

Resumo

Um dos objectivos deste projecto foi caracterizar a população bacteriana total e cultivável, na presença e ausência de antibiótico de uma estação de tratamento de águas residuais, ETAR, da região Norte de Portugal, por electroforese em gel com gradiente desnaturante, DGGE, um método independente do cultivo e neste estudo, identificaram-se 34 géneros e/ou espécies microbiológicas. Constatou-se que a população bacteriana total da ETAR é diferente da cultivável, uma vez que, em ambas as caracterizações não existem géneros e/ou espécies microbiológicas iguais.

Outro dos objectivos deste projecto foi avaliar a capacidade dos microrganismos presentes na água residual afluyente e nas lamas activadas dessa ETAR degradarem um antibiótico específico, a ciprofloxacina. O método usado para isolar esses organismos prendeu-se com a adição de uma elevada quantidade de antibiótico, através do método de enriquecimento, à população bacteriana dessa mesma ETAR. Usou-se os microrganismos da água residual afluyente e das lamas activadas, para avaliar a presença de bactérias resistentes ao antibiótico e conseguiu avaliar-se essa capacidade, através da obtenção de isolados das culturas mistas finais dos enriquecimentos, resistentes à ciprofloxacina.

Por último, pretendeu fazer-se a caracterização total e cultivável, também por DGGE, na presença e ausência de antibiótico, da população bacteriana das culturas mistas finais dos enriquecimentos, identificando-se 11 géneros e/ou espécies microbiológicas. As bactérias A-22 e SVAL 2.36 e as espécies *Comamonas testosteroni* e *Pseudomonas aeruginosa*, apresentam-se, tanto na população bacteriana total e cultivável das culturas mistas finais dos enriquecimentos, como na caracterização da ETAR.

Das culturas mistas finais dos enriquecimentos, seleccionaram-se 8 colónias, com morfologia colonial diferente e fez-se o seu isolamento e a sua caracterização fenotípica preliminar, em termos de morfologia colonial, coloração de Gram, presença de catalase, de citocromo c oxidase, testes de sensibilidade a 12 antibióticos diferentes, através do uso do método de antibiograma e por último a sua identificação através da sequenciação do gene 16S rRNA.

Dos isolados obtidos, 50 % são resistentes à amoxicilina, 25 % à gentamicina, 100 %, à ciprofloxacina, 12,5 % ao sulfametoxazol+trimetropim, 25 % à tetraciclina, 25 % à cefalotina, nenhum é resistente ao meronemo, 12,5 % à ceftazina, 25 % à tricarciclina, 12,5 % ao colistine sulfato, 75 % ao sulfametoxazol e 62,5 % à estreptomina. Foram identificados 8 géneros e/ou espécies microbiológicas desses isolados.

A espécie *Comamonas testosteroni* apresenta-se tanto na população bacteriana total e cultivável das culturas mistas finais dos enriquecimentos, como na caracterização da ETAR.

Por último, foi também efectuada a quantificação do antibiótico usado, no tempo inicial e final, das culturas mistas dos enriquecimentos e constatou-se que a ciprofloxacina não se degrada biologicamente.

Para as amostras de água residual afluyente, pode dizer-se que os microrganismos presentes nestas amostras podem ter capacidade para degradar a ciprofloxacina, contudo novos ensaios confirmativos teriam que ser efectuados.

Palavras-chave: Água residual afluyente, Ciprofloxacina, DGGE, Efluente final, ETAR e Lamas activadas

Abstract

One of the objectives of this project was to characterize the total and cultivable bacterial population, in the presence and absence of antibiotic from a wastewater treatment plant, in the North region of Portugal, by denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE, one method independent from culture and in this study, 34 microbiological species were identified. In fact, the total bacterial population from the wastewater treatment plant is different from the cultivable, since both of the populations had different species.

One other objective of this project was to evaluate the capacity of microorganisms in inflow wastewater and in activated sludge, from that wastewater treatment plant to degraded one specific antibiotic, ciprofloxacin. The method to isolate those organisms was the addition of a high quantity of antibiotic, through an enrichment method, to the bacterial population of that wastewater treatment plant. Microorganisms from the inflow wastewater and the activated sludge were used to evaluate the presence of resistant bacteria to the antibiotic and it was possible to evaluate that capacity, through the obtaining of isolates from the final enrichments cultures, resistant to ciprofloxacin.

It was also made the total and cultivable characterization, also by DGGE, in the presence and absence of antibiotic, from the bacterial population, from the final enrichments cultures, identifying 11 microbiological species. The bacteria A-22 and SVAL 2.36, and the species *Comamonas testosteroni* and *Pseudomonas aeruginosa* were in the total and cultivable bacterial population, from the final enrichments cultures, as well as, in the characterization of the wastewater treatment plant.

From the final enrichments cultures, 8 colonies were selected since they had different colonial morphology and the isolation and phenotypical preliminary characterization of those were made, in terms of colonial morphology, Gram coloration, presence of catalase, oxidase c citocrom, sensible tests to 12 different antibiotics using the antibiogram method and lastly its identification by the sequencing of 16S rRNA gene.

From the obtained isolates, 50 % were resistant to amoxicillin, 25 % to gentamicin, 100 % to ciprofloxacin, 12,5 % to *sulfametoxazol+trimetropim*, 25 % to tetracycline, 25 % to cephalothin, none were resistant to *meronemo*, 12,5 % to ceftazime, 25 % to tricarcycline, 12,5 % to colisthin sulphate, 75 % to *sulfametoxazol* and finally, 62,5 % to streptomycin. From those isolates it was identified 8 microbiological species.

The specie *Comamonas testosteroni*, were in the total and cultivable bacterial population from the final enrichments cultures, as well as, in the initial characterization of the wastewater treatment plant.

Lastly, it was also made the quantification of the antibiotic used, in the initial and final time of the enrichments cultures and it was proved that ciprofloxacin doesn't degrade itself biologically.

For the inflow wastewater samples, the microorganisms present may have the ability to degraded ciprofloxacin, but several new studies were necessary to prove this capacity.

Keywords: Activated sludge, Ciprofloxacin, DGGE, Final effluent, Inflow wastewater and Wastewater treatment plant