

Avaliação do perfil de resistência aos antimicrobianos em cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus* spp. no canal do Marambaia em Balneário Camboriú, Santa Catarina

Evaluation of the antimicrobial resistance profile of isolated strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus* spp. in the Marambaia river in Balneário Camboriú, Santa Catarina

Anne Caroline Demeneck Lima* 

Charrid Resgalla Junior 

Marcus Adonai Castro da Silva 

Universidade do Vale do Itajaí
(Univali), Itajaí, SC, Brasil

* E-mail: anndemeneck@gmail.com

Recebido: 02 dez 2021

Aprovado: 12 jul 2022

Como citar: Lima ACD, Resgalla Junior C, da Silva MAC. Avaliação do perfil de resistência aos antimicrobianos em cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus* spp. no canal do Marambaia em Balneário Camboriú, Santa Catarina. Vigil Sanit Debate, Rio de Janeiro, 10(3):122-132, agosto 2022. <https://doi.org/10.22239/2317-269X.02026>

RESUMO

Introdução: Durante as últimas décadas, diversos micropoluentes orgânicos foram liberados no meio ambiente como resultado de atividades antropogênicas. Entre eles, se destacam os antibióticos, substâncias pouco biodegradáveis e muito persistentes que, ao se acumularem nos sistemas aquáticos, proporcionam um ambiente favorável à seleção e proliferação de microrganismos resistentes a antimicrobianos. **Objetivo:** Avaliar o perfil de resistência aos antimicrobianos em cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus* spp., isoladas no rio Marambaia e na praia adjacente, em Balneário Camboriú, Santa Catarina. **Método:** A amostragem foi dividida em seis coletas, totalizando 36 amostras e abrangendo todas as estações do ano. Foram realizadas análises microbiológicas fenotípicas, incluindo morfologia e testes de susceptibilidade aos antimicrobianos. A análise de dados foi realizada com o auxílio dos softwares Excel e Past, versão 4.03, através de análise explorativa e descritiva. **Resultados:** Foi verificada a presença de coliformes totais e termotolerantes, em todos os pontos amostrais, indicando a influência da desembocadura do rio na praia, além disso, a concentração de *E. coli* encontrada nos pontos amostrais está em desacordo com a Resolução Conama n° 357/2005, exceto para os pontos Marambaia 1 e Praia 3. De forma geral, cinco cepas apresentaram resistência a pelo menos três antibióticos, sendo a mais expressiva a ampicilina, com 14 cepas resistentes. O índice MAR para *Staphylococcus* spp. mostrou altos riscos para multirresistência, não apresentando diferenças para os fatores momento e local de coleta, sendo que 96 cepas apresentaram resistência para pelo menos um antibiótico. Foi encontrado um número maior de cepas resistentes aos antimicrobianos eritromicina e clindamicina. **Conclusões:** A presença de *E. coli* é preocupante por se tratar de um coliforme termotolerante, indicativo de contaminação fecal recente. A existência de mecanismos de resistência nessas bactérias pode modificar a microbiota local, colocando em risco a saúde da população. Quanto aos *Staphylococcus* spp., através da avaliação dos dados do índice MAR, verificou-se riscos altos de multirresistência para a maioria dos locais amostrados e em qualquer momento das coletas. Além disso, poucas cepas foram sensíveis para todos os antibióticos testados. A análise do antibiograma revelou que 96 cepas apresentaram resistência para pelo menos uma classe de antimicrobiano. Os mecanismos de resistência que ocorrem em Gram-positivos, apesar de divergirem daqueles ocorridos em Gram-negativos, são igualmente preocupantes, seja do ponto de vista microbiológico ou em questões de saúde pública.

PALAVRAS-CHAVE: Resistência Bacteriana; Antibióticos; Tratamento de Efluentes

ABSTRACT

Introduction: During the last few decades, various organic micropollutants, including antibiotics, have been released into the environment because of anthropogenic



activities. These drugs are poorly biodegradable and very persistent, such that when they accumulate in aquatic systems, they provide a favorable environment for the selection and proliferation of resistant microorganisms. **Objective:** evaluate the antimicrobial resistance profile of isolated strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus* spp taken from the Marambaia river and its adjacent beach, in Balneário Camboriú, in the Brazilian state of Santa Catarina. **Method:** The sampling was divided into six collections, with a total of thirty-six samples, across all seasons of the year. Subsequently, microbiological analyses and antibiotic sensitivity tests were performed. Data analysis was performed using the software programs Excel and Past, version 4.03, through exploratory and descriptive analyses. **Results:** The results showed the presence of total and thermotolerant coliforms at all sampling points, indicating the influence of the river outflow on the beach. Moreover, the concentrations of *E. coli* found in the sampling points are not compliant with Conama Resolution 357/2005, except for the points Marambaia 1 and Praia 3. The MAR index for *Staphylococcus* showed high risks for multidrug resistance, with no differences for the time and place of collection. Ninety-six strains were resistant to at least one antibiotic. The isolated strains showed greater resistance to antibiotics erythromycin and clindamycin. **Conclusions:** The presence of *E. coli* is worrisome because it is a thermotolerant coliform, indicative of recent fecal contamination. The presence of resistance mechanisms in these bacteria can modify the local microbiota, putting the health of the population at risk. As for *Staphylococcus* spp., through the evaluation of the MAR index, high risks of multidrug resistance were found for most of the sampled locations and at any time of collection. In addition, few strains were sensitive to all antibiotics tested. The resistance mechanisms that occur in Gram-positives, despite differing from those that occur in Gram-negatives, are equally worrisome, whether from a microbiological point of view or in terms of public health.

KEYWORDS: Bacterial Resistance; Antibiotics; Wastewater Treatment

INTRODUÇÃO

A expansão urbana ocorre, muitas vezes, sem o devido planejamento, de forma que serviços como coleta e tratamento de esgotos acabam recebendo atendimento limitado.

Segundo o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS)¹, no Brasil, cerca de 98,2% da população urbana é atendida por rede de abastecimento de água e somente 61,9% é atendida com coleta de esgoto. Apenas 49,1% do esgoto gerado passa por algum tipo de tratamento, demonstrando que mais de 50,0% de todo esgoto doméstico do Brasil é lançado *in natura* no ambiente.

Muitas fossas domésticas, por negligência ou falta de recursos financeiros da população, extravasam e invadem os sistemas de coletas pluviais, que não são tratados e acabam desaguando diretamente nos corpos aquáticos. Por outro lado, sabe-se que uma boa parcela da população não assistida por tratamento de esgotos, executa ligações clandestinas nas galerias pluviais ou lançam o esgoto *in natura* diretamente nos córregos das cidades².

Entre os fármacos encontrados como poluentes ambientais, se destacam os antibióticos, capazes de proporcionar um ambiente favorável para a proliferação de resistência bacteriana. Os antibióticos são compostos naturais, sintéticos ou semissintéticos, classificados como bactericidas, quando causam a morte da bactéria, ou bacteriostáticos, quando promovem a inibição do crescimento microbiano³.

Antibióticos contribuem para o aumento da expectativa de vida das populações humanas⁴. No entanto, isso pode ser comprometido pela resistência bacteriana aos antibióticos, por reduzir as opções terapêuticas de fármacos efetivos contra patógenos bacterianos⁵.

Contudo, o uso de antibióticos não se restringe aos tratamentos voltados para a saúde humana ou veterinária, sendo também

utilizados na agricultura, pecuária e piscicultura com finalidade profilática e de tratamento. O uso indevido representa um risco à saúde pública, pois acarreta na liberação dessas substâncias no meio ambiente através do esgoto doméstico, efluentes hospitalares e industriais, além do descarte de medicamentos com prazo de validade expirado e as sobras domésticas daqueles não utilizados, selecionando cepas resistentes^{5,6}.

O aumento de bactérias resistentes a antimicrobianos pode trazer danos ao ser humano, além do efeito tóxico aos organismos aquáticos^{7,8}.

Organismos resistentes foram observados em diversos ambientes aquáticos incluindo rios e áreas costeiras, águas superficiais e sedimentos, lagos, oceanos, água potável e esgoto doméstico e hospitalar⁹.

A resistência pode ser considerada um fenômeno ecológico, resposta do microrganismo frente ao amplo uso de antibióticos e sua presença no meio ambiente³.

As bactérias apresentam mecanismos de resistência complexos. Esses mecanismos podem coexistir em uma mesma cepa bacteriana, tornando-a resistente a diferentes classes de antimicrobianos e gerando um perfil de multirresistência¹¹.

Uma bactéria é considerada multirresistente se apresentar resistência a três ou mais classes de antibióticos¹². O aumento de resistência a antibióticos compromete o tratamento de diversas infecções que, até recentemente, eram controláveis¹². Consequentemente, a escolha de muitas drogas importantes no tratamento de infecções bacterianas tem se tornado limitada e pode ocasionar resultados imprevisíveis¹³.

As bactérias podem apresentar resistência intrínseca ou adquirida aos antibióticos. A resistência intrínseca se caracteriza por uma



resposta inata na qual todos os indivíduos de um mesmo gênero ou espécie apresentam resistência a um determinado agente antimicrobiano, devido a particularidades estruturais ou funcionais. Já a resistência adquirida ocorre quando uma bactéria previamente sensível a determinado antimicrobiano desenvolve resistência, podendo ser consequência de mutações em genes cromossômicos ou de aquisição de elementos genéticos móveis, como plasmídeos e transposons, por transferência horizontal de genes¹¹.

Entre as bactérias de maior importância clínica, se encontra a *Escherichia coli*, um bacilo Gram-negativo da família Enterobacteriaceae. É a única espécie do grupo coliforme termotolerante cujo habitat exclusivo é o trato gastrointestinal de seres humanos e de animais homeotérmicos e está presente em grandes quantidades em esgotos, efluentes, águas naturais e solos que receberam contaminação fecal recente, sendo utilizada como bioindicador de qualidade ambiental¹⁴.

Outro gênero de destaque é *Staphylococcus* spp., que compõe a microbiota de seres humanos e animais, habitando pele e mucosas. São patógenos oportunistas, associados a infecções brandas, como infecções de pele e intoxicações alimentares, mas que também podem causar infecções graves, potencialmente fatais, como pneumonias, bacteremias e infecções relacionadas a dispositivos médicos invasivos. Dentre as espécies, *Staphylococcus aureus* é a mais patogênica por possuir uma diversidade de fatores de virulência¹¹.

Bactérias resistentes a antibióticos já foram encontradas em diversos ambientes aquáticos, incluindo efluentes tratados e não tratados, rios e no oceano¹². Contudo, o aporte direto e contínuo desses compostos em águas naturais, proporciona um ambiente que pode favorecer a seleção de genes de resistência em microrganismos patogênicos, tornando-os resistentes^{15,16}.

Visto que esses corpos de água podem ser utilizados pela população, a avaliação dos efeitos da presença de antibióticos nos mananciais e no possível desenvolvimento de resistência em bactérias é fundamental para subsidiar políticas públicas de proteção à vida humana e ao meio ambiente. Neste contexto, o presente trabalho objetivou avaliar o perfil de resistência bacteriana aos antibióticos, na água do rio Marambaia e na praia adjacente, em Balneário Camboriú, Santa Catarina (SC). O foco do estudo foram as bactérias da espécie *Escherichia coli* e bactérias do gênero *Staphylococcus*.

MÉTODOS

Amostragem

A amostragem foi dividida em seis coletas, em um total de seis amostras por coleta, no Rio Marambaia, em Balneário Camboriú. As coletas foram realizadas nas datas 28/10/2020, 25/11/2020, 28/01/2021, 14/04/2021, 26/07/2021 e 29/10/2021. Em cada coleta, três amostras foram provenientes de pontos no decorrer do rio, e três, de pontos ao longo da praia, seguindo pelo deck. O percurso total foi de cerca de 1 km. Ao todo, foram realizadas seis coletas, totalizando 36 amostras.

Enumeração e isolamento de *Escherichia coli*

Para o isolamento de *E. coli*, foi utilizada a análise de coliformes por meio do método de tubos múltiplos, sendo estabelecido, ao final da análise, o número mais provável (NMP) de microrganismos por 100 mL de amostra. O meio de cultura utilizado nessa etapa foi o ágar Cromogênico.

A etapa seguinte, para o isolamento de *E. coli*, consistiu na semeadura por esgotamento das alíquotas positivas para coliformes termotolerantes, em meio de cultura sólido MacConkey, visando o isolamento de cepas de *E. coli* através da morfologia das colônias, que apresentam coloração rosa avermelhada, característica de bactérias fermentadoras de lactose, podendo apresentar a formação de véu ou *swarming*, devido à presença de motilidade através de flagelos¹⁷.

A identificação das colônias e confirmação do resultado, decorreu de provas bioquímicas específicas, como o meio semissólido SIM e meio sólido em tubo inclinado Citrato de Simmons. Em meio SIM, a espécie *E. coli* não produz sulfeto, é móvel e produz indol. Em meio Citrato de Simmons, *E. coli* não utiliza citrato como única fonte de carbono¹⁸.

Enumeração e isolamento de *Staphylococcus* spp.

Para o isolamento de *Staphylococcus* spp., as alíquotas provenientes do rio Marambaia foram inoculadas em dois meios de cultura sólidos: ágar Manitol Sais e ágar Baird-Parker. Para as amostras provenientes dos pontos definidos para a praia, foram inoculadas alíquotas em ambos os meios, por meio do método de membrana filtrante, visando a melhor recuperação dos microrganismos, visto que as amostras apresentaram maior diluição natural nestes pontos.

Em meio Manitol Sais, colônias sugestivas de *Staphylococcus aureus*, fermentadoras de manitol, são maiores e rodeadas de uma zona amarela. As colônias sugestivas de *Staphylococcus coagulase negativa*, por sua vez, são menores e rodeadas por uma zona vermelha ou rosada. Algumas espécies, como *Staphylococcus epidermidis*, podem apresentar colônias brancas¹⁹.

Em meio Baird Parker, as colônias sugestivas de *S. aureus* apresentam colônias negras, brilhantes, rodeadas por halo de lecitinase (zona opaca cercada por um halo claro), enquanto as colônias sugestivas de *Staphylococcus coagulase negativa* apresentam coloração cinza escuro a pretas e não desenvolvem halo ao redor das colônias²⁰.

Antibiograma

O Teste de Sensibilidade a Antibióticos (TSA) ou antibiograma, consiste na determinação *in vitro* da sensibilidade bacteriana através da metodologia de disco-difusão, definida em 1966 por Kirby e Bauer. As medidas obtidas foram comparadas ao valor de referência estabelecido pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST)²¹, podendo estabelecer resultados sensíveis, intermediários e resistentes²¹.



Os antibióticos foram escolhidos de acordo com sua importância no tratamento de infecções humanas e animais, causadas por bacilos Gram-negativos da família Enterobacteriaceae e bactérias do gênero *Staphylococcus*.

Para as cepas de *E. coli*, foram testados os antibióticos ampicilina (10 µg), aztreonam (30 µg), ceftioxina (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), gentamicina (10 µg), imipenem (10 µg), piperacilina + tazobactam (110 µg) e sulfametoxazol + trimetoprim (25 µg).

Para as cepas de estafilococos foram testados ceftioxina (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), clindamicina (2 µg), eritromicina (15 µg) e gentamicina (10 µg).

Para as cepas de estafilococos foi utilizado também o disco de vancomicina (30 µg), no entanto o valor de referência utilizado para a leitura dos halos de inibição se deu por meio do estabelecido pelo *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI)²², como forma de triagem, visto que resultados resistentes necessitam de confirmação através da metodologia da concentração inibitória mínima (CIM)^{21,22}.

Análise de dados

Para a condução das análises estatísticas, inicialmente foi testada a normalidade dos dados, utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Neste teste, os dados são considerados normais quando os valores obtidos de *p* excedem 0,05.

Para comparar as contagens de *Staphylococcus* spp. a partir dos diferentes meios de culturas, foi utilizado o teste não paramétrico de Wilcoxon para amostras pareadas. Foram comparadas contagens para cada local separadamente, tomando as amostras de diferentes datas de coleta como réplicas. Para as contagens de *S. aureus*, apenas foram testadas as amostras M1, M2 e M3, uma vez que não foi possível distinguir as colônias de *S. aureus* no meio Baird-Parker das restantes nas outras amostras.

Para comparar os diferentes locais ao longo do tempo em relação à resistência antimicrobiana das cepas de *Staphylococcus* spp., foi realizada uma PERMANOVA de dois fatores. As variáveis avaliadas foram os diâmetros dos halos de inibição para cada uma das cepas testadas.

Para as mesmas comparações, mas com base nas cepas de *E. coli*, os dois fatores foram testados de forma independente. Isto foi necessário pois, em função do menor número de cepas isoladas e testadas de *E. coli*, não foi possível obter medidas replicadas para cada combinação dos diferentes níveis dos fatores local e tempo. Sendo assim, na primeira PERMANOVA de um fator, as cepas foram agrupadas pelo fator local; na segunda, pelo fator tempo.

Os índices de resistência múltipla a antibióticos (MAR) para as amostras analisadas foram calculados pela fórmula $MAR = a/(b \cdot c)$, sendo *a* o número combinado de resistências para todos os isolados e antibióticos da amostra, *b* o número de antibióticos testados e *c* o número de isolados analisados através do método de Krumpferman²⁴. Os índices foram calculados apenas para os isolados de *Staphylococcus* spp., pois, para *E. coli*, o número de isolados obtidos foi insuficiente para obter índices para todas as amostras.

RESULTADOS

Enumeração de coliformes totais e termotolerantes

Coliformes totais foram detectados em todos os pontos amostrados (Tabela 1). Apesar da diluição natural ocorrida nos pontos da praia, eles apresentaram resultados semelhantes aos do canal. O ponto com menor concentração de coliformes totais foi o Praia 3.

As maiores concentrações observadas para todos os pontos, ocorreram no período de janeiro a fevereiro de 2021. Na coleta

Tabela 1. Concentrações de coliformes totais e termotolerantes (NMP/100 mL) para cada ponto amostral em cada coleta realizada.

Microrganismo	Data	Pontos de coleta					
		M1	M2	M3	P1	P2	P3
Coliformes totais	28/10/20	4.600	11.000	4.600	2.400	11.000	230
	25/11/20	> 11.000	>11.000	4.600	4.600	2.400	930
	28/01/21	> 11.000	>11.000	> 11.000	> 11.000	> 11.000	> 11.000
	14/04/21	750	>11.000	> 11.000	> 11.000	5.300	> 11.000
	26/07/21	> 11.000	4.600	> 11.000	> 11.000	11.000	4.600
	29/10/21	4.600	11.000	> 11.000	> 11.000	4.600	4.600
Coliformes termotolerantes	28/10/20	1.500	2.400	930	430	1.200	92
	25/11/20	4.600	4.600	930	2.400	930	930
	28/01/21	2.100	11.000	930	> 11.000	4.600	2.400
	14/04/21	230	1.500	> 11.000	4.600	4.400	1.500
	26/07/21	4.600	2.400	> 11.000	> 11.000	2.400	2.400
	29/10/21	930	4.600	11.000	> 11.000	2.400	930

Fonte: Elaborada pelos autores, 2021.

M: Marambaia; P: Praia.



referente ao período de julho de 2021, o ponto Marambaia 2 apresentou concentrações menores de coliformes totais em relação aos demais pontos. Verificou-se maior variabilidade ao longo do tempo para os pontos Marambaia 1 e Praia 2.

As maiores concentrações de coliformes termotolerantes foram observadas nos pontos Marambaia 2, Marambaia 3 e Praia 1. Considerando o rio Marambaia um corpo de água salobra de classe 2, a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (Conama) n° 357, de 17 de março de 2005, estabelece que os limites para coliformes termotolerantes não deverão exceder 2.500 por 100 mL em 80% ou mais, de pelo menos seis amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. Verificou-se que os pontos amostrais Marambaia 2 e Marambaia 3 não atingiram os padrões estabelecidos²⁵.

Para os pontos da praia foram considerados os padrões estabelecidos para corpos de água salina classe 2, cujos limites não devem exceder os 2.500/100 mL. Dessa forma, os pontos amostrais 1 e 2 não cumprem com os padrões estabelecidos.

Temporalmente, houve grande variação entre os pontos do Marambaia. O mesmo ocorre para a Praia 1, quando comparado aos pontos 2 e 3 da praia, nos quais pode-se observar um padrão mais semelhante ao longo do tempo. De forma geral, o ponto 3 da praia apresentou a menor variabilidade, assim como as menores concentrações de coliformes termotolerantes.

Enumeração de *Staphylococcus*

Os valores mais altos de *Staphylococcus* spp. ocorreram nos pontos do Marambaia em janeiro e julho de 2021, em ambos os meios de cultura (Tabela 2). No entanto, através de análise estatística não foi possível verificar diferença entre os meios de cultura avaliados, com exceção do ponto Marambaia 2 ($p = 0,03125$). Nos pontos da praia, observou-se maiores contagens de *Staphylococcus* spp. em janeiro de 2021, podendo considerar também

valores ligeiramente aumentados no período de abril de 2021. Por meio de análises estatísticas, não foi observada diferença entre os meios.

Enumeração de *Staphylococcus aureus*

A análise da morfologia da colônia permitiu a identificação de microrganismos sugestivos de *S. aureus* para os pontos Marambaia nos meios de cultura Manitol Sais e Baird Parker. Já para as alíquotas da praia, a diferenciação morfológica só foi possível para o meio sólido Manitol Sais, uma vez que a membrana filtrante impossibilitou a visualização dos possíveis halos de lecitinase, característicos de *S. aureus*. Sendo assim, a utilização do meio sólido Baird Parker apresentou certa limitação quanto ao isolamento e diferenciação de microrganismos sugestivos de *S. aureus*, e a contagem deste microrganismo para este meio de cultura só foi possível para os pontos do Marambaia (Tabela 3).

Nos pontos da praia, observou-se um número maior de microrganismos isolados nos períodos de janeiro a abril de 2021, com destaque para o ponto Praia 3. No canal do Marambaia, os maiores valores foram encontrados nos pontos 1 e 3 em janeiro de 2021. Entretanto, não houve diferenças entre as contagens obtidas dos dois meios de cultura.

Antibiogramas de *Escherichia coli*

Das 34 cepas avaliadas de *E. coli*, 19 apresentaram sensibilidade para todos os antibióticos testados. As cepas isoladas apresentaram maiores índices de resistência para os antibióticos ampicilina (41,2%) e sulfametoxazol + trimetoprim (26,5%). Resultados intermediários puderam ser observados em determinadas cepas para os antibióticos imipenem (11,8%), ciprofloxacina (8,8%) e piperacilina + tazobactam (2,9%). As cepas isoladas nos pontos 1 do Marambaia e 2 da praia não apresentaram resultados intermediários contra nenhum antibiótico testado.

Tabela 2. Concentrações de *Staphylococcus* spp. (UFC/mL) para cada ponto amostral e coleta realizada, para ambos os meios de cultura.

Meio	Data	Pontos de coleta					
		M1	M2	M3	P1	P2	P3
Ágar Manitol Sais	28/10/20	0,00	30,00	50,00	5,50	6,00	7,50
	25/11/20	6,67	10,00	36,67	3,05	3,65	1,75
	28/01/21	1.180,00	173,33	1.206,67	50,00	60,00	> 100,00
	14/04/21	0,00	0,00	135,00	15,00	11,00	6,75
	26/07/21	233,33	460,00	375,00	4,50	14,00	8,50
	29/10/21	16,67	66,67	186,67	12,40	4,25	2,30
Agar Baird-Parker	28/10/20	600,00	275,00	40,00	4,50	4,65	3,00
	25/11/20	626,67	483,33	525,00	6,00	1,50	0,30
	28/01/21	1.175,00	1.511,67	770,00	55,00	65,00	> 100,00
	14/04/21	105,00	600,00	1.155,00	32,00	> 100,00	5,00
	26/07/21	1.431,67	1.135,00	680,00	20,00	0,93	3,00
	29/10/21	465,83	693,33	595,00	42,50	3,20	2,50

Fonte: Elaborada pelos autores, 2021.
M: Marambaia; P: Praia.

Tabela 3. Concentrações de *S. aureus* (UFC/mL) em cada ponto amostral e coleta realizada, para ambos os meios de cultura.

Meio de Cultura	Data	Pontos de coleta					
		M1	M2	M3	P1	P2	P3
Ágar Manitol Sais	28/10/20	0,00	30,00	50,00	3,35	3,25	5,75
	25/11/20	6,67	10,00	16,67	3,00	3,50	1,75
	28/01/21	408,33	88,33	550,00	30,00	30,00	> 100,00
	14/04/21	0,00	0,00	130,00	12,00	8,00	6,50
	26/07/21	75,00	70,00	33,33	2,00	1,50	1,00
	29/10/21	6,67	50,00	126,67	11,20	4,00	2,00
Agar Baird-Parker	28/10/20	30,00	30,00	0,00	ND	ND	ND
	25/11/20	3,33	6,67	20,00	ND	ND	ND
	28/01/21	283,33	136,67	55,00	ND	ND	ND
	14/04/21	5,00	75,00	30,00	ND	ND	ND
	26/07/21	33,33	36,67	26,67	ND	ND	ND
	29/10/21	20,00	3,33	13,33	ND	ND	ND

Fonte: Elaborada pelos autores, 2021.

ND: não determinado.

M: Marambaia; P: Praia.

Tabela 4. Índices de resistência múltipla a antibióticos (MAR) em *Staphylococcus* spp. para os locais de coleta. Os valores destacados indicam as amostras que apresentaram baixo risco de multirresistência, segundo critério estabelecido por Krumperman²⁴.

Pontos de coleta	Estação do ano/ano de coleta				
	Primavera 2020	Verão 2021	Outono 2021	Inverno 2021	Primavera 2021
M 1	0,38	0,57	0,17	0,25	0,25
M 2	0,60	0,33	0,33	0,33	0,42
M 3	0,52	0,67	0,39	0,46	0,20
P 1	0,42	0,42	0,38	0,22	0,17
P 2	0,43	0,33	0,00	0,42	0,39
P 3	0,27	0,11	0,33	0,50	0,50

Fonte: Elaborada pelos autores, 2021.

M: Marambaia; P: Praia.

Por meio do teste de Shapiro-Wilk, verificou-se que os dados não seguem uma distribuição normal ($p < 0,05$). Na análise de PERMANOVA verificou-se que a resistência antimicrobiana não diferiu em relação ao local de coleta ($F = 1,38$; $p = 0,1759$) nem em relação com o momento de coleta ($F = 1,308$; $p = 0,2197$).

Catorze cepas apresentaram resistência a pelo menos um antibiótico testado. Duas cepas foram resistentes a cinco antibióticos, uma cepa a quatro antibióticos e duas cepas a três antibióticos. A maioria destas cepas, com exceção de uma, se originou de amostras do canal do Marambaia.

Antibiogramas de *Staphylococcus* spp.

No total foram avaliadas 117 cepas de *Staphylococcus* spp. As cepas apresentaram mais resistência aos antibióticos das classes macrolídeo e lincosamida. Setenta e cinco cepas foram resistentes à eritromicina (64,1%) e 73 cepas apresentaram resistência à clindamicina (62,4%), sendo que três cepas apresentaram resistência induzida, na qual encontra-se resistência à eritromicina

e falsa sensibilidade à clindamicina, resultando em um achatamento da zona de inibição, adjacente ao disco de eritromicina, com a forma da letra D (D-teste). Em contrapartida, a maior sensibilidade foi para a gentamicina, em todos os pontos avaliados. Os resultados intermediários apareceram com maior frequência quando as cepas foram testadas contra a ciprofloxacina.

Com o auxílio do teste de Shapiro-Wilk, verificou-se que os dados não seguem uma distribuição normal ($p < 0,05$). Pela PERMANOVA, concluiu-se que a resistência aos antibióticos não difere nos fatores momento ($F = 1,0542$, $p = 0,0997$) ou local de coleta ($F = 0,6331$, $p = 0,4981$). Também se verificou que não há interação entre estes fatores ($F = -0,50935$, $p = 0,0541$).

Noventa e seis cepas de *Staphylococcus* spp. foram resistentes a pelo menos um antibiótico. Uma cepa apresentou resistência para todos os antibióticos testados. Seis cepas foram resistentes a quatro antibióticos e 29 cepas a três antibióticos. Estas cepas se originaram tanto do canal quanto dos pontos da praia.



Utilizando os resultados das cepas de *Staphylococcus* spp., foram calculados índices MAR para todas as amostras analisadas (Tabela 4). De acordo com Krumperman²⁴, que considera como maiores riscos de multirresistência aqueles que apresentam valores superiores a 0,20. Verificou-se que a maioria das amostras analisadas apresentam alto risco de multirresistência, considerando os resultados dos antibiogramas deste gênero bacteriano.

As amostras foram comparadas em relação aos índices MAR calculados a partir dos antibiogramas das cepas de *Staphylococcus* spp. Após constatar que os dados se distribuíam normalmente ($p > 0,05$), observou-se que não houve diferenças considerando os fatores momento ($F = 0,6397$, $p = 0,6721$) e local de coleta ($F = 1,182$, $p = 0,3486$).

DISCUSSÃO

O ponto amostral com maior concentração média de coliformes totais foi o Marambaia 2, local que passa pela área mais urbanizada do rio, recebendo maiores influências de construção civil e comercial. Em contrapartida, o ponto amostral com menor concentração média foi o Praia 3, indicando a maior diluição natural, uma vez que se encontra mais distante, recebendo menores influências tanto do rio, quanto do molhe da Barra Norte. Destaca-se que os pontos Marambaia 3 e Praia 1 apresentaram padrões semelhantes quando observados ao longo do tempo, indicando a influência da desembocadura do rio sobre a qualidade microbiológica da praia.

As maiores concentrações observadas para todos os pontos, ocorreram em janeiro a fevereiro de 2021, podendo estar associadas à lixiviação de microrganismos do solo para a água. Em julho de 2021, o ponto Marambaia 2 apresentou concentrações menores de coliformes totais em relação aos demais, podendo ter como causa a forte pressão antropogênica do aporte de resíduos de construção civil observados no momento da coleta. Alusivo aos resultados do ponto 2 da praia, a variabilidade dos dados ao longo do tempo pode ser explicada pela maior presença do uso recreativo do local.

Segundo a Resolução Conama n° 357/2005, os parâmetros devem atender às condições e aos padrões de qualidade de acordo com o uso do corpo de água. O enquadramento dos corpos de água, por sua vez, não deve estar baseado no seu estado atual, mas nos níveis de qualidade que deveriam possuir para atender às necessidades da comunidade²⁵. Considerando o rio Marambaia um corpo de água salobra de classe 2, as condições necessárias para a garantia da qualidade não foram atingidas, haja vista que a contagem média de coliformes termotolerantes ultrapassou o limite de 2.500 NMP/100 mL na maioria dos pontos, com exceção do Marambaia 1 e Praia 3. Esse fato pode estar relacionado ao rio Marambaia no ponto 1 estar mais próximo às porções subterrâneas, recebendo quantidades menores de efluentes e da praia no ponto 3 apresentar maiores índices de diluição natural. Os dados obtidos para os pontos Marambaia 3 e Praia 1 indicam a influência da contaminação do rio até a desembocadura no Pontal Norte.

Ainda de acordo com a Resolução Conama n° 357/2005, os efluentes de qualquer fonte poluidora só poderão ser lançados, direta ou indiretamente, nos corpos de água, após o devido tratamento²⁵. Os efluentes hospitalares contêm uma infinidade de fármacos e metabólitos, entre eles, os antibióticos. Grenni et al.²⁶ enfatizaram que as maiores concentrações de antibióticos ocorrem geralmente em áreas com forte pressão antropogênica, como efluentes de hospitais, esgotos e efluentes domésticos tratados, além de solos manejados com adubo ou usados para criação de gado.

Cabe destacar que o município de Balneário Camboriú é atendido por quatro hospitais. Caso o tratamento dos efluentes hospitalares seja ineficaz, pode acarretar diversos danos para a saúde humana e para o meio ambiente, considerando que o aporte contínuo dessas substâncias com propriedades antimicrobianas pode favorecer a seleção de microrganismos resistentes. Essa prevalência pode modificar a microbiota local, além de colocar em risco a linha tênue entre infecções e tratamento eficaz, agravando a chamada “crise das superbactérias”, colocando fim à era dos antibióticos.

Bactérias multirresistentes já foram observadas fora do ambiente hospitalar como na água do mar e no esgoto tratado na Antártica²⁷, em rios na Nigéria¹², em diferentes pontos no Rio Godavari, na Índia²⁸, e no Brasil, em água e sedimentos²⁹ e efluentes hospitalares^{10,30}.

Cepas de *E. coli* não apresentam resistência intrínseca a nenhum antibiótico, contudo, casos de resistência adquirida vêm sendo reportados tanto em pacientes hospitalizados quando disseminados na comunidade em geral^{31,32}. Os principais mecanismos de resistência em enterobactérias são descritos em cepas produtoras de β -lactamase de espectro estendido (ESBL), β -lactamase AmpC e produtoras de carbapenemases.

As enzimas ESBL são produzidas em muitos bacilos Gram-negativos e conferem resistência às penicilinas, às cefalosporinas e ao aztreonam. São frequentemente detectadas em cepas de *E. coli* e *Klebsiella* spp.^{31,32}.

As carbapenemases foram inicialmente encontradas em *Klebsiella pneumoniae*, recebendo a classificação de KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase), no entanto esse mecanismo de resistência rapidamente se espalhou para outras enterobactérias¹¹. De acordo com de Paula et al.³³, os antibióticos carbapenêmicos, são utilizados no tratamento de infecções graves causadas por microrganismos multirresistentes, inclusive produtores da enzima ESBL.

O presente estudo avaliou 34 cepas de *E. coli*. Os resultados obtidos demonstraram maiores índices de resistência para ampicilina e sulfametoxazol + trimetoprim, destacando a necessidade de estudos focados no mecanismo de resistência e possíveis genes envolvidos. Para o carbapenem testado, imipenem, os resultados encontrados demonstram cepas em geral sensíveis, com alguns resultados intermediários e uma cepa resistente.

O índice MAR não foi avaliado em *E. coli*, devido ao baixo n amostral. Contudo, de maneira geral, são consideradas



multirresistentes bactérias que apresentam resistência a três ou mais classes de antibióticos. Através dos resultados obtidos, levanta-se um alerta quanto a seleção de microrganismos resistentes, considerando que cinco cepas apresentaram resistência a pelo menos três antibióticos.

O gênero *Staphylococcus* spp. não é utilizado como parâmetro de qualidade em efluentes e água. Contudo, ele representa um risco emergente para a saúde humana, por se tratar de patógenos oportunistas, usualmente associados a infecções adquiridas na comunidade e no ambiente hospitalar.

Inicialmente foram avaliados dois meios de cultura, buscando destacar aquele que melhor permitiria o isolamento e a recuperação de cepas de *S. aureus* e *Staphylococcus* coagulase negativa. O meio Manitol Sais é amplamente utilizado na prática clínica, visando o isolamento de *Staphylococcus* spp. em amostras biológicas, já o meio Baird Parker, normalmente é utilizado na análise de alimentos. Para este estudo, a análise estatística não apontou diferença para os meios, com exceção do ponto Marambaia 2, no qual o meio Baird Parker demonstrou melhor recuperação dos microrganismos isolados. Tanto o meio Baird Parker quanto o Manitol Sais apresentaram resultados satisfatórios para amostras semeadas por espalhamento, ou seja, as provenientes do rio Marambaia. Para as amostras da praia, a metodologia escolhida, por membrana filtrante, indicou certa limitação para o meio Baird Parker, considerando o isolamento de *S. aureus*, uma vez que a membrana impossibilitou a visualização do halo de lecitinase. Para o isolamento de *Staphylococcus* spp., sem distinção de espécie, ambos os meios de cultura foram satisfatórios.

Para a avaliação da sensibilidade a antibióticos segundo a tabela de cortes clínicos BrCAST, a sensibilidade às cefalosporinas e aos carbapenêmicos em *Staphylococcus* é inferida pela sensibilidade à cefoxitina. O teste disco-difusão é confiável para prever resistência à metilina e à oxacilina. No presente estudo, a cefoxitina foi testada em 117 cepas de *Staphylococcus* spp., apresentando resultado resistente em 37 cepas (31,6%), caracterizando-as como MRSA.

Descoberta em 1960, a metilina foi a primeira penicilina semissintética a compor o uso clínico^{34,35}. Porém, no início da década de 1970, rapidamente surgiram cepas de *S. aureus* com resistência à metilina, identificadas pela sigla MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à metilina), apresentando também resistência aos demais β -lactâmicos³⁶.

Cepas MRSA já foram descritas em praias da Flórida, sendo associadas a infecções na pele, no Havaí e em efluentes antes do tratamento^{37,38,39}.

O principal mecanismo de resistência à oxacilina/metilina está relacionado à alteração do sítio de ação dos β -lactâmicos. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) determina que com frequência a resistência à oxacilina é acompanhada por resistência a outras classes de antimicrobianos, como clindamicina, eritromicina e tetraciclina, diminuindo as opções terapêuticas¹¹.

A eritromicina e a clindamicina são amplamente utilizadas no combate a infecções por bactérias Gram-positivas. Contudo, mecanismos de resistência já foram descritos. De acordo com a Anvisa, a resistência aos macrolídeos, lincosaminas e estreptogramina B (MLS B) pode ser constitutiva ou induzível, dependendo da exposição. Na expressão constitutiva, a resistência à eritromicina e à clindamicina é detectada no antibiograma. A forma induzível pode apresentar resistência à eritromicina e falsa sensibilidade à clindamicina. A detecção da resistência induzível pode ser feita pelo D-teste ou disco-aproximação, no qual o disco de eritromicina é colocado próximo ao disco de clindamicina na placa de antibiograma, segundo BrCAST, a distância precisa ser de 12-20 mm borda-borda. Com a difusão da eritromicina através do ágar, a resistência à clindamicina é induzida, resultando em um achatamento da zona de inibição, adjacente ao disco de eritromicina, com a forma da letra D¹¹.

Neste estudo, foram encontradas três cepas com resistência induzível, verificada através do D-teste positivo. De forma geral, 73 cepas apresentaram resistência à clindamicina e 75 cepas foram resistentes à eritromicina. Pelo método de disco difusão, a eritromicina pode ser utilizada para determinar a sensibilidade à azitromicina e à claritromicina, uma vez que são pertencentes a mesma classe de medicamentos (macrolídeos). Vale a pena ressaltar que as coletas foram realizadas entre outubro de 2020 e outubro de 2021, período em que a pandemia por SARS-COV-2 levou grande parte da população à automedicação, incluindo a utilização indevida de azitromicina, indicada muitas vezes em kits sem prescrição médica e sem orientação correta para uso. A disseminação de resistência a antimicrobianos está intrinsecamente ligada ao aumento no consumo de antibióticos, sua utilização irracional e posterior descarte no meio ambiente.

Devido à disseminação de cepas MRSA/ORSA e MLS B, a vancomicina, conhecida desde 1956, passou a ser utilizada como tratamento alternativo³⁴. A vancomicina é um glicopeptídeo cujo espectro de ação abrange os cocos e bacilos Gram-positivos; seu uso é restrito ao ambiente hospitalar, tendo como principal via de administração a via parenteral¹¹.

Contudo, em 1997, a primeira cepa de *S. aureus* resistente à vancomicina foi descrita no Japão³⁴. De acordo com Anvisa, a resistência aos glicopeptídeos pode ser expressa por dois diferentes fenótipos: *S. aureus* com resistência intermediária à vancomicina (VISA) e *S. aureus* resistente à vancomicina (VRSA)¹¹. De maneira geral, este evento é raro, porém medidas para detecção desta resistência devem ser implantadas pelos laboratórios de microbiologia.

Para este estudo, as 117 cepas de *Staphylococcus* spp. foram testadas contra a vancomicina de maneira preliminar, tendo em vista que o método de disco difusão não é o mais indicado, pois de acordo com BrCAST, não distingue isolados selvagens daqueles com resistência não mediada pelo gene *vanA*. Sendo necessária a implementação da metodologia de CIM para a obtenção de resultados clínicos mais confiáveis²¹.



Portanto, a triagem das cepas resistentes à vancomicina nesse estudo utilizou o valor de referência para o método de disco difusão estabelecido pelo CLSI para o ano de 2009, encontrando 54 cepas resistentes à vancomicina. O resultado encontrado não condiz com o estabelecido pelo BrCAST/EUCAST, CLSI e Anvisa que determinam que isolados não sensíveis são raros^{11,21,22,23}.

A avaliação do índice MAR em *Staphylococcus* spp. permitiu a verificação do risco de multirresistência para as cepas isoladas. Não houve diferenças considerando os fatores momento e local de coleta. Em todos os pontos amostrais foi possível detectar índices superiores a 0,20 com poucos momentos apresentando baixo risco de multirresistência. Se faz necessária a avaliação dos mecanismos de resistência visando compreender a multirresistência presente em cepas no meio ambiente, uma vez que as cepas MRSA e MLS B já foram descritas em efluentes tratados e não tratados, sejam eles domésticos ou hospitalares, além de diversos ambientes aquáticos, nos quais levanta-se o alerta para o uso recreativo ou abastecimento para consumo humano e de animais, já que podem estar associados a diversas infecções. Destacam-se também as cepas VISA ou VRSA, pois, apesar da resistência descrita na literatura ser incomum para vancomicina, a seleção de cepas resistentes, mesmo que poucas até o momento, é extremamente preocupante, por se tratar de uma das últimas opções terapêuticas disponíveis para cepas multirresistentes.

CONCLUSÕES

As chamadas superbactérias, microrganismos que apresentam multirresistência a antibióticos, foram descritas, em um primeiro

momento, estritamente em ambientes hospitalares. Contudo, logo atingiram a comunidade, sendo amplamente encontradas no meio ambiente. Infecções por bactérias multirresistentes comprometem o tratamento farmacológico, pois diminuem as opções terapêuticas e aumentam o tempo de internação, o que garante que essas cepas circulem por mais tempo em ambientes de saúde, prejudicando pacientes imunocomprometidos e aumentando as infecções nosocomiais.

Este estudo analisou cepas de *E. coli* e *Staphylococcus* spp. quanto à presença na água do rio Marambaia e na praia adjacente; além de avaliar a resistência a antimicrobianos para as cepas isoladas. A presença de *E. coli* nesses ambientes já é preocupante por si só, por se tratar de um coliforme termotolerante, indicativo de contaminação fecal recente. Apesar de os resultados encontrados indicarem poucas cepas multirresistentes, a presença de apenas um mecanismo de resistência já serve para levantar alerta, pois os genes associados podem estar presentes nas amostras de água ou nos efluentes lançados pela comunidade, podendo ser transmitidos para outros microrganismos, modificando a microbiota local e colocando em risco a saúde da população.

A avaliação dos dados do índice MAR para *Staphylococcus* spp. é alarmante. Verificou-se riscos altos de multirresistência para a maioria dos locais amostrados e em qualquer momento das coletas. Além disso, poucas cepas foram sensíveis para todos os antibióticos testados. Os mecanismos de resistência que ocorrem em Gram-positivos, apesar de divergirem daqueles ocorridos em Gram-negativos, são igualmente preocupantes, seja do ponto de vista microbiológico ou em questões de saúde pública.

REFERÊNCIAS

1. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento - SNIS. Diagnóstico dos serviços de água e esgoto. Brasília: Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento; 2018.
2. Archela E, Carraro A, Fernandes F, Barros ONF, Archela RS. Considerações sobre a geração de efluentes líquidos em centros urbanos. *Geografia*. 2003;12(1):517-26. <https://doi.org/10.5433/2447-1747.2003v12n1p517>
3. Guimarães DO, Momesso LS, Pupo MT. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. *Química Nova*. 2010;33(3):667-79.
4. Brito MAD, Cordeiro BC. Necessidade de novos antibióticos. *J Bras Patol Med Labor*. 2012;48(4):247-49. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442012000400002>
5. Costa ALP, Silva Junior ACS. Resistência bacteriana aos antibióticos e saúde pública: uma breve revisão de literatura. *Est Cientif Unifap*. 2017;7(2):45-57. <https://doi.org/10.18468/estcien.2017v7n2.p45-57>
6. Acúrcio FA. Medicamentos: políticas, assistência farmacêutica, farmacoepidemiologia e farmacoconomia. Belo Horizonte: Coopmed; 2013.
7. Carvalho EV, Ferreira E, Mucini L, Santos C. Aspectos legais e toxicológicos do descarte de medicamentos. *Rev Bras Toxicol*. 2009;22(1-2):1-8.
8. Zapparoli ID, Camara MD, Beck C. Medidas mitigadoras para a indústria de fármacos comarca de Londrina-PR, Brasil: impacto ambiental do despejo de resíduos em corpos hídricos. In: *Anais do 3rd International Workshop: Advances in Cleaner Production*. São Paulo: Universidade Paulista; 2011. p. 18-20.
9. Baquero F, Martínez JL, Cantón R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Curr Opin Biotechnol*. 2008;19(3):260-5. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.05.006>
10. Canan G. Avaliação do perfil e da resistência bacteriana nos efluentes de um hospital em Itajaí/Santa Catarina [dissertação]. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí; 2008.
11. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde: módulo 10: detecção dos principais mecanismos de resistência bacteriana aos antimicrobianos pelo laboratório de microbiologia clínica. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2020.



12. Titilawo Y, Sibanda T, Obi L, Okoh A. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of faecal contamination of water. *Environ Sci Pollut Res*. 2015;22(14):10969-80. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3887-3>
13. Banerjee SK, Farber JM. Trend and pattern of antimicrobial resistance in molluscan vibrio species sourced to Canadian estuaries. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(10):1-9. <https://doi.org/10.1128/AAC.00799-18>
14. Andrade GF, Barros DB. Bioindicadores microbiológicos para indicação de poluição fecal. *Rev Eletr Acervo Saúde*. 2019;(34):1-7. <https://doi.org/10.25248/reas.e1099.2019>
15. Schmidt V, Cardoso MRDI. Sobrevivência e perfil de resistência a antimicrobianos de *Salmonella* sp. isoladas em um sistema de tratamento de dejetos de suínos. *Cienc Rural*. 2003;33(5):881-8. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782003000500014>
16. Kümmerer K. Significance of antibiotics in the environment. *J Antimicrob Chem*. 2003;52(1):5-7. <https://doi.org/10.1093/jac/dkg293>
17. Turner L, Zhang R, Darnton NC, Berg HC. Visualization of flagella during bacterial swarming. *J Bacter*. 2010;192(13):3259-67. <https://doi.org/10.1128/JB.00083-10>
18. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Descrição dos meios de cultura empregados nos exames microbiológicos: módulo 4. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2004.
19. Laborclin. LB 172126: Manitol Salt Ágar. 4a ed. Pinhais: Laborclin; 2018a.
20. Laborclin. LB 172075: Baird Parker Ágar. 4a ed. Pinhais: Laborclin; 2018b.
21. Brazilian Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing - BrCAST. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. São Paulo: Brazilian Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing; 2021.
22. Clinical and Laboratory Standard Institute - CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 20th informational supplement: CLSI document M100-S19. Wayne: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2009.
23. Clinical and Laboratory Standard Institute - CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: CLSI approved standard M100-S15. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
24. Krumperman PH. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Appl Environ Microbiol*. 1983;46(1):165-70. <https://doi.org/10.1128/aem.46.1.165-170.1983>
25. Ministério do Meio Ambiente (BR). Resolução N° 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial União. 18 mar 2005.
26. Grenni P, Ancona V, Caracciolo AB. Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: a review. *Microchem J*. 2018;136:25-39. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.02.006>
27. Hernández F, Calisto-Ulloa N, Gómez-Fuentes C, Gómez M, Ferrer J, González-Rocha G et al. Occurrence of antibiotics and bacterial resistance in wastewater and sea water from the Antarctic. *J Hazard Mat*. 2019;363:447-56. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.027>
28. Chitanand MP, Kadam TA, Gyananath G, Totewad ND, Balhal DK. Multiple antibiotic resistance indexing of coliforms to identify high risk contamination sites in aquatic environment. *Indian J Microbiol*. 2010;50(2):216-20. <https://doi.org/10.1007/s12088-010-0042-9>
29. Souza TDD. Detecção de *Staphylococcus* spp multirresistentes em água e sedimentos da bacia hidrográfica do rio Itanhaém [dissertação]. São Vicente: Universidade Estadual Paulista; 2018.
30. Chagas TPG. Detecção de bactérias multirresistentes aos antimicrobianos em esgoto hospitalar no Rio de Janeiro [dissertação]. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz; 2011.
31. Esmerino LA, Gonçalves LG, Schelesky ME. Perfil de sensibilidade antimicrobiana de cepas *Escherichia coli* isoladas de infecções urinárias comunitárias. *Publ UEPG Ci Biol Saúde*. 2003;9(1):31-9. <https://doi.org/10.5212/publicatio%20uepg.v9i1.357>
32. Diniz AMM, Santos RMCS. Frequency of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp producing ESBL at University Hospital, in Manaus. *Rev Epid Contr Infec*. 2019;9(2).
33. Paula VG, Quintanilha LV, Coutinho FA, Rocha HF, Santos FL. Enterobactérias produtoras de carbapenemase: reflexão sobre o surgimento de superbactérias em UTI's. *Univers Cienc Saúde*. 2016;14(2):1-11. <https://doi.org/10.5102/UCS.V14I2.3847>
34. Santos ALD, Santos DO, Freitas CCD, Ferreira BLA, Afonso IF, Rodrigues CR et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *J Bras Patol Med Labor*. 2007;43(6):413-23. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442007000600005>
35. Machado ABMP. Resistência à metilina mediada pelo gene *mecA* nos *Staphylococcus* spp coagulase negativa [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2007.
36. Ratti RP, Sousa CP. *Staphylococcus aureus* metilina resistente (MRSA) e infecções nosocomiais. *Rev Cienc Farm Básica Apl*. 2009;30(2):9-16.



37. Plano LR, Shibata T, Garza AC, Kish J, Fleisher JM, Sinigalliano CD et al. Human-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a subtropical recreational marine beach. *Microb Ecol.* 2013;65(4):1039-51. <https://doi.org/10.1007/s00248-013-0216-1>.
38. Tice AD, Pombo D, Hui J, Kurano M, Bankowski MJ, Seifried SE. Quantification of *Staphylococcus aureus* in seawater using CHROMagar SA. *Hawaii Med J.* 2010;69(1):8-12.
39. Börjesson S, Matussek A, Melin S, Löfgren S, Lindgren PE. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in municipal wastewater: an uncharted threat? *J Appl Microbiol.* 2009;108(4):1244-51. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04515.x>

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Laboratório de Microbiologia Aplicada da Universidade do Vale do Itajaí (Univali), à Empresa Municipal de Água e Saneamento (Emasa) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

Contribuição dos Autores

Lima ACD, Resgalla Junior C, da Silva MAC - Concepção, planejamento (desenho do estudo), aquisição, análise, interpretação dos dados e redação do trabalho. Todos os autores aprovaram a versão final do trabalho.

Conflito de Interesse

Os autores informam não haver qualquer potencial conflito de interesse com pares e instituições, políticos ou financeiros deste estudo.



Licença CC BY. Com essa licença os artigos são de acesso aberto que permite o uso irrestrito, a distribuição e reprodução em qualquer meio desde que o artigo original seja devidamente citado.