



ARN-05 DETECÇÃO *in situ* DE FUNGOS FILAMENTOSOS EM TUBOS DA REDE DE DISTRIBUIÇÃO DE ÁGUA POTÁVEL NA ÁREA METROPOLITANA DE RECIFE

Oliveira, M. H. B.¹; Gonçalves, A. B.²; Siqueira, V. M.²; Carneiro-da-Cunha, M. G.³; Lima, N.²

¹Laboratório Central da Companhia Pernambucana de Saneamento - COMPESA, Recife, PE, Brasil

²IBB, Centro de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Braga, Portugal

³Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil

helenambo@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Na maioria das redes de água potável, a interface entre água e a parede da canalização é um local para acumulação de matéria orgânica, de microrganismos, e onde ocorre a multiplicação e colonização microbiana. A comunidade microbiana formadora de biofilmes inclui bactérias, fungos filamentosos, leveduras, protozoários e outros microrganismos. Todavia, a contribuição de fungos filamentosos na formação de biofilmes nos sistemas de distribuição de água potável ainda é uma área pouco estudada, se comparada à contribuição das bactérias já reconhecida [1]. Contudo, qualquer que seja a natureza dos microrganismos num biofilme, ao colonizarem a rede de distribuição, provocarão problemas operacionais, deterioração da qualidade da água com implicações na saúde pública e perdas econômicas para empresa de saneamento. No biofilme os microrganismos estão mais resistentes à ação de agentes químicos e físicos, como aqueles usados no procedimento de higienização. Com o presente trabalho visamos detectar *in situ* a presença de biofilmes fúngicos, na rede de distribuição de água potável, na área metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparação das amostras: Quatro tubos de PVC, de vários diâmetros, foram obtidos da rede de distribuição gerida pela COMPESA. Para preparação das amostras, cada tubo foi seccionado em peças de 1 cm² tendo havido o cuidado de manter o tubo arrefecido durante a operação de corte. Após esta operação as amostras foram lavadas com água destilada e esterilizada e mantidas no escuro e umedecidas.

Colorações: Para a detecção de fungos filamentosos *in situ* nos biofilmes presentes nas amostras, foi utilizado a técnica de coloração com Calcofluor White M2R [2] que tem a capacidade de se ligar à quitina, polissacarídeo presente nas paredes celulares dos fungos. Para este efeito, foram adicionados a cada amostra 100 µl de Calcofluor com concentração de 25 µM e mantidos em ambiente escuro durante 10 min. Em seguida, as amostras foram lavadas com 200 µl de água destilada estéril e coradas com 100 µl de DAPI (4,6-diamino-2-fenil indol) na concentração de 0,1mg/ml, durante 10 min no escuro. Por último, as amostras foram novamente lavadas com 200 µl de água destilada.

Microscopia: Após coloração as amostras foram observadas utilizando o microscópio de epifluorescência Olympus BX 51 com luz de excitação ultravioleta nos 346 nm, e aquisição de sinal no azul para os dois corantes usados. É de referir que o azul respectivo à coloração com Calcofluor é mais intenso e mais brilhante do que aquele observado com o DAPI. Este último corante permite visualizar a componente bacteriana presente nos biofilmes. As objectivas utilizadas foram UPlanFL N 10X/0,30 e 40X/0,75.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A observação microscópica das amostras permitiu-nos detectar filamentos fúngicos em 25% das amostras, ou seja, apenas um dos quatro tubos estudados. As estruturas fúngicas existentes no tubo



apresentam um tamanho razoavelmente maior quando comparado com o tamanho das bactérias e são bem visíveis e detectáveis com a objectiva 10X/0,30 (Fig. 1). Adicionalmente, a sua estrutura filamentosa em forma de micélio associada à natureza quitinosa posta em evidência pela coloração com Calcofluor revela-nos a presença destes microrganismos *in situ* na tubagem da rede de distribuição de água potável, na área metropolitana de Recife. Casos semelhantes foram observados em outros países, como Portugal [4], França, Reino Unido e Letônia. Deste modo constatamos que a técnica com os fluorocromos apresenta a facilidade, como neste caso usando o Calcofluor e o DAPI, de estudar *in situ* a composição dos biofilmes no que diz respeito ao envolvimento de fungos filamentosos e bactérias.

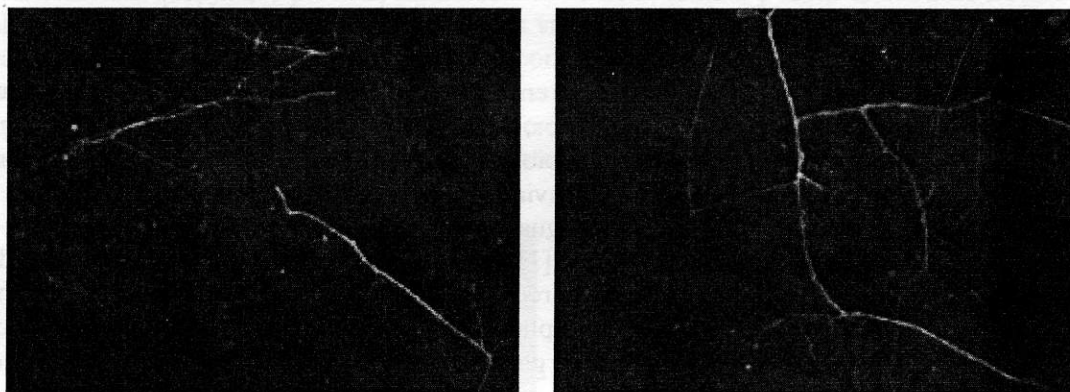


Figura 1. Detecção de filamentos fúngicos intimamente relacionados com a matriz bacteriana nas amostras observadas em microscópio de epifluorescência usando a objectiva 10X/0,30 após coloração Calcofluor/DAPI.

CONCLUSÕES

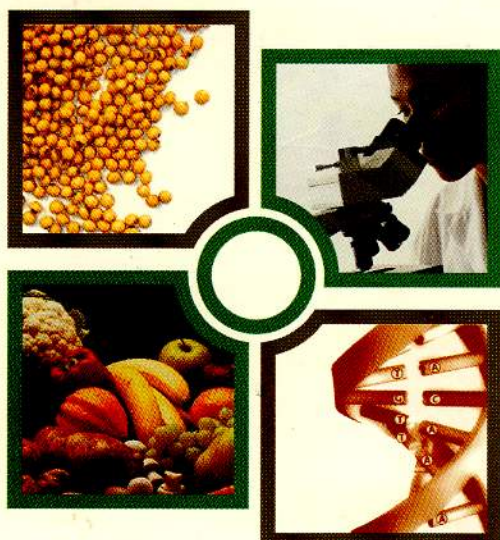
O uso de fluorocromos específicos permitiu a detecção de microrganismos de forma quase imediata, quando comparado com o uso de métodos tradicionais de microbiologia, como são por exemplo aqueles métodos que utilizam meios de cultura. Os fungos filamentosos estão presentes na rede de distribuição de água potável na área metropolitana de Recife e necessitam de ser mais estudados quanto ao seu papel ecológico neste ambiente, para garantir um efectivo controle de qualidade da água fornecida à população.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem todas as facilidades concedidas pela empresa COMPESA na realização deste estudo.

REFERÊNCIAS

- [1] Gonçalves, A. B.; Paterson, R. R. M.; Lima, N. 2006. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 209: 257-264.
- [2] Gonçalves, A. B.; Santos, I. M.; Paterson, R. R. M.; Lima, N. 2006. *Rev. Iberoam. Micol.* 23: 194-198.
- [3] Paterson R.; Gonçalves, A.; Lima, N. 2006. *International Proceedings of the 8th International Mycological Congress*, Ed. Meyer, W.; Pearce, C., Medimond, pp. 245-248.
- [4] Paterson, R. R. M.; Lima, N. 2005. *The Water Encyclopedia: Water Quality Control*, Eds. Lehr, J. H.; Keeley, J.; Lehr, J.; Kingery III, T. B.), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.



I WORKSHOP INTERNACIONAL EM

Biotechnologia

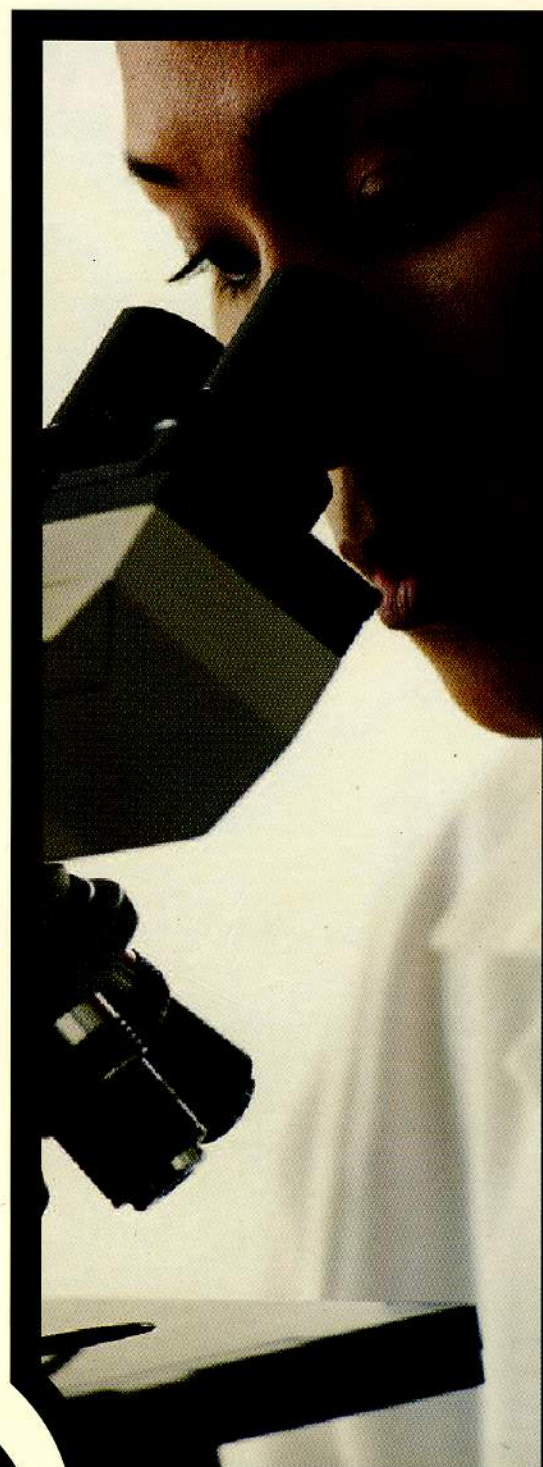
III Encontro III Jornada

α LFA-Valnatura Científica do LIKA

Programação e Resumos

05 A 07

DE MAIO DE 2008



Editoração Científica:

Ana Lúcia Figueiredo Porto
Camila Souza Porto
Carolina de Albuquerque Lima
Cledir Santos
Cynthia de Oliveira Nascimento
Maria das Graças Carneiro da Cunha
Nelson Manuel Viana S. Lima
Norma Buarque de Gusmão

Design Gráfico:

Fernandes Beckman

Diagramação:

Sérgio Siqueira

Revisão:

Comissão organizadora

Impressão:

EDUFPE

Workshop Internacional em Biotecnologia (1.: 2008 : Recife)

I Workshop Internacional em Biotecnologia. III Encontro Alfa-Valnatura, UFPE. III Jornada Científica do LIKA / organizadores Maria das Graças Carneiro da Cunha... et al. – Recife : Ed. Universitária da UFPE, 2008.

435 p.: il., fig., tab.

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7315-484-9 (broch.)

1. Ciências biológicas – Congressos. 2. Biotecnologia – Congressos. 3. Ciências ambientais – Congressos. I. Carneiro da Cunha, Maria das Graças, org. II. Título.

57

CDU (2.ed.)

UFPE

660.6

CDD (22.ed.)

BC2008-033

Maria das Graças Carneiro da Cunha
Maria Elizabeth Cavalcante Chaves
José António Teixeira
José Luiz de Lima Filho
Norma Buarque de Gusmão
Ana Lúcia Figueiredo Porto
Camila Souza Porto
Carlos Alberto da Silva Júnior
(Organizadores)



I WORKSHOP INTERNACIONAL EM
Biotecnologia

III Encontro
ALFA-Valnatura

III Jornada
Científica do **LIKA**

Editora
Universitária  UFPE

Recife - 2008