[1]; Iago José Santos da Silva[2]; Fabricio Motteran[2]; Ilton Palmeira da Silva[3]; Lívia Caroline Alexandre de Araújo[1]; Maria Betânia Melo de Oliveira[1]

[1]*Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE*
[2]Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da *Universidade Federal de Pernambuco-UFPE*
[3]*Centro Universitário do Rio São Francisco – UniRios*

**Autor correspondente:**
Prof.ª Maria Betânia Melo de Oliveira
Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Bioquímica
E-mail: maria.bmoliveira@ufpe.br

**Resumo**

As atividades antropogênicas têm contribuído na degradação ambiental de ambientes aquáticos, principalmente os de água doce, como os rios. O Riacho Cavouco é um dos principais percursores hídricos da cidade do Recife-PE, Brasil. Este riacho recebe o aporte de efluentes domésticos, químicos e hospitalares, o que vem contribuindo para seu impacto ambiental. O objetivo do presente trabalho foi realizar um estudo de vigilância no riacho Cavouco por meio de dados retrospectivos e atuais das condições ambientais deste ecossistema. Para compor os dados atuais de monitoramento do Riacho Cavouco foram coletados água em três pontos

específicos do trecho, o qual foram submetidas as análises físico-químicas, microbiológicas, parasitológicas e cromatográficas. As análises físico-químicas apresentaram-se fora da normalidade para condutividade e demanda química de oxigênio segundo a Resolução CONAMA 357/2005. Para as análises de metais, o alumínio e o ferro tiveram acima dos limítrofes permitidos. Quanto a qualidade da água todos os pontos foram positivos para análises de coliformes totais e *Escherichia coli* e apenas o ponto 2 foi positivo para os parâmetros parasitológicos. Após a aquisição desses dados, realizou-se análise retrospectiva e comparativa do Riacho Cavouco, a qual demonstrou um aumento gradativo na sua degradação , principalmente nos pontos a partir do Centro de tecnologia e Geociência (CTG) até o Hospital das Clínicas (HC), sendo este um alerta para uma melhor elaboração de gestão e conservação deste riacho.

**Palavras-Chave:** Monitoramento. Degradação. Poluentes. Impactação.

## Introdução

Os ecossistemas aquáticos estão sujeitos a diversas formas de alterações, naturais e antrópicas. Essas alterações ocorrem devido ao crescimento populacional, com o concomitante aumento pelo suprimento de água de boa qualidade. Um dos fatores mais complexos referentes a água é o equilíbrio entre a disponibilidade para o consumo humano e a utilização nos mais variados processos humanos e industriais. Desta forma, o uso desordenado dos recursos hídricos pode trazer variadas alterações de seus parâmetros de qualidade (LEITE JUNIOR et al., 2020).

A poluição de ambientes aquáticos não é novidade ao longo da história da humanidade. Dentre esses ambientes, os rios e os riachos são os mais afetados (GARCIAS et al., 2020). Os riachos, em áreas urbanas, são impactados com o lançamento de resíduos sólidos e esgoto *in natura,* como resultado da ausência ou precariedade dos sistemas públicos de saneamento nas cidades, ocasionando impactos negativos e, muitas vezes irreversíveis aos cursos d'água. Alem destas consequências, observa-se também a proliferação de doenças, pois em alguns casos há o aumento significativo de bactérias patogênicas (COMETTI; CABRAL; CONCEIÇÃO, 2019).

O Riacho Cavouco tem aproximadamente 6km de extensão e largura que varia de 2 a 1,5 metros. Sua nascente localiza-se no *Campus* Recife da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e realiza um importante percurso hídrico pelo Recife (SANTANA; BEZERRA; SILVA, 2020). Em seu curso o riacho recebe efluentes domésticos, químicos e hospitalares, desaguando na margem direita de um dos principais rios do estado de Pernambuco, o Rio Capibaribe, o qual é utilizado para agricultura e pesca local (ARAÚJO; OLIVEIRA, 2013).Este riacho está enquadrado na classificação II da Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) 357 de 2005 referentes aos corpos hídricos, dos quais, estabelece limítrofes individuais para substâncias analisadas neste ambiente aquático, visto que, a vigência dessa resolução, possibilita o monitoramento da qualidade das águas e controle de fontes emissoras de poluentes.

Desta forma, o monitoramento e a avaliação da qualidade da água são essenciais para a gestão adequada desse recurso. A avaliação de parâmetros físico-químicos e microbiológico permite detectar o grau de poluição, bem como auxilia na tomada de decisão por meio de estratégias que possam melhorar a qualidade deste ambiente, além de minimizar os riscos iminentes à saúde da população (QUINELATO *et al*., 2020).

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi realizar um estudo retrospectivo e comparativo das condições físico-química e microbiológica de um riacho urbano impactado ao longo do tempo.

## Metodologia

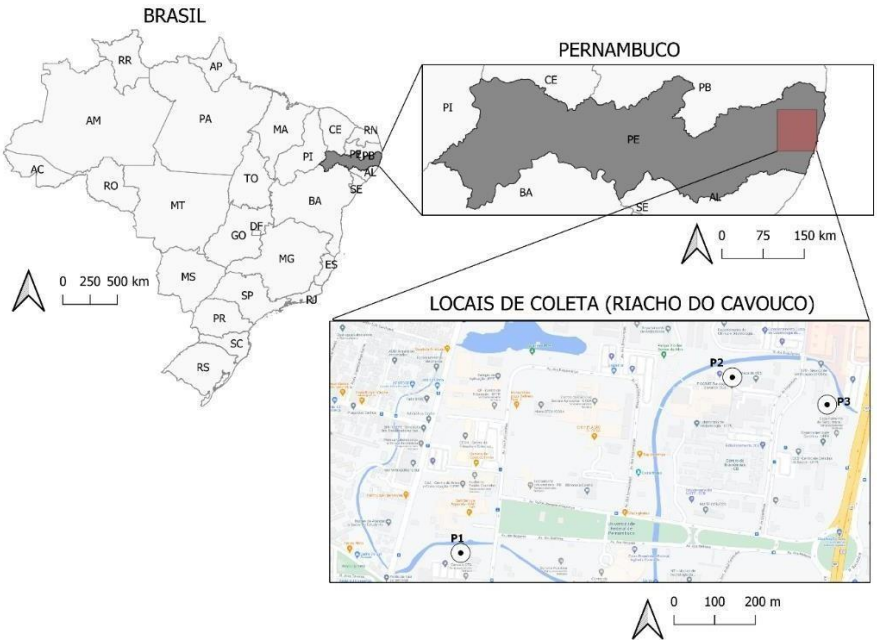
### Análise Experimental

### Descrição do local de estudo e coleta das amostras

O Riacho Cavouco, localiza-se na latitude 8 ° 2'52,05 "S e longitude 34 ° 57'10,33" W, da UFPE, Brasil. Este tem aproximadamente 6 km de extensão e deságua na margem direita do rio Capibaribe (PURIFICAÇÃO et al., 2017). Para este trabalho foi coletado água da superfície de três pontos específicos: : Ponte do Centro de Tecnologia e Geociências – CTG (P1), Ponte do Laboratório de

Imunopatologia Keizo Asami – LIKA (P2) e Ponte do Hospital das Clínicas – HC/Ambserv (P3), Figura 1. As amostras foram armazenadas em frascos de vidro com capacidade para 1 litro, sendo estes acondicionados em caixa térmica e encaminhadas para o Laboratório de Biologia Molecular (BioMol) da UFPE, onde foram mantidos em ambiente refrigerado a 4 °C até a realização das análises.

Figura 1 - Descrição geográfica dos pontos de coleta no Riacho Cavouco em Recife-PE.




Fonte: Autores, 2021.

**Análise físico-química**

As análises físico-químicas foram realizadas de forma automatizada utilizando multiparametro portátil HQ40d da Hach para determinação dos parâmetros de temperatura, pH, condutividade Oxigênio Dissolvido (OD), Potencial Redox (ORP), Demanda Química de Oxigênio (DQO).

**Análise de metais**

A determinação de Alumínio (Al), Cádmio (Cd), Cádmio (Cr), Cobre (Cu), Manganês (Mn), Níquel (Ni), Chumbo (Pb), Zinco (Zn) e Ferro (Fe) foi realizada usando um espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente

(ICP OES, Modelo 5100, Agilent Technologies, EUA). As seguintes condições operacionais foram utilizadas para o ICP OES: potência de radiofrequência de 1200 W, vazão do gás do plasma de 12 L $min^{-1}$, vazão do gás auxiliar de 1,0 L $min^{-1}$, vazão do gás de nebulização de 1,0 L $min^{-1}$, vazão da amostra de 1,0 mL $min^{-1}$, tempo de lavagem com a nova amostra (*flush time*) de 10 s, tempo de retardo na captação do sinal da nova amostra (*delay time*) de 15 s, nebulizador concêntrico e câmara de nebulização ciclônica. As seguintes linhas de emissão, em nm (nanômetro), foram monitoradas na vista axial do plasma: Al (396,152); Cd (228,802); Cr (267,716); Cu (324,754); Fe (238,204), Mn (257,610); Ni (231,604); Pb (220,353) e Zn (213,857). Argônio com pureza mínima de 99,999% (White Martins - Praxair, Brasil) foi usado nas determinações por ICP OES para a geração do plasma, na nebulização e como gás auxiliar.

**Análises de Coliformes Totais e *Escherichia coli***

As análises de coliformes totais e *Escherichia coli (E. coli)* foram realizadas por meio do método cromogênico (reagente cromogênio Colilert® e cartelas Quanti-Tray/2000) do fabricante IDEXX e os resultados foram expressos como Número Mais Provável (NMP) por 100 mL de amostra, para os três pontos investigados.

**Análise Parasitológica**

A análise parasitológica foi realizada por meio da técnica de sedimentação espontânea, conhecida como Método de Hoffman, Pons e Janer (2026) com adaptações. As amostras coletadas foram homogeneizadas e transferidas 100 mL de água para um cálice, ficando em repouso por um período de 24 horas. Após o período de repouso, o sedimento resultante foi coletado e analisado utilizando um microscópio óptico modelo Olympus® (objetivas de 10x e 40x) (PÓVOAS *et al*., 2020).

**Análises Cromatográficas**

As análises cromatográficas foram realizadas com o Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência, modelo LC-20AT da Shimadzu, com detectores de arranjo de diodo

e índice de refração.

## Análise Retrospectiva e Comparativa

Elaborou-se um estudo retrospectivo, de caráter analítico e descritivo, realizado por meio da análise de dados de estudos do período de 2013 a 2021 de monitoramento do Riacho Cavouco em comparativo com os dados atuais do presente estudo. Utilizou-se como comparativos variáveis quantitativas de parâmetros físico-químicos: temperatura, pH, OD e condutividade, dados quantitativos de metais pesados: Al, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn, Fe, assim como dados qualitativos de isolados bacterianos (gêneros e espécie). Os dados coletados foram tabulados no *Software Microsoft Excel 2016*, de modo que, foram excluídos aqueles que não possibilitariam a análise comparativa, principalmente ocasionada pela escassez de dados.

## Resultados e Discussão

## Análise físico-química

Para avaliar a qualidade da água do Riacho Cavouco, foram utilizadas análises físico-químicas normatizadas pela Resolução do CONAMA 357/200, que dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, as quais podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Avaliação dos parâmetros físico-químicos investigados em três pontos do riacho Cavouco.

| **Parâmetro** | **Amostras** | | | **Limítrofes** |
|---|---|---|---|---|
| | P1 | P2 | P3 | |
| Temperatura (°C) | 22,4 | 22,3 | 22,4 | ND |
| pH | 7,83 | 6,99 | 7,17 | 6-9 |
| Condutividade (µS $cm^{-1}$) | **1501** | **742** | **810** | ≤100 µS/cm |
| OD (mg $O_2$ $L^{-1}$) | 8,69 | 5,50 | **3,00** | ≥5 mg L-1 |
| ORP (mV) | 191,9 | 171,3 | 70,5 | ≥ 400 mV |
| DQO (mg $O_2$ $L^{-1}$) | **28** | **78** | **74** | 5,0 mg L-1 |

**Legenda:** OD – Oxigênio dissolvido; ORP – Potencial redox; DQO – Demanda química de oxigênio.

Nos três pontos analisados a temperatura apresentou uma variação de (22,3 ± 0,1), sendo, portanto, considerado um valor adequado para o ambiente investigado. A temperatura do ambiente aquático está diretamente relacionada com a penetração luminosa que, juntamente com os diferentes comprimentos de ondas, é responsável pelo balanço térmico da água. Este é um parâmetro que desempenha papel essencial no meio aquático, tendo em vista que pode ser influenciado por diversas variáveis físico-químicas, além de apresentar influências sobre as reações químicas que ocorrem nos organismos presentes neste meio (SOUSA et al., 2021).

O pH das amostras analisadas encontrou-se dentro dos limites aceitáveis pela legislação, apresentando uma variação de 6,99 (P2) para 7,83 (P1), como demonstrado na Tabela 1. O parâmetro pH expressa a concentração do íon hidrogênio e a intensidade da condição ácida ou básica de uma amostra, senda esta uma das variáveis ambientais mais importantes de se analisar (BRITO et al., 2020). Pode apresentar origem natural, quando é decorrente do processo de fotossíntese, dissolução de rochas e oxidação da matéria orgânica, já quando tem origem antropogênica é resultante de despejos domésticos e industriais (CHUKWURA; IBO, 2020).

Na legislação vigente, não há padrões para a condutividade. No entanto, valores acima de 100 µS/cm podem ser um indicativo de ambientes impactados. Desta forma, observa-se que em todos os pontos analisados o valor ultrapassou o que é estabelecido, sendo o (P1) o que apresentou o maior valor, 1501 µS/cm. Desta forma, os valores elevados nos pontos analisados são indicativos de que estes locais recebem grande quantidade de efluentes contendo substâncias químicas, as quais acarretam na elevação da condutividade da água Araújo e Oliveira (2013). Esta variável é importante para o diagnóstico de condutividade elétrica, pois indica a capacidade natural da água de transmitir corrente elétrica devido à presença de substâncias dissolvidas que se desagregam dos átomos em forma de ânions e cátions, sendo diretamente proporcional à concentração de íons nas águas (SANTOS; SANTOS; SILVA, 2018; UMEH et al., 2020).

Valores baixos de OD (Oxigênio Dissolvido) são resultantes do lançamento de efluentes domésticos e industriais, posto que quando há uma elevada concentração de matéria orgânica no meio, as bactérias fazem o uso do oxigênio nos seus processos respiratórios, acarretando na sua redução (POL et al., 2019), como observado no (P3), o qual apresenta um valor de 3,00 mg L-1, estando abaixo dos

limítrofes estabelecidos pela legislação. A avaliação do OD no ambiente aquático é de suma importância, tendo em vista que as concentrações deste está relacionado a manutenção da vida aquática.

Assim como a análise do OD, o ORP (Potencial Redox) é um parâmetro relacionado ao monitoramento de ambientes aquáticos, pois é capaz de fornecer informações adicionais sobre a qualidade da água e o grau de poluição (SOUSA et al., 2021). O Ministério do Meio Ambiente (MMA) estabelece valores para esta variável, visto que valores entre 200 mV e 600 mV indicam um meio fortemente oxidante e entre -100 mV e -200 mV indicam meios redutores (FIORUCCI; BENEDETTI FILHO, 2005). O ORP nos pontos investigados apresentou valores positivos, indicando condições oxidantes.

Em conjunto com os parâmetros citados anteriormente, o DQO (Demanda Química de Oxigênio) possibilita uma avaliação mais confiável da extensão da poluição no ambiente aquático, pois sua concentração eleva quando existe uma alta descarga de matéria orgânica e inorgânica, tendo como limite padrão 5,0 mg L-1 (POL et al., 2019; SANTOS; SANTOS; SILVA, 2018). Os valores elevados de DQO em todos os pontos analisados pode indicar a presença de matéria orgânica presente no meio, sendo que para a sua degradação será consumido maiores quantidades de oxigênio dissolvido, tornando um local suscetível a sofrer um déficit de oxigênio, podendo acarretar na incapacidade de sobrevivência de seres vivos neste ambiente (CHAGAS; LIMA; FELICI, 2020).

**Análise de metais**

Diante das diversas formas de contaminação do ambiente aquático, a contaminação por metais pesados tem trazido preocupações aos pesquisadores e órgãos governamentais devido ao seu potencial de toxicidade para os organismos aquáticos e para a saúde da população (CARVALHO et al., 2017). As análises realizadas nos três pontos de estudo, detectaram alguns metais na água do riacho Cavouco. A tabela 2, apresenta os valores encontrados e compara com os valores limítrofes estabelecidos pela Portaria nº 2914, de 12 de dezembro de 2011 do MS.

Tabela 2 - Concentração de metais detectados nos três pontos do riacho Cavouco e comparação dos seus valores com o estabelecido pela legislação.

| Minerais (mg $L^{-1}$) | P1 | P2 | P3 | Limítrofes (mg/L) |
|---|---|---|---|---|
| Al | **0,67** | **0,44** | **0,64** | 0,2 |
| Cd | < 0,0017 | < 0,0017 | < 0,0017 | 0,005 |
| Cr | < 0,0021 | 0,0023 | 0,0037 | 0,05 |
| Cu | 0,014 | < 0,0054 | < 0,0054 | 2 |
| Mn | 0,056 | 0,079 | **0,23** | 0,1 |
| Ni | < 0,0087 | < 0,0087 | < 0,0087 | 0,07 |
| Pb | < 0,016 | < 0,016 | < 0,016 | 0,01 |
| Zn | < 0,018 | 0,018 | 0,023 | 5 |
| Fe | **0,85** | **0,50** | **0,82** | 0,3 |

**Legenda:** Al – Alumínio, Cd -Cádmio, Cr -Cromo, Cu – Cobre, Mn - Manganês, Ni – Níquel, Pb - Chumbo, Zn – Zinco, Fe - Ferro.

Todos os metais analisados foram detectados nos três pontos investigados. No entanto, o alumínio e o ferro apresentaram valores superiores aos limítrofes em todos os locais, bem como o manganês que apresentou teores elevados no P3 Estes resultados são semelhantes ao encontrado por Araújo e Oliveira (2013) em estudos anteriores. Concentrações de alumínio na água com valores superiores a 0,2 mg/$L^{-1}$ podem gerar gosto desagradável, além de ser um composto neurotóxico, pois existem alguns relatos que relacionam seu acúmulo no homem ao desevolvimento do mal de Alzheimer (CARVALHO et al., 2017).

Resultados similares referente a presença de manganês foram observados no estudo de Melo et al., (2018), o qual relacionou a presença desse metal com a presença de matéria orgânica no ambiente. Já Araújo e Oliveira (2013), associou os metais manganês e ferro com o acúmulo de matéria orgânica no ambiente aquático.

A presença de metais nos ambientes aquáticos são provenientes principalmente de efluentes industriais, urbanos e agrícolas, sendo estes lançados diretamente no ambiente, o que acarreta em danos à saúde das plantas, animais e seres humanos (KUMAR et al., 2019). Desta maneira, altas concentrações de metais em ambientes aquáticos está relacionada a redução da qualidade da água, por isso a detecção dessas substâncias auxilia na predição dos danos ocasionados a este ambiente, tendo em vista que não são biodegradáveis, e mesmo em concentrações

baixas podem ocasionar impactos negativos (SALL *et al*., 2020).

## Análise de coliformes e parasitológica

Os três pontos investigados mostraram-se positivos para coliformes totais e *E. coli.* Diante da análise foi demonstrada uma variação do NMP de 2**,**0 x $10^5$ a >2,4 x $10^7$ para coliformes totais e de 1,1 x $10^4$ a 2,0 x $10^6$ para *E. coli*, (Tabela 3).

Tabela 3 - Análise de coliformes totais e E. coli nos três pontos investigados.

| **Pontos de amostragem** | | |
|---|---|---|
| | **Coliformes totais (NMP/100ml)** | ***E. coli* (NMP/100ml)** |
| P1 | **>2,4 x $10^7$** | **2,0 x $10^6$** |
| P2 | **2,0 x $10^5$** | **1,1 x $10^4$** |
| P3 | **2,6 x $10^5$** | **3,5 x $10^4$** |

aNMP – Número Mais Provável.

A análise de coliformes e *E. coli* são utilizados como bioindicadores para avaliar a qualidade da água, indicando a presença de contaminação fecal de origem animal e humana, visto que, esses indicadores biológicos são organismos vivos que podem indicar mudanças causadas pela poluição, ocasionando impactos tanto no ecossistema aquático como a saúde humana (ANDRADE; BARROS, 2019).

Os resultados apresentados na presente pesquisa se assemelham com o descrito no estudo realizado por Moura; Assumpção e Bischoff (2021), revelando que esta água está impropria para o uso humano e animal, além de demonstrar elevado risco para a saúde. Atualmente, a avaliação destes parâmetros é utilizada como bioindicador da qualidade da água destinada para o consumo humano e balneabilidade (GORONSKI et al., 2021). Todavia, diante do estabelecido como limítrofe pela Resolução do CONAMA 357/2005, as amostras de água analisadas apresentam má qualidade higiênico-sanitária e não atendem aos padrões definidos pela legislação em vigor, visto que, neste local há o despejo de esgoto sanitário de forma irregular por comunidades circunvizinhas, resíduos hospitalares e laboratoriais, o qual acarreta no processo de contaminação e poluição do ambiente.

Em relação a análise parasitológica, apenas o P2 mostrou-se positivo para a presença de *Paramecium.* Neste ponto ocorre o despejo de resíduos laboratoriais oriundos de pesquisas. A presença desta espécie neste local indica uma estagnação de matéria orgânica em decomposição na água, visto que, esse protozoário é caracterizado por ser sensível as mudanças ambientais, e considerado, portanto, um bioindicador de qualidade da água, principalmente em curtos períodos de tempo, devido a sua elevada taxa metabólica (PINHEIRO; TORRES; FERREIRA, 2017).

**Análises Cromatográficas**

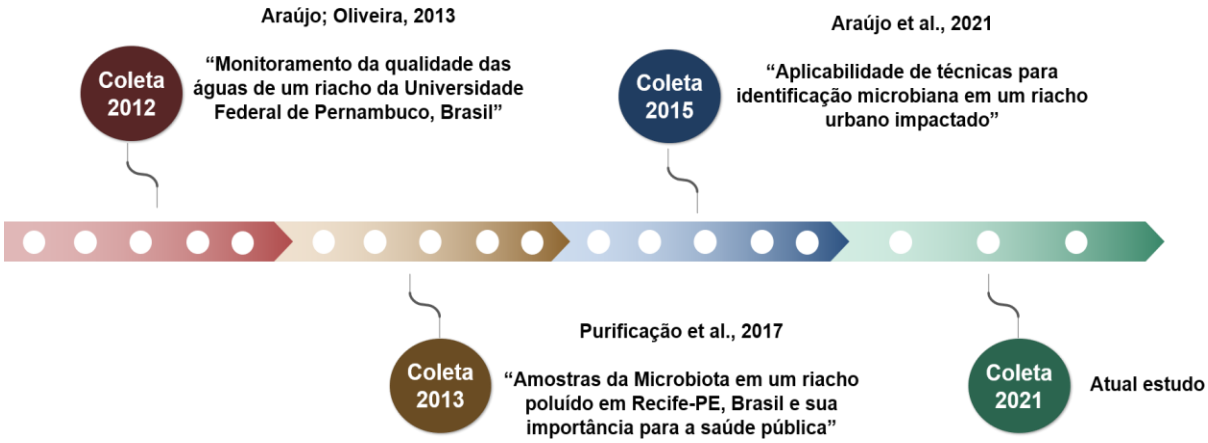
As análises cromatográficas foram direcionadas a detecção de algumas substâncias: anilina, ácido benzoico, catecol, ácidos orgânicos voláteis (acético, propanoico, isobutanoico, butanoico, isopentanoico, pentanoico, hexanoico), açúcares (sacarose, glicose, frutose), álcoois (glicerol, 1,3 propanodiol, etanol, butanol), 2,4-diaminoanisol (DAAN), 2,4-dinitroanisol (DNAN) e 2-metoxi-5-nitroanilina (MENA). Felizmente, nenhuma dessas substâncias foi detectada nos trechos investigados.

Portanto, uma das técnicas cromatográficas mais utilizadas em análises de contaminantes ambientais é a Cromatografia Líquida (CL), que possibilita a detecção de distintas propriedades físico-químicas e substâncias (MOLINA et al., 2014). Sendo assim, a não detecção destes contaminantes no Riacho Cavouco pode ser explicado pela presença em quantidades inferiores aos limites de detecção do Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência modelo LC-20AT. Outra questão que pode justificar a não detecção destas amostras neste riacho é o volume de água do ambiente, o qual auxilia na diluição dos mesmos.

**Análise retrospectiva e comparativa**

A análise retrospectiva consistiu em apanhados de estudos de monitoramento do Cavouco de 2013-2021 em comparativo com dados do atual estudo. Na Figura 2 observa-se um esquema representativo de linha do tempo, o qual apresenta as datas das respectivas coletas amostrais dos estudos e quantificação dos pontos específicos coletados, assim como é demonstrado na Tabela 4 os principais parâmetros físico-químicos e metais analisados pelos autores.

Figura 2 - Linha do tempo com descrição dos estudos realizados no riacho Cavouco.




**Fonte:** Autores, 2021.

Em Relação aos resultados, as Tabelas 4,5,6 apresentam dados dos principais parâmetros físico-químicos, metais e isolados bacterianos dos estudos comparativos.

Tabela 4 - Comparativo de parâmetros físico-químicos do Riacho Cavouco.

| Pontos | Temperatura | pH | OD | Condutividade | Estudos |
|---|---|---|---|---|---|
| **Nascente** | 30 | 9 | 8 | 600 | Araújo; Oliveira, 2013 |
| **Ponto do CTG** | 28 | 7 | **1** | **1500** | Araújo; Oliveira, 2013 |
| | 22,4 | 7,83 | 8,69 | **1501** | Atual, 2021 |
| **Ponto da BC** | 29 | 8 | **2,5** | **1400** | Araújo; Oliveira, 2013 |
| **Ponto do LIKA** | 28,8 | 8 | **4** | **1400** | Araújo; Oliveira, 2013 |
| | 22,3 | 6,99 | 5,50 | **742** | Atual, 2021 |
| **Ponto do HC** | 28,8 | 7 | **2** | **1300** | Araújo; Oliveira, 2013 |
| | 22,4 | 7,17 | **3,00** | **810** | Atual, 2021 |

**Legenda:** CTG – Centro de Tecnologia e Geociências, BC – Biblioteca Central, LIKA- Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, hc – Hospital das Clínicas, OD – oxigênio Dissolvido.

Tabela 5 - Comparativo de metais no Riacho Cavouco.

| Pontos | Al | Cd | Cr | Cu | Mn | Ni | Pb | Zn | Fe | Estudos |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Nascente** | - | ND | ND | ND | ND | - | ND | ND | **1,32** | Araújo; Oliveira, 2013 |
| **Ponto do CTG** | - | ND | ND | ND | 0,06 | - | ND | ND | 0,26 | Araújo; Oliveira, 2013 |
| | **0,67** | < 0,0017 | < 0,0021 | 0,014 | 0,056 | < 0,0087 | < 0,016 | 0,018 | **0,85** | Atual, 2021 |
| **Ponto da BC** | **-** | ND | ND | ND | ND | - | ND | ND | 0,28 | Araújo; Oliveira, 2013 |
| **Ponto do LIKA** | **-** | ND | ND | ND | 0,02 | - | ND | ND | 0,22 | Araújo; Oliveira, 2013 |
| | **0,44** | < 0,0017 | 0,0023 | < 0,0054 | 0,079 | < 0,0087 | < 0,016 | 0,018 | **0,50** | Atual, 2021 |
| **Ponto do HC** | **-** | ND | ND | ND | 0,12 | - | ND | ND | 0,25 | Araújo; Oliveira, 2013 |
| | **0,64** | < 0,0017 | 0,0037 | < 0,0054 | 0,23 | < 0,0087 | < 0,016 | 0,023 | **0,82** | Atual, 2021 |

**Legenda:** Al – Alumínio, Cd -Cádmio, Cr -Cromo, Cu – Cobre, Mn - Manganês, Ni – Níquel, Pb - Chumbo, Zn – Zinco, Fe - Ferro.

Tabela 6 - Comparativo de isolados bacterianos no Riacho Cavouco.

| Pontos | Gêneros | Espécies | Estudos |
|---|---|---|---|
| **Nascente** | *Bacillus, Escherichia* | *Bacillus cereus* | Purificação et al., 2017 |
| | *Bacillus, Staphylococcus* | *Bacillus cereus, Staphylococcus saprophyticus, Bacillus pumulis* | Araújo et al., 2021 |
| **Ponto do CTG** | *Klebsiella, Escherichia* | *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* | Purificação et al., 2017 |
| | *Bacillus, Staphylococcus, Brachybacterium, Acinetobacter, Enterobacter, Klebsiella, Escherichia* | *Bacillus cereus, Escherichia coli, Bacillus pumulis, Brachybacterium faecium, Staphylococcus sciuri, Staphylococcus saprophyticus, Enterobacter kobei, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter radioresistens* | Araújo et al., 2021 |
| **Ponto da BC** | *Proteus , Pseudomonas, Klebsiella , Escherichia* | *Proteus mirabilis, Pseudomonas sp., Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli* | Purificação et al., 2017 |
| | *Bacillus, Exiguobacterium, Acinetobacter, Enterobacter, Brevundiomonas, Klebsiella, Escherichia,* | *Acinetobacter radioresistens, Klebsiella pneumoniae, Bacillus cereus, Escherichia coli, Pseudomonas sp., Enterobacter asburiae, Enterobacter kobei, Brevundiomonas diminuta, Exiquobacterium sp.* | Araújo et al., 2021 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | *Pseudomonas* | | |
| **Ponto do LIKA** | *Bacillus, Exiquobacterium, Enterobacter, Klebsiella, Escherichia* | *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter clocae, Bacillus licheniformis, Bacillus pumilis, Exiquobacterium spp.* | Purificação et al., 2017 |
| | *Bacillus, Enterobacter, Alcaligenes, Klebsiella, Proteus, Escherichia, Providencia* | *Alcaligenes faecalis Bacillus pumulis, Enterobacter clocae, Klebsiella pneumoniae, Bacillus sp., Escherichia coli, Providencia rettgeri, Proteus mirabilis* | Araújo et al., 2021 |
| **Ponto do HC** | *Proteus* | *Proteus mirabilis* | Purificação et al., 2017 |
| | *Bacillus, Staphylococcus, Proteus, Escherichia, Brevundiomonas* | *Proteus mirabilis, Bacillus cereus, Brevundiomonas diminuta, Staphylococcus sciuri, Escherichia coli* | Araújo et al., 2021 |

De acordo com os dados apresentados, percebe-se que os parâmetros físico-químicos do Riacho Cavouco permaneceram sem grandes oscilações de 2013 a 2021. Entretanto, observa-se que o oxigênio dissolvido e a condutividade obtiveram altos valores nos dois estudos, principalmente no ponto a partir do CTG até o Ponto do HC. Já os metais apresentaram maiores oscilações, de modo que, foram detectados e quantificados um maior número de metais no atual estudo, se comparados ao anterior de Araújo e Oliveira (2013), como exemplo o Ferro que demonstrou crescente sua detecção no período de 2013-2021, além do Alumínio também que esteve acima dos limítrofes permitidos.

Para os isolados bacterianos, o estudo de Araújo et al., 2021 apresentou uma totalidade de 50 isolados. Dentre esses, foram identificados 13 gêneros e 20 espécies diferentes, resultando em maior abundância de bactérias gram-negativas. O estudo de Purificação et al. (2017) demonstrou um total de 25 isolados, com identificação de 7 gêneros e 10 espécies bacterianas distintas, além de apresentar maior predominância também de bactérias gram-negativas.

A partir dos resultados comparativos evidencia-se que o Riacho Cavouco tem sofrido impactações degradativas em seu ambiente ao longo dos anos, devendo-se possivelmente as descargas de poluentes químicos oriundos de laboratórios de ensino e pesquisas do *Campus*, além de resíduos de unidades de saúde e de ocupações circunvizinhas, principalmente no trecho entre o CTG e o HC. Portanto, essa poluição constante contribuiu para o aumento gradativo de metais no riacho, tanto de alumínio quanto de ferro, assim como o surgimento de novos metais detectados na água, o qual possuem características de toxicidade que podem

causar perigos à saúde humana e serem indicadores de bioacumulações de cargas orgânicas no ambiente. O comparativo dos respectivos isolados bacterianos também evidenciaram a crescente quantidade de gêneros a partir do Ponto do CTG até o Ponto do HC, corroborando com o fato de que estes são pontos cruciais de negligenciamento no descarte de poluentes diretamente no riacho, o que ocasiona variedade bacteriana, uma vez que estas possuem uma elevada capacidade adaptativa.

## Conclusões

O trecho do Riacho Cavouco possui diferentes características, tanto físico-químicas quanto microbiológica. Percebe-se que ao longo do tempo a condição ambiental desse ambiente diminuiu, sobretudo no acúmulo de metais quantificados na água, apesar da diminuição das atividades durante o período de suspensão de atividades presenciais no *Campus*.

Estudos retrospectivos e comparativos de ambientes aquáticos devem ser realizados com mais frequência, pois revela as condições do ambiente oportuniza para um melhor planejamento das atividades de gestão e da sociedade nas conservações destes recursos hídricos.

## Referências

ALMEIDA, Cristina MM. Overview of Sample Preparation and Chromatographic Methods to Analysis Pharmaceutical Active Compounds in Waters Matrices. **Separations**, v. 8, n. 2, p. 16, 2021.

ANDRADE, Gabriela Felismino de; BARROS, Daniela Bomfim de. Bioindicadores microbiológicos para indicação de poluição fecal. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 34, p. e1099-e1099, 2019.

ARAÚJO, Marlyete Chagas de; OLIVEIRA, Maria Betânia Melo de. Monitoramento da qualidade das águas de um riacho da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil. **Revista Ambiente & Água**, v. 8, p. 247-257, 2013.

BRITO, Fábio Sergio Lima et al. Comportamento das variáveis físico-químicas da água do lago Bolonha-Belém-PA. **Brazilian journal of development**, v. 6, n. 1, p. 1738-1757, 2020.

CARVALHO, Marllon Santos et al. Concentração de metais no rio Doce em Mariana, Minas Gerais, Brasil. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 3, p. 37-41, 2017.

COMETTI, José Luís Said; CABRAL, Jaime Joaquim Pereira; CONCEIÇÃO, Taylse Marielly. Indicadores de pressão-estado-resposta para avaliação da conservação ambiental de riachos urbanos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 10, n. 6, p. 194-205, 2019.

CHAGAS, Danielli; LIMA, Ana Paula da Silva Caciano; FELICI, Elson Mendonça. ANÁLISE DE PARAMETROS FISICO-QUIMICOS DA ÁGUA DA MICROBACIA SÃO JORGE, TARABAI-SP. In: **Colloquium Exactarum. ISSN: 2178-8332**. 2020. p. 86-94.

FERNÁNDEZ, Virginia Pérez *et al.,* Recent advancements and future trends in environmental analysis: Sample preparation, liquid chromatography and mass spectrometry. **Analytica chimica acta**, v. 983, p. 9-41, 2017.

GARCIAS, Carlos Mello et al. Revitalização de rios urbanos: estudo de caso bacia do rio Belém, Curitiba-PR. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 2, p. 6088-6096, 2020.

GORONSKI, Felipe et al. QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO EM MUNICÍPIOS DO NORTE DO RIO GRANDE DO SUL. In: **Congresso Internacional em Saúde**. 2021.

KUMAR, Vinod et al. Global evaluation of heavy metal content in surface water bodies: A meta-analysis using heavy metal pollution indices and multivariate statistical analyses. **Chemosphere**, v. 236, p. 124364, 2019.

LEITE JUNIOR, Mauricio Cezar Resende et al. Análise da qualidade da água dos Rios Verde e do peixe no Distrito Industrial do Município de Três Corações, Minas Gerais. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 3, p. 1339-1348, 2020.

MELO, Ana Karla Mendes et al. Análise parasitológica de Lactuca sativa em feiras livres de Nova Glória, Goiás, Brasil. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 5, 2021.

MELO, Denis Freitas Barreto Campello et al. Avaliação da Bacia do rio Una-Pernambuco: perspectiva da qualidade da água após a construção de 4 barragens para contenção de cheias **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 11, n. 2, p. 612-627, 2018

MOLINA, José Robles-*et al.,* Método multirresíduo para a determinação de mais de 400 poluentes prioritários e emergentes em água e efluentes por extração em fase sólida e espectrometria de massa por cromatografia líquida de tempo de vôo. **Journal of Chromatography A**, v. 1350, p. 30-43, 2014.

MOURA, A. C.; ASSUMPÇÃO, R. A. B.; BISCHOFF, J. Monitoramento físico-químico e microbiológico da água do rio Cascavel durante o período de 2003 a 2006. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, p. 17-22, 2021.

NUNES, Likaele Moreira et al. Pesquisa de coliformes totais e termotolerantes no rio Salgadinho no município de Juazeiro do Norte, CE. **Revista Eletrônica Acervo Científico**, v. 7, p. e2243-e2243, 2019.

PINHEIRO, Juliana Heloisa Pinê Américo; TORRES, Nádia Hortense; FERREIRA, Luiz Fernando Romanholo. Protistas ciliados e seu potencial uso como

bioindicadores de qualidade de água. **Revista Científica ANAP Brasil**, v. 10, n. 18, 2017.

POL, Jeferson Jeldoci et al. Avaliação ambiental da água superficial do arroio schmidt (Campo Bom, RS), por meio de análises físico-química, biológica e toxicológica em dois pontos. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 8, n. 3, p. 159-171, 2019.

PÓVOAS, Lucas Vieira *et al*., Avaliação físicoquímica e microbiológica da qualidade da água do rio Cachoeira, Bahia, BR. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 61258-61269, 2020.

PURIFICAÇÃO, Antonio Fernando et al. Microbiota sampled from a polluted stream in Recife-PE, Brazil and its importance to public health. **African Journal of Microbiology Research**, v. 11, n. 28, p. 1142-1149, 2017.

SALL, Mohamed Lamine *et al*., Toxic heavy metals: impact on the environment and human health, and treatment with conducting organic polymers, a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 29927-29942, 2020.

SANTANA, Letícia Rocha; BEZERRA, Onilda Gomes; SILVA, Joelmir Marques. Riacho do Cavouco: um patrimônio natural e cultural. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 8, n. 1, 2020.

SANTOS, Nathália Bandeira Carvalho; SANTOS, Rayza Helen Graciano; SILVA, Ronaldo Faustino. Aplicação da Análise Multivariada e da Resolução CONAMA 357/2005 para Análise da Qualidade de Água em Rios de Pernambuco (Application of Multivariate Analysis and Resolution CONAMA 357/2005 for Analysis of Water Quality in Rivers of Pernambuco). **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 11, n. 5, p. 1859-1875, 2018.

SOUSA, Marcos Jean Araújo et al. Índice de qualidade da água da sub-bacia do Riacho Cacau, Portal da Amazônia Imperatriz-MA. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e45510212631-e45510212631, 2021.

UMEH, Odera R. *et al*., Evaluation of the physicochemical, bacteriological and parasitological quality of selected well water samples in Awka and its environment, Anambra State, Nigeria. **Archives of Agriculture and Environmental Sciences**, v. 5, n. 2, p. 73-88, 2020.

# 5 CONCLUSÕES

- Os Resultados analisados sobre o Riacho Cavouco indicam que os parâmetros investigados estão fora dos padrões definidos pela legislação em vigor, indicando que a água deste ambiente está imprópria para consumo humano e animal.

- Os dados apontados na aplicabilidade de técnicas moleculares na identificação de bactérias revelou ser a técnica de MALDI-TOF-MS útil para caracterização de bactérias de ambientes aquáticos impactados;

- O acréscimo de isolados bacterianos do Riacho Cavouco à bacterioteca de ambientes impactados da UFPE, demonstra um aporte significativo para a caracterização da microbiota e realizações de pesquisas futuras;

- Os dados da análise retrospectiva e comparativa evidenciaram a bioacumulação gradativa de metais tóxicos e matéria orgânica neste riacho, sobretudo a presença de bactérias patogênicas ao longo dos anos, o qual demonstra que este ambiente apresenta crescentes danos os quais podem causar prejuízos à saúde humana;

- Os resultados também abordam sobre a necessidade de um monitoramento contínuo do Riacho Cavouco, para a manutenção e conservação desse ambiente aquático, de modo que, objetive a diminuição de riscos a saúde pública, principalmente de doenças de veiculação hídrica.

# 6 SÚMULA CURRICULAR

- Biomarkers as a tool to monitor environmental impact on Aquatic Ecosystems. Link: file:///C:/Users/Milena/Downloads/17871-46056-1-PB%20(3).pdf
- Analysis of Exogenous Poisoning by Pesticide in the State of Bahia-Brazil during the Period from 2007 to 2017. Link: https://www.intechopen.com/chapters/73903
- Biotechnological Potential of Carotenoids Produced by Extremophilic Microorganisms and Application Prospects for the Cosmetics Industry. Link: https://www.scirp.org/journal/paperinformation.aspx?paperid=102537.
- Mecanismos de resistência aos antibióticos beta-lactâmicos. Link: https://editoraomnisscientia.com.br/editora/livros/0402091.pdf
- Resistência antimicrobiana e os impactos na saúde pública: uma revisão integrativa. Link: https://editoraomnisscientia.com.br/editora/livros/0402091.pdf
- Mecanismo de resistência genética de *Acinetobacter baumannii* à carbapenêmicos.
- Aplicação biotecnológica de microrganismos na bioremediação de ambientes impactados com polietileno.
- Curso ministrado: IV Curso de Extensão em Biologia Molecular aplicada ao Diagnóstico Laboratorial.
- 1º Simpósio de Bioquímica E Biologia Molecular
- CINASAMA - Congresso Internacional de Saúde e Meio Ambiente.
- V Encontro Multidisciplinar de Biologia e Saúde CAV/UFPE.
- I Congresso Brasileiro de Ciências Biológicas On-line.
- I Congresso Norte-Nordeste de Saúde Pública.
- II Congresso Internacional de Saúde Única
- Palestra ministrada: Impactos ambientais causados ao ecossistema aquático: Biomarcadores como ferramenta para avaliação da exposição a contaminantes.

## REFERÊNCIAS

ALVES, Luciano; MARTINS, Lorena Alencar; JESUS, Lucineide Bispo. Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Camarajipe (Salvador–Brasil): diagnóstico dos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e determinação do IQA. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 6, n. 1, 2019.

ARAÚJO, L.C.A.; PURIFICAÇÃO-JÚNIOR, A.F.; SILVA, S.M.; LOPES, A.C.S.; VERAS, D.L.; ALVES, L.C.; SANTOS, F.B.; NAPOLEÃO, T.H.; CORREIA, M.T.S.; SILVA, M.V.; OLIVA, M.L.V.; OLIVEIRA, M.B.M. *In vitro* evaluation of mercury (Hg2+) effects on biofilm formation by clinical and environmental isolates of *Klebsiella pneumoniae*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 169: 669-677, 2019.

ARAÚJO, M.C.B.; SILVA-CAVALCANTI, J.S.; COSTA, M.F. Anthropogenic Litter on Beaches with Different Levels of Development and Use: A Snapshot of a Coast in Pernambuco (Brazil). **Front. Mar. Sci**. 5, 233, 2018.

ARAÚJO, Marlyete Chagas de; OLIVEIRA, Maria Betânia Melo de. Monitoramento da qualidade das águas de um riacho da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil. **Revista Ambiente & Água**, v. 8, p. 247-257, 2013.

AVANZI, Ingrid Regina et al. Rapid bacteria identification from environmental mining samples using MALDI-TOF MS analysis. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 4, p. 3717-3726, 2017.

BEIRAS, Ricardo. **Marine pollution: sources, fate and effects of pollutants in coastal ecosystems**. Elsevier, 2018.

BERNHARDT, Emily S.; ROSI, Emma J.; GESSNER, Mark O. Synthetic chemicals as agents of global change. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 15, n. 2, p. 84-90, 2017.

BOAKYE, E. Y.; LAWSON, I. Y. D.; DANSO, S. K. A.; OFFEI, S. K. Characterization and diversity of rhizobia nodulating selected tree legumes in Ghana. **Symbiosis**, v. 69, pp 89– 99, 2016.

BORAH, Probodh. Molecular typing of bacterial pathogens with special reference to Salmonella. 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Probodh Borah/publication/332523417_Molecular_typing_of_bacterial_pathogens_with_special_reference_to_Salmonella/links/5cb9802892851c8d22f5cb58/Molecular-typing-of-bacterial-pathogens-with-special-reference-to-Salmonella.pdf. Acesso em: 10.11.2021

CARDOSO, Simone Jaqueline *et al.,* The role of sediments in the carbon and pollutant cycles in aquatic ecosystems. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 31, 2019.

CARTAXO, Amanda da Silva Barbosa et al. Contaminantes emergentes presentes em águas destinadas ao consumo humano: ocorrência, implicações e tecnologias de tratamento. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 61814-61827, 2020.

CARTAXO, Amanda da Silva Barbosa *et al.,* Contaminantes emergentes presentes em águas destinadas ao consumo humano: ocorrência, implicações e tecnologias de tratamento. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 61814-61827, 2020.

DUARTE, Ricardo Franco *et al.,* Advances in chemical and biological methods to identify microorganisms—from past to present. **Microorganisms**, v. 7, n. 5, p. 130, 2019.

DUBOIS, Nathalie et al. First human impacts and responses of aquatic systems: A review of palaeolimnological records from around the world. **The Anthropocene Review**, v. 5, n. 1, p. 28-68, 2018.

ELSAYED, Nesreen A.; BARRUFET, Maria A.; EL-HALWAGI, Mahmoud M. Integration of thermal membrane distillation networks with processing facilities. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 53, n. 13, p. 5284-

5298, 2014.

ESPINDULA, J. C.; SANTOS, A. C. Características hidrogeológicas e vulnerabilidade do aqüífero freático na área do cemitério da Várzea – Recife/PE. **Revista Águas Subterrâneas**, v. 28, n. 1, 2014.

FROES, Bruna Heloisa Cadete; LIMA, Ana Beatriz Carollo. Avaliação preliminar dos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e organolépticos do Rio Jundiaí e comparação com os padrões estabelecidos para o seu enquadramento. **Unisanta BioScience**, v. 9, n. 1, p. 46-53, 2020.

GARCÍA, Joan et al. A review of emerging organic contaminants (EOCs), antibiotic resistant bacteria (ARB), and antibiotic resistance genes (ARGs) in the environment: Increasing removal with wetlands and reducing environmental impacts. **Bioresource technology**, v. 307, p. 123228, 2020.

GARCIA, Sarahi L. et al. Contrasting patterns of genome-level diversity across distinct co-occurring bacterial populations. **The ISME journal**, v. 12, n. 3, p. 742-755, 2018.

HÄDER, Donat-P. et al. Anthropogenic pollution of aquatic ecosystems: Emerging problems with global implications. **Science of the Total environment**, v. 713, p. 136586, 2020.

JOUSSET, Alexandre et al. Where less may be more: how the rare biosphere pulls ecosystems strings. **The ISME journal**, v. 11, n. 4, p. 853-862, 2017.

LORENZO, María; CAMPO, Julián; PICÓ, Yolanda. Analytical challenges to determine emerging persistent organic pollutants in aquatic ecosystems. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 103, p. 137-155, 2018.

MARECKOVA, Marketa Sagova et al. Expanding ecological assessment by integrating microorganisms into routine freshwater biomonitoring. **Water Research**, p. 116767, 2020.

MARTINS, Fábio S.; ANTUNES, Sara C. Qualidade ecológica de ecossistemas aquáticos. **Revista de Ciência Elementar**, v. 7, n. 2, 2019.

NEWTON, Ryan J.; MCCLARY, Jill S. The flux and impact of wastewater infrastructure microorganisms on human and ecosystem health. **Current opinion in biotechnology**, v. 57, p. 145-150, 2019.

NOWAKIEWICZ, A.; ZIOAOKOWSKA, G.; ZIEBA, P.; GNAT, S.; TROSCIANCZYK, A.; ADASZEK, E. Characterization of Multidrug Resistant E. faecalis Strains from Pigs of Local Origin by ADSRRS-Fingerprinting and MALDI-TOF-MS; Evaluation of the Compatibility of Methods Employed for Multidrug Resistance Analysis. **Plos One**, v.30, 2017.

PINTANEL, Suelen Ramires; CECCONELLO, Samanta Tolentino; CENTENO, Luana Nunes. Análise da correlação entre os indicadores de saneamento básico e as doenças de veiculação hídrica em municípios do sul do Rio Grande do Sul. **Revista Ambientale**, v. 13, n. 2, p. 41-52, 2021.

PURIFICAÇÃO, A. F. J; ARAÚJO, L. C. A.; LOPES, A. C. S.; SOBRAL, M. A.; LIMA, G. M. S.; SILVA, M. V.; SANTOS, M.T.C.; OLIVEIRA, M.B.M. Microbiota sampled from a polluted stream in Recife-PE, Brazil and its importance to public health. Afr. **J. Microbiol. Res**. Vol. 11(28), pp. 1142-1149, 2017.

QUINELATO, Raquel Viana et al. Análise espaço temporal da qualidade da água dos rios Peruípe, Itanhém e Jucuruçu, Bahia. **Scientia Plena**, v. 16, n. 7, 2020.

RESENDE, Juliana Alves; SILVA, Vâni Lúcia da, DINIZ, Claudio Galuppo. Aquatic environments in the One Health context: modulating the antimicrobial resistance phenomenon. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 32, 2020.

SAUGET, M.; VALOT, B.; BERTRAND, X.; HOCQUET, D. Can MALDI-TOF Mass Spectrometry Reasonably Type Bacteria? **Trends in Microbiology**, 25(6):447-455, 2016.

SINGH, Jyoti et al., Water pollutants: Origin and status. In: Sensors in Water Pollutants Monitoring: Role of Material. **Springer,** Singapore. p. 5-20, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.,* **Progress on household drinking water, sanitation and hygiene 2000-2017: special focus on inequalities**. World Health Organization, 2019.