

**AVALIAÇÃO DE BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS MULTIRRESISTENTES A
ANTIMICROBIANOS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA EM PRAIAS PÚBLICAS DA
CIDADE DE GUARAPARI, ESPÍRITO SANTO¹**

EVALUATION OF MULTIDRUG-RESISTANT GRAM-NEGATIVE BACTERIA OF
CLINICAL IMPORTANCE ON PUBLIC BEACHES IN THE CITY OF GUARAPARI,
ESPÍRITO SANTO

Ingrid Endlich Senna²
Quézia Moura da Silva³

RESUMO: A resistência antimicrobiana está associada a uma crise de saúde global, uma vez que bactérias multirresistentes passaram a estar presentes em outros ambientes além do hospitalar. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi o isolamento de bactérias Gram-negativas multirresistentes a antimicrobianos de importância clínica em praias públicas da cidade de Guarapari, Espírito Santo. Foi realizado o isolamento dessas bactérias em placas de ágar MacConkey suplementado com colistina e com ceftiofur. A avaliação do perfil de suscetibilidade antimicrobiana foi feita pelo método de antibiograma por disco difusão. Além disso, foram realizados testes de triagem para produção de ESBL, AmpC e MCR. Não se observou a presença de bactérias multirresistentes, mas houve a identificação de mecanismos de resistência característicos de ESBL, AmpC e MCR. Portanto, fica evidente a necessidade de estudos que forneçam informações necessárias para a prevenção e controle da disseminação da resistência bacteriana em ambientes de praia.

Palavras-chave: Enterobactérias; bactérias não-fermentadoras; resistência antimicrobiana; ambientes costeiros.

ABSTRACT: Antimicrobial resistance is associated with a global health crisis, as multidrug-resistant bacteria are now present in other environments besides hospitals. Therefore, the objective of this study was the isolation of Gram-negative bacteria multiresistant to antimicrobials of clinical importance on public beaches in the city of Guarapari, Espírito Santo. These bacteria were isolated on MacConkey agar plates supplemented with colistin and ceftiofur. The evaluation of the antimicrobial susceptibility profile was carried out using the disk diffusion antibiogram method. In addition, screening tests were carried out for the production of ESBL, AmpC and MCR. The presence of multidrug-resistant bacteria was not observed, but resistance mechanisms characteristic of ESBL, AmpC and MCR were identified. Therefore, the need for studies that provide information necessary to prevent and control the spread of bacterial resistance in beach environments is evident.

Keywords: Enterobacteria; non-fermenting bacteria; antimicrobial resistance; coastal environments.

¹ Trabalho de Conclusão de Curso de Bacharelado em Biomedicina do Ifes Campus Vila Velha.

² Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Vila Velha; ingridendlich14@hotmail.com.

³ Professora orientadora; Doutora em Microbiologia, Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Vila Velha; quezia.silva@ifes.edu.br.

1 INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana é definida como a capacidade da bactéria de sobreviver e se manter viável após ser exposta à pressão seletiva dos antimicrobianos, que inibem ou matam as bactérias suscetíveis e selecionam as resistentes (PRESTINACI; PEZZOTTI; PANTOSTI, 2015). Sendo assim, o uso extensivo desses fármacos faz com que maiores sejam as chances de surgimento de novos mecanismos de resistência, minimizando a possibilidade do tratamento ser efetivo (ABUSHAHEEN et. al., 2020). Nesse sentido, a crescente resistência antimicrobiana é considerada uma ameaça à saúde pública global (GEORGE et. al., 2022), uma vez que gera altas taxas de morbidade, mortalidade e, conseqüentemente, altos custos, em razão da necessidade de cuidados mais intensivos, internações prolongadas e medicamentos (LAZAR; OPREA; DITU, 2023). Dados mostram que em 2019, 1,27 milhão de mortes ocorreram devido à resistência aos antimicrobianos (MURRAY et. al., 2022) e que há uma estimativa de que a resistência antimicrobiana poderá provocar cerca de 10 milhões de mortes por ano até 2050 e um impacto de 100 trilhões de dólares na economia mundial (O'NEILL, 2016).

Tal panorama fica ainda mais preocupante com o surgimento de bactérias multirresistentes – não suscetíveis a três ou mais classes de antimicrobianos – devido à limitação, ou até mesmo inexistência, de antimicrobianos disponíveis para o tratamento de infecções causadas por essas bactérias (MAGIORAKOS et. al., 2012). Sabe-se que essa realidade está associada a fatores que incluem o uso inapropriado dos antibióticos, a falta de conscientização da população, falta de saneamento básico, além do uso inadequado desses fármacos como promotores de crescimento em animais de produção, que posteriormente serão utilizados na alimentação humana (AHMAD et. al., 2021). Nesse contexto, a abordagem da Saúde Única (*One Health*) ganha destaque por considerar a interligação entre humanos, animais e o meio ambiente do qual fazem parte, onde qualquer desequilíbrio em um desses setores poderá influenciar diretamente na saúde humana (HERNANDO-AMADO et. al., 2019). Dessa forma, a problemática da resistência bacteriana ultrapassa o ambiente hospitalar, visto que a utilização e presença de antimicrobianos em outros cenários cria diferentes reservatórios de resistência – como animais, solo e água (MCEWEN; COLLIGNON, 2018).

Os ambientes aquáticos são considerados uma das principais rotas de dispersão dos antimicrobianos, de cepas multirresistentes e de genes de resistência no meio ambiente (MANAIA et. al., 2016). A água é capaz de carrear antimicrobianos e seus metabólitos advindos da excreção de humanos e animais – por meio de fezes e urina –, e também de outras fontes, como águas de escoamento da aquicultura e pecuária, águas residuais não tratadas e descarga de efluentes de fábricas farmacêuticas e de estações de tratamento de águas residuais, dado que estações convencionais possuem dificuldade na remoção completa dos resíduos de antimicrobianos (LÖFFLER et. al., 2023). Dessa maneira, os antimicrobianos podem atingir águas subterrâneas e superficiais gerando sérias ameaças à saúde humana e ao ecossistema (LI et. al., 2020), uma vez que a exposição bacteriana a esses fármacos pode acelerar a evolução de resistência (RESENDE; SILVA; DINIZ, 2020). Nesse contexto, a poluição das praias (água e areia) por esgotos não-tratados, lixo, dejetos de humanos e de outros animais, pode representar um sério risco à saúde humana (ANDRADE et. al., 2015; OLIVEIRA; PINHATA, 2008). Estudos prévios realizados em praias da região sudeste do Brasil (Rio de Janeiro e São Paulo) já detectaram a presença de bactérias portadoras de mecanismos de resistência como ESBL, MCR e carbapenemases (FERNANDES et. al., 2017; FERNANDES et. al., 2020; MONTEZZI et. al., 2015). Uma análise realizada em amostras das águas das praias do Rio de Janeiro mostrou que dos 285 isolados de maior importância, 146 eram produtores de carbapenemases (PASCHOAL et. al., 2017), fato preocupante, visto que os carbapenêmicos são antibacterianos de última escolha no tratamento de infecções graves (ARMSTRONG; FENN; HARDIE, 2021).

No Brasil, estudos que avaliam a presença de bactérias com relevância para a clínica humana em praias públicas estão concentrados nos estados de São Paulo e Rio de Janeiro, com carência de estudos focados em praias do Espírito Santo. Tal avaliação é considerada fundamental por se tratar de um ambiente utilizado constantemente para fins recreativos e laborais (ex.: pesca) e que pode ser reservatório de patógenos resistentes a antimicrobianos de importância clínica. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo o isolamento de bactérias Gram-negativas multirresistentes a antimicrobianos de importância clínica a partir de amostras ambientais de águas costeiras e areia de praias públicas da cidade de Guarapari, Espírito Santo.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 COLETA DAS AMOSTRAS

Amostras de águas costeiras e areia foram coletadas de 15 pontos localizados em diferentes praias públicas da cidade de Guarapari, no Espírito Santo, no dia 13 de maio de 2023. A coleta foi realizada em pontos definidos de acordo com critérios como proximidade a fontes de poluição e maior frequência de banhistas. Aproximadamente 500 mL de água de superfície (0,5 a 1,0 m de profundidade) foram coletadas em frascos estéreis e aproximadamente 200 g de areia foram coletados com espátula estéril e acondicionados em sacos estéreis. As amostras foram transportadas sob refrigeração, em caixas térmicas, e processadas em até seis horas após a coleta (OLIVEIRA; PINHATA, 2008; FERNANDES et al., 2020).

2.2 ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS RESISTENTES A ANTIMICROBIANOS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA

As amostras de água foram processadas por filtração e as amostras de areia foram processadas por diluição, seguida de filtração (OLIVEIRA; PINHATA, 2008; FERNANDES et al., 2020) e, posteriormente, inoculadas em diferentes placas de ágar MacConkey suplementado com 2 µg/mL de ceftiofur e placas de ágar MacConkey suplementado com 2 µg/mL de colistina, para isolamento de bactérias Gram-negativas produtoras de ESBL e/ou carbapenemases e bactérias resistentes à colistina, respectivamente. As placas foram incubadas a 35±2 °C por 18-24 horas e, em seguida, as diferentes colônias crescidas nas placas foram isoladas e, então, submetidas ao teste de oxidase para diferenciação de enterobactérias e bactérias não fermentadoras.

2.3 AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SUSCETIBILIDADE ANTIMICROBIANA E TRIAGEM DE MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

O perfil de suscetibilidade antimicrobiana foi avaliado pelo método de disco-difusão em ágar (BAUER et al., 1966). Foram testados antibióticos da classe dos monobactâmicos (aztreonam 30 µg), β-lactâmicos com inibidores de β-lactamases

(amoxicilina/ácido clavulânico 30 µg ou piperacilina/tazobactam 110 µg), das cefalosporinas (cefotaxima 30 µg, ceftriaxona 30 µg, ceftazidima 30 µg e cefepima 30 µg), dos carbapenêmicos (ertapenem 10 µg, imipenem 10 µg e meropenem 10 µg), das fluoroquinolonas (ciprofloxacina 5 µg, levofloxacina 5 µg, norfloxacina 10 µg e ofloxacina 5 µg), dos aminoglicosídeos (amicacina 30 µg, estreptomicina 300 µg, gentamicina 10 µg e tobramicina 10 µg) e das sulfonamidas (sulfametoxazol 23,75 µg/trimetoprim 1,25 µg). A cepa de *E. coli* ATCC 25922 foi utilizada como cepa referência para controle de qualidade e a interpretação dos resultados foi feita de acordo com os valores de referência estabelecidos pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2022).

Os discos de antibióticos foram dispostos sobre as placas de modo a triar a produção de ESBL, conforme o método de disco-aproximação (JARLIER et al., 1988). A triagem de AmpC foi avaliada conforme o teste de antagonismo, em que um disco de imipenem foi disposto ao lado de um disco de ceftazidima no antibiograma, a fim de observar se haveria achatamento do halo em torno do disco de ceftazidima (CANTARELLI et. al., 2007).

As colônias que cresceram nas placas de ágar MacConkey suplementado com colistina foram, adicionalmente, submetidas ao teste de triagem de ponto em ágar de colistina (CAST) para a triagem de produção de MCR. Este teste baseia-se em inocular, com auxílio de um swab, suspensão bacteriana (na escala 0,5 de McFarland) em três placas de ágar Mueller-Hinton: a primeira placa suplementada com 3 µg/mL de colistina, a segunda suplementada com 3 µg/mL de colistina + 1mM de EDTA e a terceira com 1 mM de EDTA. O teste é considerado positivo quando ocorre o crescimento bacteriano na placa contendo colistina e ausência de crescimento bacteriano na placa com colistina + EDTA. Na placa contendo apenas EDTA deve-se observar crescimento bacteriano para descartar efeito inibitório do EDTA (ESCALANTE et. al., 2020).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES




A partir das análises das amostras de água e areia coletadas nas praias de Guarapari (Espírito Santo), foram isoladas colônias fermentadoras ($n = 6$), e não-fermentadoras ($n = 10$). O isolamento de um maior número de bactérias não-

fermentadoras era, de certa maneira, esperado, dado que o habitat natural dessas bactérias é o meio ambiente, sendo frequentemente isoladas da água e do solo (SADYRBAEVA-DOLGOVA et. al., 2023).

É importante destacar que, em relação ao número total de bactérias ($n = 16$), houve um maior número de bactérias isoladas da areia ($n = 9$) do que das águas do mar ($n = 7$). Resultados semelhantes foram observados em estudos realizados em praias da Flórida e de Chicago, nos Estados Unidos (BONILLA et. al., 2007; WHITMAN; NEVERS, 2003). Uma hipótese para esse resultado é que as bactérias presentes na areia podem se aderir às partículas de sedimento, persistindo fixas no local (WHITMAN; NEVERS, 2003), ao contrário das bactérias que estão livres na água, que estão mais diluídas e possuem maior rotatividade.

Das amostras de areia isolou-se quatro bactérias fermentadoras (três cresceram em meio suplementado com colistina e uma em meio suplementado com ceftiofur) e cinco bactérias não-fermentadoras (três cresceram em meio suplementado com colistina e duas em meio suplementado com ceftiofur). Das amostras de água houve o isolamento de duas bactérias fermentadoras (uma cresceu em meio suplementado com colistina e outra em meio suplementado com ceftiofur) e de cinco não-fermentadoras (quatro cresceram em meio suplementado com colistina e uma em meio suplementado com ceftiofur). A Tabela 1 e a Tabela 2 mostram o perfil de suscetibilidade antimicrobiana das bactérias fermentadoras e não-fermentadoras, respectivamente.

Tabela 1 – Perfil de suscetibilidade antimicrobiana e mecanismos de resistência encontrados em bactérias Gram-negativas fermentadoras isoladas na praia de Guarapari, Espírito Santo.

ANTIBACTERIANO		Isolados da Areia				Isolados da Água	
		GPSCT1.1	GPSCT4.2	GPSCT13.1	GPSCF13.2	GPWCT.6	GPWCF15.1
Classe	Tipo	Praia de Setiba	Praia dos Adventistas	Praia da Bacutia	Praia da Bacutia	Praia do Morro	Praia de Meaípe
		Halo (mm)					
Aminoglicosídeos	Amicacina	21	24	19	24	20	27
	Gentamicina	20	21	20	20	17	24
Beta-lactâmicos	Amoxicilina/clavulanato	23	0	20	0	10	24
	Aztreonam	31	10	35	13	29	41
	Cefepima	28	15	29	14	27	35
	Cefotaxima	26	0	30	0	27	34
	Cefoxitina	18	0	24	0	0	32
	Ceftazidima	25	0	28	0	25	35
	Ceftriaxona	26	8	39	0	28	37
	Ertapenem	31	12	31	12	27	30
	Imipenem	24	25	29	25	24	33
	Meropenem	27	24	28	24	28	37
Fluorquinolonas	Ciprofloxacina	25	25	28	26	28	36
	Levofloxacina	25	25	12	26	28	34
Sulfonamidas	Sulfametoxazol/trimetoprim	19	24	24	25	21	12
MECANISMO DE RESISTÊNCIA							
Perfil de AmpC							
Perfil de ESBL							
Perfil de MCR							

Fonte: autoria própria.

O perfil de resistência foi identificado em uma escala, sendo  = Sensível,  = Intermediário e  = Resistente.

Mecanismo de resistência, sendo  = Presença e  = Ausência.

GP = Guarapari; S = Areia; W = Água; CT = Colistina; CF = Ceftiofur.

Tabela 2 – Perfil de suscetibilidade antimicrobiana e mecanismos de resistência encontrados em bactérias Gram-negativas não-fermentadoras isoladas na praia de Guarapari, Espírito Santo.

ANTIBACTERIANO		Isolados da Areia					Isolados da Água				
		GPSCT1.2	GPSCT4.1	GPSCF6	GPSCT7	GPSCF10.3	GPWCT2	GPWCT3	GPWCT5.1	GPWCT7	GPWCF15.2
Classe	Tipo	Setiba	Praia dos Adventistas	Praia da Bacutia	Praia do Morro	Praia das Castanheiras	Praia do Boião	Perocão	Praia do Morro	Praia do Morro	Praia de Meaípe
		Halo (mm)									
Aminoglicosídeos	Amicacina	23	22	19	21	20	23	24	18	22	19
	Estreptomicina	29	32	20	25	22	26	21	21	28	24
	Gentamicina	24	24	18	21	18	15	19	16	21	20
	Tobramicina	22	0	17	21	16	21	24	18	21	20
Beta-lactâmicos	Aztreonam	19	0	15	39	10	31	20	24	30	16
	Cefepima	24	19	20	31	15	35	23	24	31	21
	Ceftazidima	21	0	19	27	0	27	24	25	27	19
	Imipenem	35	29	35	26	24	21	25	28	27	30
	Meropenem	27	27	25	30	23	30	31	30	22	26
	Piperacilina/Tazobactam	26	15	23	28	12	33	28	29	30	24
Fluorquinolonas	Ciprofloxacina	30	32	27	29	29	23	31	24	31	28
	Levofloxacina	30	36	27	31	28	32	25	25	34	29
	Norfloxacina	25	27	21	28	25	25	20	24	28	24
	Ofloxacina	28	33	27	28	26	25	21	24	32	27
Sulfonamidas	Sulfametoxazol/ Trimetoprim	14	35	16	28	26	23	0	25	21	16
MECANISMO DE RESISTÊNCIA											
Perfil de AmpC											
Perfil de ESBL											
Perfil de MCR											

Fonte: autoria própria.

O perfil de resistência foi identificado em uma escala, sendo  = Sensível,  = Intermediário e  = Resistente.

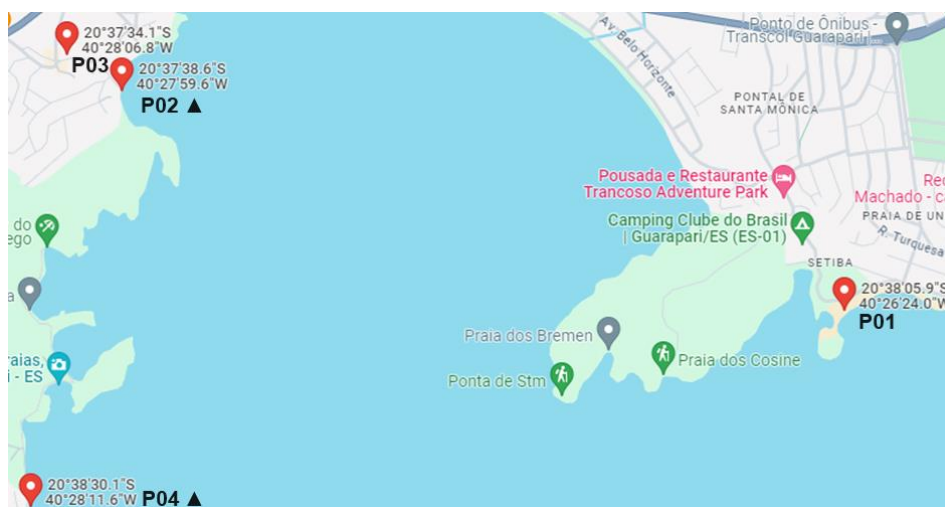
Mecanismo de resistência, sendo  = Presença e  = Ausência.

GP = Guarapari; S = Areia; W = Água; CT = Colistina; CF = Ceftiofur.

De 15 pontos avaliados, foram encontrados isolados de interesse em 6 pontos (Figuras 1, 2 e 3). Desses, 3 bactérias foram fermentadoras e 4 foram não-fermentadoras. Entre as bactérias fermentadoras, os isolados GPSCF13.2 e GPSCT4.2 apresentaram resistência à maioria dos antimicrobianos da classe dos beta-lactâmicos, sendo que GPSCT4.2 também apresentou resistência intermediária à ciprofloxacina. Essas bactérias, assim como o isolado GPWCT6, apresentaram perfil fenotípico sugestivo de AmpC, visto que foram resistentes à cefoxitina – cefalosporina de segunda geração e considerada marcador primário de triagem para identificação de bactérias que possuem esse mecanismo de resistência (POLSFUSS et. al., 2011).

Bactérias com genes para AmpC foram encontradas em águas residuais na China (ZHANG et. al., 2016), corroborando a ideia de que águas não tratadas são fonte de disseminação de genes de resistência. Essa informação é preocupante por somente 55,8% da população brasileira possuir acesso à rede de esgoto, segundo dados de 2021 do Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento (SNIS), e por, frequentemente, as praias serem afetadas pelo lançamento dessas águas residuais não tratadas.

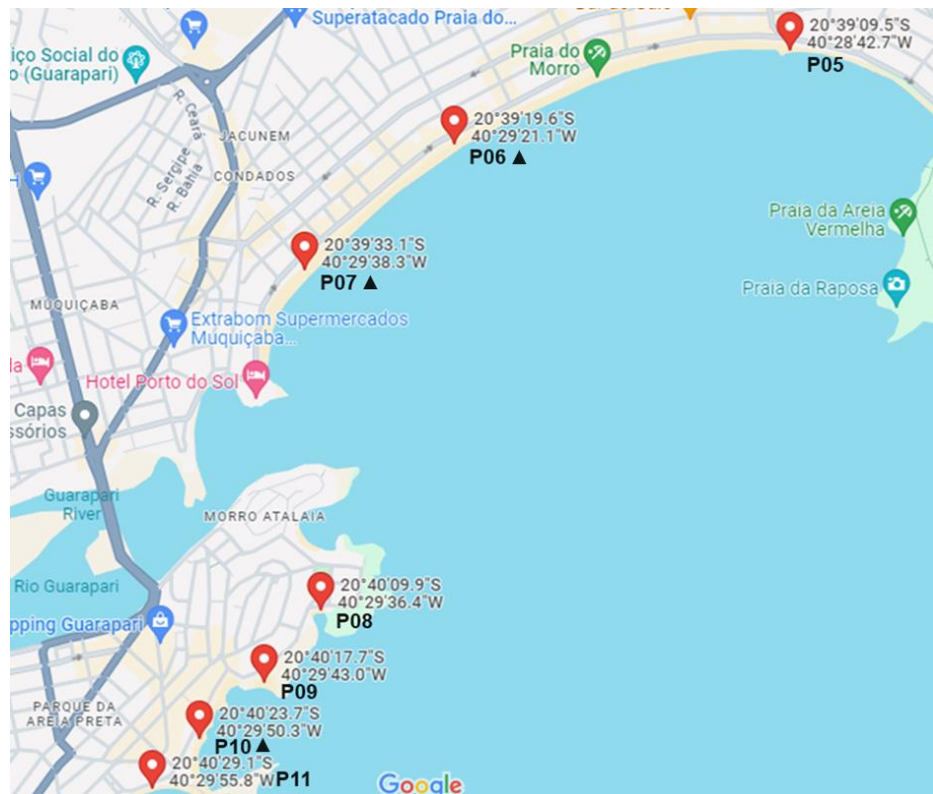
Figura 1 – Pontos de Coleta 01 ao 04 na cidade de Guarapari, Espírito Santo.



Fonte: Elaborado na plataforma Google Maps.

▲ = Pontos de coleta onde foram encontrados isolados bacterianos com mecanismos de resistência de importância clínica.

Figura 2 – Pontos de Coleta 05 ao 11 na cidade de Guarapari, Espírito Santo.



Fonte: Elaborado na plataforma Google Maps.

▲ = Pontos de coleta onde foram encontrados isolados bacterianos com mecanismos de resistência de importância clínica.

Figura 3 – Pontos de Coleta 12 ao 15 na cidade de Guarapari, Espírito Santo.



Fonte: Elaborado na plataforma Google Maps.

▲ = Pontos de coleta onde foram encontrados isolados bacterianos com mecanismos de resistência de importância clínica.

Em relação às bactérias não-fermentadoras isoladas de interesse, GPSCT4.1 e GPSCF10.3 se mostraram resistentes à ceftazidima, cefalosporina de terceira geração, e ao monobactâmico aztreonam, além de também apresentarem resistência à piperacilina/tazobactam, que é uma penicilina associada a um inibidor de beta-lactamase. Essas resistências à classe dos beta-lactâmicos podem ser justificadas por esses isolados apresentarem padrão de mecanismo de resistência característico de ESBL, uma vez que essas enzimas são capazes de hidrolisar cefalosporinas de primeira, segunda e terceira geração, penicilinas e o monobactâmico aztreonam (OLIVEIRA et. al., 2009).

A identificação de bactérias Gram-negativas produtoras de ESBL nas praias de Guarapari está de acordo com análises que ocorreram em praias localizadas em outros países e em outros estados do Brasil, uma vez que bactérias com esse mecanismo de resistência estão sendo encontradas com frequência nesses ambientes. Na Croácia, cepas de enterobactérias resistentes fenotipicamente a múltiplas drogas e contendo genes para ESBL foram encontradas em águas do mar (MARAVIĆ et. al., 2015). No Brasil também foi detectada a presença de cepas de *Escherichia coli* contendo o gene *bla_{CTX-M}* em praias de Santos – cidade costeira populosa do estado de São Paulo (FERNANDES et. al., 2020).

Também é importante destacar que no rio Tietê, localizado em São Paulo e que sofre com fortes impactos antropogênicos, foi isolada uma cepa de *Klebsiella pneumoniae* produtora de ESBL que foi atribuída como clone de uma cepa reconhecida internacionalmente por ser de alto risco para infecções hospitalares (CARDOSO et. al., 2022). Ressalta-se que assim como no rio Tietê, outros rios também podem estar contaminados com bactérias de importância clínica, o que é alarmante, visto que águas fluviais podem desaguar em mares, sendo uma via para bactéria resistentes e genes de resistência a antimicrobianos chegarem em regiões costeiras.

Além disso, dos 11 isolados que foram triados para produção de MCR, somente bactérias não-fermentadoras (GPSCT4.1, GPWCT2 e GPWCT7) apresentaram resultado positivo no CAST, o que é sugestivo de resistência à colistina mediada pelo gene *mcr*, normalmente localizado em plasmídeo (HINCHLIFFE et. al., 2017). Sendo assim, também se apresentam como isolados de interesse e causam preocupação devido à possibilidade de disseminação do gene entre outras bactérias, caso seja confirmado a presença do gene em plasmídeo. As demais

bactérias que cresceram em MacConkey suplementado com colistina e que não apresentaram resultado positivo no CAST, possivelmente possuem resistência à colistina devido a mecanismos intrínsecos.

Para além, da mesma forma que neste estudo, foram isoladas bactérias com perfil característico de MCR em estudos realizados em ambientes costeiros localizados na Argélia, Noruega e em praias de São Paulo, no Brasil. Esses estudos identificaram cepas de *E. coli* com resistência à colistina mediada pelo gene *mcr-1* (DRALI et. al., 2018; JØRGENSEN et. al., 2017; FERNANDES et. al, 2017). Deve-se levar em consideração que, diferente desses estudos em que houve a identificação apenas de bactérias fermentadoras com resistência à colistina codificada pelo gene *mcr-1*, o fato do presente estudo ter identificado apenas bactérias não-fermentadoras com esse perfil de resistência, nas praias de Guarapari, pode estar associado ao maior número de bactérias não-fermentadoras isoladas em relação às fermentadoras.

Vale ressaltar que alguns isolados apresentaram perfis semelhantes de suscetibilidade antimicrobiana. As bactérias fermentadoras GPSCT4.2 e GPSCF13.2 apresentaram medidas próximas dos halos de inibição, além do mesmo mecanismo de resistência (AmpC). As bactérias não-fermentadoras GPSCT1.2, GPSCF6, GPWCT3 e GPWCF15.2 também compartilham de medidas próximas dos halos, assim como as bactérias GPSCT7 e GPWCT7 que, curiosamente, foram isoladas da areia e da água, respectivamente, do mesmo ponto (Praia do Morro). A semelhança do perfil de suscetibilidade antimicrobiana pode significar a ocorrência da troca de elementos genéticos, como plasmídeo, entre as bactérias, ou então que se trata de clones bacterianos isolados em amostras diferentes (DRALI et. al., 2018), que caso fosse confirmado por teste de identificação genética, seria um indicativo da disseminação bacteriana entre diferentes praias ou então entre os ambientes de água e areia da mesma praia.

A presença e disseminação dessas bactérias em águas costeiras e areia das praias podem ser justificadas pelo despejo de águas residuais não tratadas, pela utilização dessas praias por pessoas colonizadas por bactérias multirresistentes e pela circulação de animais, como foi sugerido por um estudo realizado na Holanda, onde foram identificados mecanismos de resistência dos tipos ESBL e AmpC em bactérias presentes em aves, mostrando que esses animais podem servir como veículo de propagação de bactérias resistentes e de genes de resistência entre diferentes ambientes devido ao seu comportamento migratório (VELDMAN et. al., 2013). É

válido reforçar que bactérias multirresistentes e com tais mecanismos de resistência são encontradas em ambientes hospitalares e que outros ambientes, como as praias, não deveriam ser reservatórios de bactérias de importância clínica, visto que o encontro de uma diversidade bacteriana com perfis variados de resistência nesses locais representa risco à saúde de humanos e animais.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir das análises realizadas neste trabalho, foi possível identificar a presença de bactérias com resistências de importância clínica presentes em águas e areia das praias de Guarapari (Espírito Santo), mostrando que a resistência antimicrobiana não está restrita ao ambiente hospitalar e que pode ser indicativo de poluição, sendo, portanto, um risco à saúde humana. Sendo assim, com o objetivo de diminuir danos ecológicos e de saúde pública, torna-se imprescindível a necessidade da divulgação de informações para a população sobre os riscos do uso inadequado de antimicrobianos, e de geração de dados, por meio de estudos ambientais e epidemiológicos, com o intuito de compreender a evolução da resistência aos antimicrobianos e ajudar na investigação de focos de disseminação dessas bactérias. Dessa forma torna-se possível determinar medidas que busquem o controle da presença de genes de resistência em praias, sobretudo em praias do Espírito Santo.

É importante destacar que este trabalho apresenta limitações que envolvem a falta da identificação do gênero e espécie das bactérias que foram isoladas, além da carência da confirmação dos genes responsáveis pela produção de enzimas do tipo ESBL, AmpC e MCR, que será realizado futuramente por meio de testes moleculares. Também deve-se levar em consideração que não foram isoladas bactérias Gram-negativas multirresistentes – visto que nenhuma apresentou resistência a três ou mais antimicrobianos de diferentes classes –, mas que esse resultado pode ter relação com o fato de ter sido realizada apenas uma única coleta das amostras, em um período em que o número de pessoas que frequentam as praias não é alto como no verão.

REFERÊNCIAS

ABUSHAHEEN, M. A. et al. Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. **Disease-a-Month**, v. 66, n. 6, p. 100971, 2020.

AHMAD, I. et al. Environmental antimicrobial resistance and its drivers: a potential threat to public health. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 27, p. 101-111, 2021.

ANDRADE, V. da C. et al. Densities and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from marine waters and beach sands. **Environmental monitoring and assessment**, v. 187, p. 1-10, 2015.

ARMSTRONG, T.; FENN, S. J.; HARDIE, K. R. JMM Profile: Carbapenems: a broad-spectrum antibiotic. **Journal of medical microbiology**, v. 70, n. 12, 2021.

BAUER, A. W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am J Clin Pathol**, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.

BONILLA, T. D. et al. Prevalence and distribution of fecal indicator organisms in South Florida beach sand and preliminary assessment of health effects associated with beach sand exposure. **Marine pollution bulletin**, v. 54, n. 9, p. 1472-1482, 2007.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. Secretaria Nacional de Saneamento – SNS. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento - SNIS: **Diagnóstico temático serviços de água e esgoto** – 2021. Brasília, dez. 2022. 92 p.

CANTARELLI, V. V. et al. Utility of the ceftazidime-imipenem antagonism test (CIAT) to detect and confirm the presence of inducible AmpC beta-lactamases among Enterobacteriaceae. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 11, n. 2, p. 237-239, 2007.

CARDOSO, B. et al. Genomic analysis of a Kpi (pilus system)-positive and CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* belonging to the high-risk clone ST15 isolated from an impacted river in Brazil. **Genomics**, v. 114, n. 1, p. 378-383, 2022.

CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. In: CLSI Supplement M100, 32nd ed. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, Wayne, PA, 2022.

DRALI, R. et al. Emergence of *mcr-1* plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from seawater. **Science of the total environment**, v. 642, p. 90-94, 2018.

ESCALANTE, E. G. et al. Phenotypic detection of plasmid-mediated colistin resistance in Enterobacteriaceae. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 58, n. 3, 2020.

FERNANDES, M. R. et al. Colistin-resistant *mcr-1*-Positive *Escherichia coli* on public beaches, an infectious threat emerging in recreational waters. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 61, n. 7, p. 1-4, 2017.

FERNANDES, M. R. et al. Identification and genomic features of halotolerant extended-spectrum- β -lactamase (CTX-M)-producing *Escherichia coli* in urban-impacted coastal waters, Southeast Brazil. **Mar Pollut Bull**, v. 150, n. 110689, p. 1-4, 2020.

GEORGE, S. et al. Part I Antimicrobial resistance: Bacterial pathogens of dermatologic significance and implications of rising resistance. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 86, n. 6, p. 1189-1204, 2022.

HERNANDO-AMADO, S. et al. Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. **Nature microbiology**, v. 4, p. 1432-1442, 2019.

HINCHLIFFE, P. et al. Insights into the mechanistic basis of plasmid-mediated colistin resistance from crystal structures of the catalytic domain of MCR-1. **Scientific reports**, v. 7, n. 39392, 2017.

JARLIER, V. et al. Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. **Rev Infect Dis**, v. 10, n. 4, p. 867-878, 1988.

JØRGENSEN, S. B. et al. First environmental sample containing plasmid-mediated colistin-resistant ESBL-producing *Escherichia coli* detected in Norway. **Apmis**, v. 125, n. 9, p. 822-825, 2017.

LAZAR, V.; OPREA, E.; DITU, L.-M. Resistance, Tolerance, Virulence and Bacterial Pathogen Fitness—Current State and Envisioned Solutions for the Near Future. **Pathogens**, v. 12, n. 5, p. 746, 2023.

LI, Z. et al. Antibiotics in aquatic environments of China: A review and meta-analysis. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 199, 2020.

LÖFFLER, P. et al. Antimicrobial Transformation Products in the Aquatic Environment: Global Occurrence, Ecotoxicological Risks, and Potential of Antibiotic Resistance. **Environmental Science & Technology**, v. 57, n. 26, p. 9474-9494, 2023.

MAGIORAKOS, A.-P. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical microbiology and infection**, v. 18, n. 3, p. 268-281, 2012.

MANAIA, C. M. et al. Antibiotic resistance in urban aquatic environments: can it be controlled?. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 100, p. 1543-1557, 2016.

MARAVIĆ, A. et al. Prevalence and diversity of extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae from marine beach waters. **Marine pollution bulletin**, v. 90, n. 1-2, p. 60-67, 2015.

MCEWEN, S. A.; COLLIGNON, P. J. Antimicrobial resistance: a one health perspective. **Antimicrobial resistance in bacteria from livestock and companion animals**, p. 521-547, 2018.

MONTEZZI, L. F. et al. Occurrence of carbapenemase-producing bacteria in coastal recreational waters. **International journal of antimicrobial agents**, v. 45, n. 2, p. 174-177, 2015.

MURRAY, C. JL et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629-655, 2022.

OLIVEIRA, A. J. F. C. de; PINHATA, J. M. W. Antimicrobial resistance and species composition of *Enterococcus* spp. isolated from waters and sands of marine recreational beaches in Southeastern Brazil. **Water research**, v. 42, n. 8-9, p. 2242-2250, 2008.

OLIVEIRA, C. F. de et al. Prevalência das famílias TEM, SHV e CTX-M de β -lactamases de espectro estendido em *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp no Hospital Universitário de Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 556-560, 2009.

O'NEILL, J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. 2016.

PASCHOAL, R. P. et al. Concentration and variety of carbapenemase producers in recreational coastal waters showing distinct levels of pollution. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 61, n. 12, 2017.

POLSFUSS, S. et al. Practical approach for reliable detection of AmpC beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. **Journal of clinical microbiology**, v. 49, n. 8, p. 2798-2803, 2011.

PRESTINACI, F.; PEZZOTTI, P.; PANTOSTI, A. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. **Pathogens and global health**, v. 109, n. 7, p. 309-318, 2015.

RESENDE, J. A.; SILVA, V. L. da; DINIZ, C. G. Aquatic environments in the One Health context: modulating the antimicrobial resistance phenomenon. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 32, 2020.

SADYRBAEVA-DOLGOVA, S. et al. The Challenge of Bacteremia Treatment due to Non-Fermenting Gram-Negative Bacteria. **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 899, 2023.

VELDMAN, K. et al. Characteristics of cefotaxime-resistant *Escherichia coli* from wild birds in the Netherlands. **Applied and environmental microbiology**, v. 79, n. 24, p. 7556-7561, 2013.

WHITMAN, R. L.; NEVERS, M. B. Foreshore sand as a source of *Escherichia coli* in nearshore water of a Lake Michigan beach. **Applied and environmental microbiology**, v. 69, n. 9, p. 5555-5562, 2003.

ZHANG, X.-H. et al. Occurrence of antibiotic resistance genes in landfill leachate treatment plant and its effluent-receiving soil and surface water. **Environmental pollution**, v. 218, p. 1255-1261, 2016.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
INSTITUTO FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
VVL - COORDENADORIA DO CURSO DE BACHARELADO EM
BIOMEDICINA



ATA DE DEFESA Nº 6/2024 - VVL - CCBB (11.02.34.01.08.02.10)

Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO

Vila Velha-ES, 03 de janeiro de 2024.

ATA DE DEFESA DE TCC

Aos vinte e nove dias do mês de novembro do ano de dois mil e vinte e três, a banca presidida pela professora Quézia Moura da Silva e composta por Iasmim Fernandes Barcelos e Suzana Kanawati Pinheiro Kerr, reuniu-se para a defesa do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado **Avaliação de bactérias Gram-negativas multirresistentes a antimicrobianos de importância clínica em praias públicas da cidade de Guarapari, Espírito Santo**, apresentado por Ingrid Endlich Senna do Curso Superior de Biomedicina. Após a apresentação do trabalho e arguição, a banca examinadora deliberou concluindo pela **APROVAÇÃO** do Trabalho de Conclusão de Curso, desde que a estudante entregue o Trabalho de Conclusão de Curso corrigido, conforme as considerações realizadas pela Banca Examinadora e sob supervisão do orientador, à Biblioteca Zilma Coelho Pinto do Ifes/Vila Velha, como requisito necessário para solicitação de colação de grau. A banca examinadora, ainda, atribuiu nota noventa e cinco (95) ao trabalho.

(Assinado digitalmente em 03/01/2024 18:20)

QUEZIA MOURA DA SILVA

PROFESSOR DO ENSINO BÁSICO TÉCNICO E TECNOLÓGICO

VVL - CCBB (11.02.34.01.08.02.10)

Matrícula: 1146184

(Assinado digitalmente em 03/01/2024 18:27)

SUZANA KANAWATI PINHEIRO KERR

PROFESSOR DO ENSINO BÁSICO TÉCNICO E TECNOLÓGICO-
SUBSTITUTO

VVL - CCBB (11.02.34.01.08.02.10)

Matrícula: 3382271

(Assinado digitalmente em 03/01/2024 20:36)

Ingrid Endlich Senna

DISCENTE

Matrícula: 9999332997

Documento assinado digitalmente



IASMIM FERNANDES BARCELOS

Data: 05/01/2024 11:52:52-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Processo Associado: 23187.001378/2023-90

Visualize o documento original em <https://sipac.ifes.edu.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: 6, ano: 2024, tipo: ATA DE DEFESA, data de emissão: 03/01/2024 e o código de verificação: 685e54a168