

Candida spp. DE IMPORTÂNCIA MÉDICA PRESENTE NO IGARAPÉ DA PENAL
DO MUNICÍPIO DE PORTO VELHO-RO

Candida spp. OF MEDICAL IMPORTANCE IN THE PENAL IGARAPÉ IN PORTO
VELHO-RO

Thaissa Nicolly Rodrigues da Silva¹, Yasmin Maia de Oliveira¹, Leticia Ester Medeiros¹, Reginaldo Martins de Souza², Edailson de Alcântara Corrêa³.

1. Students of the Technical Course of Chemistry of the Federal Institute of Rondônia - IFRO.
2. PhD in Regional Development and Environment and Researcher at IFRO.
3. PhD in Biodiversity and Biotechnology and Researcher at IFRO.

*Autor correspondente: e-mail: correa_bio@yahoo.com.br

RESUMO

Esta pesquisa teve como objetivo levantar e identificar a presença de *Cândida* spp. de importância médica presente na bacia do Igarapé da Penal no perímetro urbano do município de Porto Velho-RO. Coletou-se nove amostras com $\cong 100$ mL de água da superfície entre os meses de agosto e setembro de 2019. Estas, foram transferidas (05 mL) para um tubo de ensaio contendo H₂O destilada, estéril, na proporção de 50% (v/v). Em seguida, frações com 300 μ L foram distribuídas em 3 placas com ágar Sabouraud – CAF e outras de 100 μ L (das diluições 10⁻⁸) em 2 placas de ágar nutrientes. Posteriormente, semeou-se pela técnica de *Spread plate* com auxílio de uma alça de Drigalski e cultivados a 28 °C por 72 h. As análises foram identificadas por microscopia óptica e confirmadas pelo kit Fungifast, Marca: Elitech Microbio Referência: 44430. Os resultados identificaram a presença de leveduras e fungos filamentosos. As leveduras corresponderam as espécies patogênicas *Candida albicans* / *C. dubliniensis* (n:4); *C. parapsilosis* (n:03); *C. cruzey* (n:02) e *C. kefir* (n:01). Conclui-se que o Igarapé da Penal apresentou contaminação por 04 espécies de leveduras de importância médica.

Palavras-chave: *Candida* spp. Igarapé. Contaminação.

ABSTRACT

This research aimed to survey and identify the presence of *Candida* sp. of medical importance present in the Penal Igarapé basin in the urban perimeter of Porto Velho-RO. Nine samples with $\cong 100$ mL of surface water were collected between August and September 2019. These were transferred (05 mL) into a test tube containing 50% (v / v) sterile distilled H₂O. Subsequently, 300 μ L fractions were distributed in 3 plates with Sabouraud - CAF agar and 100 μ L (from 10⁻⁸ dilutions) in 2 nutrient agar plates. Then, it was sown by a Spread plate technique with the aid of a Drigalski handle and grown at 28 °C for 72 h. The analysis were identified by optical microscopy and later confirmed by the Fungifast Kit, Brand: Elitech Microbio Reference: 44430. The results revealed in addition to the yeast the presence of filamentous fungi. Recognitions have that they were the pathogenic species *Candida albicans* / *C. dubliniensis* (n: 4); *C. parapsilosis* (n: 03); *C. cruzey* (n: 02) and *C. kefir* (n: 01). Given the above, it can be concluded that the Penal Igarapé presented contamination by 04 yeast species of medical importance.

Key words: *Candida* spp. Igarapé. Contamination.

1. INTRODUÇÃO

Os fungos são microrganismos importantes na produção de alimentos, produtos fermentados, bebidas alcoólicas e na indústria farmacêutica, estão presentes no processo de biodegradação e no tratamento biológico de efluentes, na atividade enzimática - na produção de enzimas de interesse industrial e na biotransformação. Além da relevância biotecnológica, apresentam importância agrícola e ecológica, pois mantém o equilíbrio do ambiente decompondo restos vegetais, degradando substâncias tóxicas, auxiliando as plantas a crescerem e se protegerem contra inimigos - outros microrganismos patogênicos [1].

Os fungos leveduriformes são ubíquos no meio ambiente, sendo encontradas em diferentes nichos como em solo, na água, nos vegetais e como habitantes do corpo humano como parte da microbiota normal endógena. Além disso, podem estar presentes em espécimes clínicos, como resultado de contaminação ambiental, colonização ou processo infeccioso [2], [3]. Dentre as diferentes espécies de leveduras de importância médica, destacam-se os gêneros *Candida*, *Cryptococcus*, *Hansenula* atualmente, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Torulopsis* e *Trichosporon* [2]. Dados presentes nos estudos de [4] mostram que são descritas 163 espécies de *Candida* spp. sendo que, cerca de 20, já foram associadas a processos infecciosos.

Dentre as leveduras relatadas, as do gênero *Candida* têm importância pela alta frequência no processo de colonização e infecção do hospedeiro humano. Diferentes estudos vêm mostrando que espécies de *Candida* são encontradas no tubo gastrointestinal em 20 a 80% da população adulta saudável e, além disso, é responsável por cerca de 80% das infecções fúngicas no ambiente hospitalar e constitui causa relevante de infecções de corrente sanguínea. Nos Estados Unidos da América, ela é a quarta causa mais comum de infecções de corrente sanguínea, respondendo por cerca de 8% dos casos das infecções documentadas neste sítio [5]. Diante da relevância para saúde dessas leveduras, esta pesquisa teve como objetivo levantar e identificar a presença de *Cândida* spp. de importância médica presentes na bacia da Penal no do município de Porto Velho-RO.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em um dos tributários de primeira ordem do igarapé da Penal, uma das bacias urbanas presente em Porto Velho –RO (Figura 01), localizada no Estado de Rondônia, na Amazônia Ocidental, a margem direita do Rio Madeira, no ano de 2019. Esta região possui um sítio urbano desenvolvido sobre depósitos aluvionares atuais e subatuais do Quaternário sobrepostos, por vezes, sobre coberturas lateríticas coesas e incoesas do Terciário e Quaternário [6], [7]. O relevo apresenta variação entre 65 a 111 metros, com 85,67% do perímetro urbano variando entre plano a suavemente ondulado [8]. A vegetação residual é composta por fragmentos de floresta ombrófila aberta. A cidade é cortada por 6 sub-bacias hidrográficas: a do Igarapé dos Tanques a noroeste, a do Igarapé Grande a leste, a do Igarapé Bate Estaca a sudoeste, a do Igarapé Tancredo Neves a leste, a do Rio das Garças a sudeste e a da Penal ao norte [9].

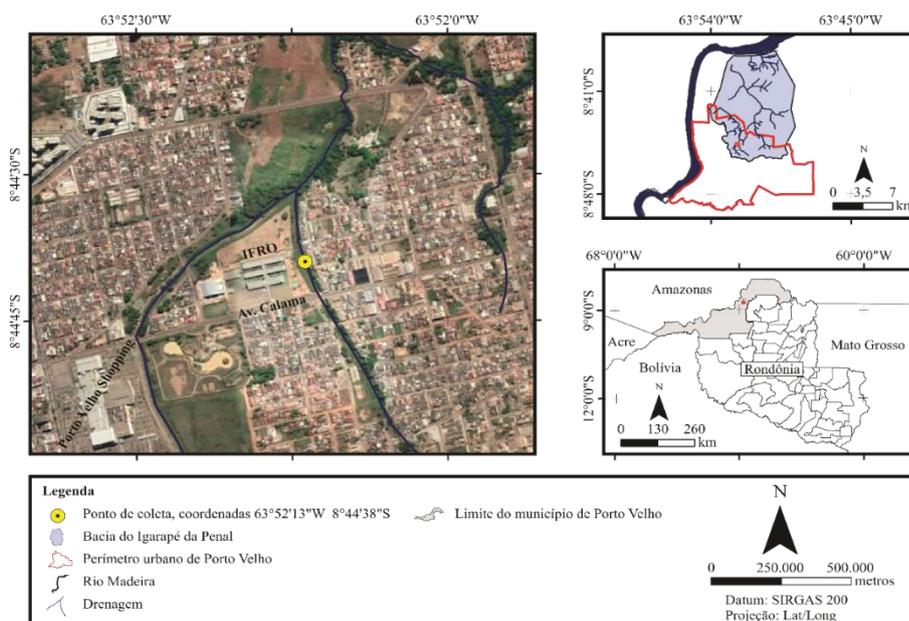


Figura 01: Localização da bacia do Igarapé da Penal.

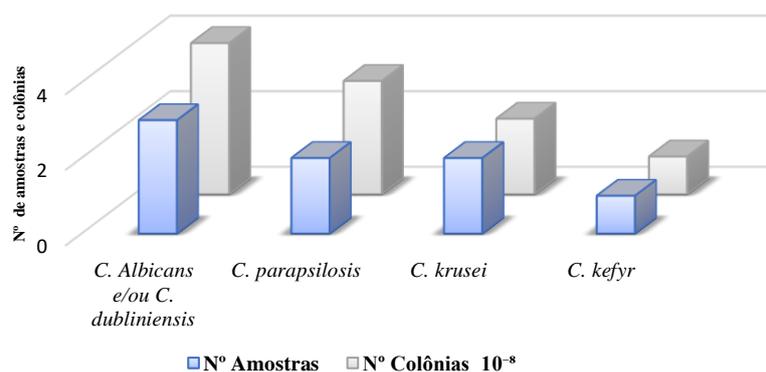
Fonte: Dados compilados e modificados de [10] e [11].

Quanto ao método de coleta e avaliação microbiológica, adaptado da [12], [13] baseada pelo Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater (Método padrão para análise de água e água residuária). Estas foram, inicialmente, realizadas com a coleta de 3 amostras de 100mL de água da lâmina d'gua em frasco de plásticos 250mL, previamente preparados e autoclavados, para análise. Posteriormente, as amostras foram levadas ao Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Rondônia - IFRO, campus Calama, em caixas de isopor, contendo gelo seco, onde foram mantidas neste ambiente por 1 h para posterior análise - período entre a coleta e o início das avaliações.

Para o cultivo e contagem das leveduras foram homogeneizados e transferidos 05 mL da amostra em um tubo de ensaio contendo H₂O destilada, estéril, na proporção de 50% (v/v). Posteriormente, frações com 300μL, desta solução, foram distribuídas em 3 placas com ágar Sabouraud e outras de 100μL (das diluições 10⁻⁸) em 2 placas de ágar nutrientes, previamente preparadas. Em seguida, semeou-se pela técnica de *Spread plate* com auxílio de uma alça de Drigalski. Os resultados das análises foram expressos em unidades formadoras de colônias (UFC por 100 μL) em suas respectivas diluições. Após a identificação do perfil de leveduras, realizadas em 24 horas por microscopia óptica 640x, as identificações foram confirmadas de acordo com as orientações técnicas do kit Fungifast, Marca: Elitech Microbio Referência: 44430.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas amostras evidenciou-se, além dos fungos filamentosos, a presença de colônias n: 09 (100%) com perfil de leveduras. Destas, 6 (66,66%) apresentaram cepas com aspectos morfológicos condizentes para o gênero *Candida*. As análises para identificação revelou tratar-se das espécies de *Candida albicans* e/ou *C. dubliniensis* (n:4); *C. parapsilosis* (n:03); *C. krusei* (n:02) e *C. kefir* (n:01) observadas na Fig.: 02 e Tab.: 01.



Espécies de *Candida* sp. identificadas nas amostras analisadas.

Figura 02: Espécies de *Candida* spp. identificadas nas colônias isoladas.

Tabela 1- Distribuição das coletas, números de colônias e identificação das cepas isoladas nas amostras da água do Igarapé da Penal em 2019.

Coletas	Espécies	Nº de colônias 100µL (10 ⁻⁸)	Observação
01	<i>Candida albicans</i> / <i>C. dubliniensis</i> *	01	Presença de fungos filamentosos.
02	-	-	Presença de fungos filamentosos.
03	<i>Candida albicans</i> / <i>C. dubliniensis</i> *	02	-
	<i>Candida parapsilosis</i>	02	-
04	-	-	Presença de fungos filamentosos.
05	-	-	Presença de fungos filamentosos.
06	<i>Candida krusei</i>	01	Análise prolongada para 72h.
07	<i>Candida krusei</i>	01	Baixo crescimento de colônias.
	<i>Candida albicans</i> / <i>C. dubliniensis</i> *	01	
08	<i>Candida parapsilosis</i>	01	Baixo crescimento de colônias.
09	<i>Candida kefir</i>	01	Baixo crescimento de colônias.

*Identificação bioquímica não precisa, pelo kit Fungifast, para distinção das duas espécies.

A presença das leveduras, identificadas neste estudo (Tabela 01), são descritas como capazes de colonizar o homem e animais provocando à perda do equilíbrio parasita-hospedeiro. E podem, de acordo com os estudos da Anvisa [14], em caso de exposição, manifestar diferentes processos infecciosos localizados ou disseminados. Essas infecções podem ocorrer,

normalmente, pelas vias aéreas superiores ou quebra na barreira epidérmica após traumatismos com objetos perfuro-cortantes.

Embora não tenha sido avaliados associações com as doenças e sim com potencial risco de contaminação, os achados corroboram os estudos científicos que mostram que a presença da *C.albicans* e *C.dublinskiensis*, principais patógenos, estão implicado no desenvolvimento de candidose oral [15]. No entanto, observou-se que o kit não é capaz de diferenciar, pelas propriedades bioquímicas, essas duas estirpes. Dados, da literatura científica, mostram que as mesmas apresentam grande similaridades e representam uma parte pouco numeroso nas microbiotas residentes de indivíduos saudáveis. Por outro lado, a *C. dublinskiensis* é um importante patógeno implicado no desenvolvimento de candidose orofaríngea em indivíduos HIV-positivos, como já citado nos trabalhos de Sullivan e col. [16].

Além disso, como descrito nos estudos de Nonaka [15], embora diversos trabalhos destacam métodos fenotípicos variados para identificação de *C. dublinskiensis* e *C. albicans*, as técnicas mais rápidas e sensíveis para identificação correta destas leveduras baseiam-se em análises moleculares, particularmente a PCR- Reação em Cadeia de Polimerase.

Quanto ao fungo *C. parapsilosis*, estudos mostram que a estirpe é considerado oportunista e causador de infecções sistêmicas, principalmente em doentes oncológicos [17]. A *C. krusei* está associada as infecções oculares, candidoses vaginais, artrites e fungemias [18]. Por outro lado, é citada como uma espécie menos patogênica e com baixa capacidade de aderência às células epiteliais, causando doença em indivíduos imunocomprometidos [19]. Além dessas, também identificou-se a presença de *C. kefyr*, descrita como causadora de infecções na corrente sanguínea (ICS) em pacientes com doenças hematológicas com neutropenia [20]. Além disso, nos trabalho Liguori e col.[21] há o registros de que alguns desses fungos, como as *C. dublinskiensis*, *C. tropicalis* e *C. glabrata* - não analisada nesta pesquisa, tem sido observado o aumento de sua incidência.

A presença desses microrganismos e os potenciais riscos podem estar associada a localização das habitações ocupadas nas margens desses igarapés, bem como ao baixo índice de saneamento básico encontrado na região. Esses dados são corroborados pelos estudos de Heller [22] e do IBGE [23] onde citam que, no caso de políticas públicas sobre tratamento de resíduos, como pouca excreções, torna-se a mais relevante quando se trata de proteção contra doenças. Além disso, a situação do esgotamento sanitário na região Norte é preocupante pois apenas 3,8% dos domicílios são atendido pela rede geral de esgoto. Em outro estudo, relacionado as possíveis doenças de transmissão hídrica em Manaus -AM, realizado por Santos

[24] em igarapés no perímetro urbanos, os dados estão associados ao nível educacional e a renda familiar, e cita que estas variáveis é que tem influência no comportamento de higiene doméstica e pessoal.

Do ponto de vista técnico, relacionado a produção de rejeito e ao número de colônias isoladas, os dados obtidos são justificados pelo volume de líquidos no rejeito, bem como pela presença dos contaminante, como descrito por Canivatto [25]. Adicionalmente, o autor descreve em seus trabalhos que cada pessoa ao consumir em média 200 litros de água por dia, converte 150 litros em esgoto e os 50 litros pode evaporação ou infiltrar-se no solo. Outrossim, os esgotos ou resíduos líquidos possuem na sua composição mais de 99% de água com alta concentração de substancias orgânicas resultantes de restos de comidas, fezes, sabão e outros produtos usados nas residências. Logo, dependendo da forma e concentração dos compostos presentes nestes rejeitos, podem ou não favorecer o crescimentos de diferentes microrganismos. Assim, a presença de fungos, observadas nesta pesquisa são também justificados e descritos por Ortiz e col. [26] onde, em ecossistemas aquáticos, a presença e diversidade de fungos estão relacionadas com a concentração de nutrientes e que, caso essas substâncias estejam diluídos, há uma baixa diversidade microbiana. Assim, como observado neste estudo, certos organismos podem ou são considerado bioindicadores de contaminação do ambiente e tornando-se característicos de ambientes impactados.

CONCLUSÕES

Esta pesquisa identificou, nas amostras analisadas, a presença de 04 espécies de fungos do gênero *Candida* de importância médica presentes na água da bacia do igarapé Penal, no município de Porto Velho – RO em 2019. As leveduras identificadas foram das espécies patogênicas *Candida albicans* e/ou *C. dubliniensis*; *C. parapsilosis*; *C. cruzey* e *C. kefir*.

Das espécies identificadas, a duplicidade na identificação entre a *C. albicans* e *C. dubliniensis* - levedura emergente associada ao desenvolvimento de candidose oral, até então ignorada em decorrência de suas características fenotípicas similares, se dá pela características fenotípicas w bioquímica similares e a distinção ocorre, normalmente, por PCR.

A presença desses quatro agentes microbianos podem estar associados aos impactados provocados pela ação antrópica relacionada a produção de dejetos. Assim, as leveduras encontradas e identificadas neste ecossistemas aquáticos podem estar vinculadas, principalmente, com a concentração de matéria orgânicas das atividades humanas. Além isso,

a identificação de espécies com potencial patogênico, tem sido indicativo de importantes bioindicadores de poluição.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ABREU, J. A. S., ROVIDA, A. F. S., PAMPHILE, F. A. P. Review Fungos de Interesse: Aplicações Biotecnológicas. **Revista UNINGÁ**. v.21, n.1, p: 55-59, 2015.
- [2] SILVA, J. O., FRANCESCHINI, S. A., CANDIDO, R. C. Presença de leveduras em mucosas e fezes de indivíduos aparentemente saudáveis e de pessoas com sintomas de infecção fúngica. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.61 n. 2, p: 113-120, 2002.
- [3] WARREN, N. G.; HAZEN, K. C. **Candida, Cryptococcus and other yeasts of medical importance** In: MURRAY, P. R. *et al.* Manual of clinical microbiology. 7. ed. Washington: ASM Press, 1999, p. 1184-99.
- [4] KURTZMAN, P. C.; FELL, J. W. BOEKHOUT, T. The yeasts: a taxonomic study. Amsterdam: Boston. **Rev. Elsevier**; 1998. 1055 p.
- [5] COLOMBO, A. L., GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp.: **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. n. 36, p: 599-607, set-out, 2003.
- [6] QUADROS, M.L.E.S., RIZZOTTO, G.J. (Orgs.). **Geologia e recursos minerais do estado de Rondônia: texto explicativo do mapa geológico e de recursos minerais do estado de Rondônia**, escala 1:1000.000. Porto Velho/RO, CPRM, 116p., 2007.
- [7] NASCIMENTO, T.C.N.; MANIESI, V.; ADAMY, A.; SANTOS, A.N. A Natureza e aplicação dos materiais lateríticos na área urbana e entorno de Porto Velho/RO. **Revista Geonorte**, Manaus, v.2, n.4, p.11-19, 2012.
- [8] ALVES, M.H. **Modelo conceitual hidrológico do sistema aquífero poroso na área urbana e expansão de Porto Velho, Rondônia**. 2016. 148 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente), Núcleo de Ciências Exatas e da Terra, Fundação Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 2016.
- [9] SOUZA, R.M.S. **Vulnerabilidade socioambiental na cidade de Porto velho/RO: uma análise da estruturação de lugares intraurbanos e a formação de áreas de risco**. 2019, 179p. Tese (Doutorado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente), Fundação Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 2019.

- [10] RONDÔNIA. Secretaria de Estado do Desenvolvimento Ambiental. **Atualização da Cartografia Básica, Porto Velho**. Zoneamento Socioeconômico e Ecológico, 2002.
- [11] GOOGLE. **Google Earth**. website. <http://earth.google.com/>. 2009.
- [12] APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for examination of water and wastewater**. New York, 1998. 824 p.
- [13] FARMACOPEIA BRASILEIRA, FB. **Ensaio microbiológicos para produtos não estéreis**, 5 ed. v.1, p: 233-249, 2010.
- [14] ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Detecção e Identificação dos Fungos de Importância Médica. Módulo VII, 2004. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_7_2004.pdf>. Acesso em: 16 de set. de 2019.
- [15] NONAKA, C. F. W., NASCIMENTO, G. J. F., GOULART FILHO, J. A. V., LIMA, K. C., MILAN, E. P. *Candida dubliniensis* – levedura emergente associada à candidose oral. **Revista de Odontologia da UNESP**. v. 37, n.2, p: 125-132, 2008.
- [16] SULLIVAN, D.J., MORAN, G. P., PINJON E., AL-MOSAID, A., STOKES, C., VAUGHAN, C., COLEMAN, D. C. Comparison of the epidemiology, drug resistance mechanisms, and virulence of *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*. **FEMS Yeast Res.** v. 4: p: 369-76, 2004.
- [17] ALMIRANTE, B., RODRÍGUEZ, D., CUENCA-ESTRELLA, M., ALMELA, M., SANCHEZ, F., AYATS, J., ALONSO-TARRES, C., RODRIGUEZ-TUDELA, J.L., PAHISSA, A. Epidemiology, risk factors and prognosis of *Candida parapsilosis* bloodstream infections: case-control population-based surveillance study of patients in Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. **J Clin Microbiol.** v. 44, n. 5, p: 1681-5, 2006.
- [18] McLLROY M.A. Failure of fluconazole to suppress fungemia in a patient with fever, neutropenia and typhlitis. **J. Infect. Ois.** n. 163, p: 420-1, 1991.
- [19] SAMARANAYAKE, Y. H., WU, P.C., SAMARANAYAKE, L.P. HO, P. L. The relative pathogenicity of *Candida krusei* and *C. albicans* in the rat oral mucosa. **J. Med. Microbiol.** n. 47, p: 1047-1057, 1998.
- [20] VASCONCELOS, M. P. A., CUNHA, M. A., IGLESSIAS, A. C. C., RICHTMANN, R. Infecção de corrente sanguínea por *Candida kefyr* em unidade de terapia intensiva - relato de caso. **Journal of Infection Control**, Rio Grande do Sul, v.3, n.4, p: 65, 2014.

- [21] LIGUORI, G., LUCARIELLO, A., COLELLA, G., DE LUCA, A., MARINELLI, P. Rapid identification of *Candida* species in oral rinse solutions by PCR. **J Clin Pathol.** n. 60, p: 1035-9, 2007.
- [22] HELLER, L. Relação entre saúde e saneamento na perspectiva do desenvolvimento. **Ciências e Saúde coletiva.** Rio de Janeiro, v. 03, n 2, jun. 1998.
- [23] **IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA.** Pesquisa Nacional de Saneamento Básico. Rio de Janeiro, 2008.
- [24] SANTOS, L. A. **A falta de saneamento é o principal responsável pelos índices de Doença de Veiculação Hídrica? Um estudo das populações que habitam as margens de igarapés em Manaus, – AM.** Dissertação (Mestrado em Ciências do Ambiente) - Universidade Federal do Amazonas Centro de Ciências do Ambiente, Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente e Sustentabilidade na Amazônia. Manaus – AM, p. 104. 2006.
- [25] CANIVATTO, V. M. **Saneamento Básico: Fonte de Saúde e Bem Estar.** 2. ed. São Paulo: Moderna, 2003.
- [26] ORTIZ, N., GODÓI, E. L., POLAKIEWISZ, L., PIRES, M. A. F. Monitoramento de águas de superfície densamente poluídas – O córrego Pirajuçara – localizado na Região Metropolitana de São Paulo. **Rev. Exacta,** São Paulo, v. 6, n. 2, p: 245-257, jul./dez. 2008.