



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS**

FERNANDA ALVES PONTUAL

**RASTREAMENTO DE FONTES POLUIDORAS DE UM CORPO HÍDRICO
USANDO PERFIS DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM BACTÉRIAS
ENTÉRICAS (CEARÁ, BRASIL)**

FORTALEZA

2016

FERNANDA ALVES PONTUAL

**RASTREAMENTO DE FONTES POLUIDORAS DE UM CORPO HÍDRICO
USANDO PERFIS DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM BACTÉRIAS
ENTÉRICAS (CEARÁ, BRASIL)**

Monografia apresentada ao Curso de graduação em Ciências Ambientais do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Ambientais.

Orientadora: Prof. Dr.^a Oscarina Viana de Sousa.

Coorientadora: Dr.^a Fátima Cristiane Teles de Carvalho

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Rui Simões de Menezes

P86r Pontual, Fernanda Alves.

Rastreamento de fontes poluidoras de um corpo hídrico usando perfis de resistência a antimicrobianos em bactérias entéricas (Ceará, Brasil) / Fernanda Alves Pontual – 2016.
46 p. : il. color., enc. ; 30 cm.

Monografia (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Curso Bacharelado em Ciências Ambientais, 2016.

Orientação: Prof^ª. Dr^ª. Oscarina Viana de Souza.

Co-Orientação: Dr^ª. Fátima Cristiane Teles de Carvalho.

1. Bactéria - Contaminação. 2. *Enterococcus*. I. Título.

CDD 579.3

FERNANDA ALVES PONTUAL

RASTREAMENTO DE FONTES POLUIDORAS DE UM CORPO HÍDRICO USANDO
PERFIS DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM BACTÉRIAS ENTÉRICAS
(CEARÁ, BRASIL)

Monografia apresentada ao Curso de graduação em Ciências Ambientais do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Ambientais.

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Oscarina Viana De Souza (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Msc. Rafael dos Santos Rocha
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Luiz Fernando e Maura.

AGRADECIMENTOS

A Deus, sempre em primeiro lugar.

Ao meu pai, Luiz, que é a minha fonte número um de inspiração. Obrigada por ser o melhor pai do mundo, e que mesmo com a distância, me motiva para seguir os meus sonhos, me dá forças para seguir meus sonhos e está sempre comigo em todos momentos difíceis da minha vida. Ah, e aguentar meus choros, meus nervosismos e minhas crises de insegurança. Eu sou sua fã número um e meu amor por você é imensurável. Não só esse trabalho, mas como todas as minhas conquistas ao longo da minha vida, vão ser sempre dedicadas a você. Que você nunca tenha dúvidas que eu sou a filha mais orgulhosa e sortuda do mundo por te ter na minha criação e na minha vida. Obrigada mais uma vez, por ser meu melhor amigo e pelos conselhos. Te amo!

À minha avó Oneide, que está comigo desde pequena e que sempre tem um ombro amigo disponível para mim. Pelos almoços vegetarianos, sucos e conselhos espirituais que vou levar comigo sempre. E por perdoar minhas ausências e minhas ligações não atendidas. Não dá para explicar nesse plano terrestre o quanto você me inspira a ser sempre uma pessoa melhor.

À minha mãe Maura, que me inspira a nunca desistir independente de todas as dificuldades da vida. Você é um exemplo para mim. Eu sou muito grata por ter uma mãe-irmã todos os dias. Eu sempre vou te amar.

Aos meus familiares, que sempre acreditaram em mim.

À minha mãe de laboratório. Cris, nada disso seria possível sem você. Obrigada pelos puxões de orelha, pelos conselhos e por ser a minha maior motivadora. Eu nunca vou ter palavras para te agradecer o suficiente. Muito obrigada!

À Oscarina. Obrigada por ter me acolhido no seu laboratório e por ter me dado essa oportunidade. É muito importante, por ter acreditado em mim.

Aos amigos e companheiros de laboratório. Sylvanio, Adson, Lorrana, Gleire, Marina, Rafael, Thiara, Jade, Rebeca, Daniel, Rosa, Regine, Jéssica, Hemilly. Obrigada pelos momentos e por me ajudarem a tirar minhas dúvidas sempre que eu precisei.

Aos meus amigos, que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização dessa pesquisa. Um agradecimento especial: para Renan Frias (meu irmão e melhor amigo), Felipe Carvalhedo (pelas conversas, camarõezinhos e açaís), Jevoan Ribeiro (pelas palavras de apoio, motivação e carinho quando eu mais precisava), Thiago Maia (pela compreensão e por todas as risadas), André Froes (pelo exemplo de determinação), Olis (pra sempre minha black sister).

To my Budapest sisters: Hannah, Helena and Camile. Thanks for changing my life. I love you forever, my babies.

To Ben, for all the support, encouragement words and for all the carinho that you gave me. Thanks for showing me I was capable. Obrigada.

"(...) Guardar uma coisa é vigiá-la, isto é, fazer vigília por ela, isto é, velar por ela, isto é, estar acordado por ela, isto é, estar por ela ou ser por ela.

Por isso se escreve, por isso se diz, por isso se publica, por isso se declara e declama um poema:

Para guardá-lo:

Para que ele, por sua vez, guarde o que guarda:

Guarde o que quer que guarda um poema:."

Antônio Cicero, 1945

RESUMO

Atualmente existe uma grande preocupação acerca dos crescentes níveis de microrganismos resistentes a antimicrobianos. Em ambientes aquáticos a poluição fecal, práticas agrícolas e o uso dessas drogas de forma não controlada contribuem para o aumento dos níveis de resistência microbiana. Desta forma, esta pesquisa teve como objetivo monitorar a resistência em bactérias do grupo *Enterococcus* a antimicrobianos de uso na clínica humana e veterinária como forma de rastrear as potenciais fontes contribuidoras e permitir uma gestão mais eficiente dos recursos, em oito pontos em amostras de água e de sedimento na lagoa do Catu em Fortaleza -CE. Para atingir esse objetivo, foi realizado o antibiograma de 35 cepas de *Enterococcus* para os antimicrobianos: ampicilina, cloranfenicol, ciprofloxacina, sulfametoxazol + trimetoprima, cefalotina, eritromicina, novobiocina, tetraciclina, nitrofurantoína, gentamicina, ácido nalidíxico e oxacilina. A resistência antimicrobiana foi observada em 94,2% das cepas. O perfil predominante de resistência foi para oxacilina, ácido nalidíxico e tetraciclina, respectivamente, com 95%, 90% e 85%. Para perfis intermediários, os resultados mais predominantes foram de Eritromicina e Cefalotina com 42% e 38%. Foi observado que os isolados obtidos nos pontos C3 e C13 situados próximo as dunas apresentaram um menor perfil de resistência comparado aos isolados oriundos dos pontos mais próximos as áreas urbanas que mostram perfis de múltipla resistência. Os resultados desse estudo sugerem que a resistência desses microrganismos está relacionada a práticas agro agrícolas e contaminação e descarte de dejetos humanos.

Palavras-chave: *Enterococcus*, bactérias resistentes, contaminação.

ABSTRACT

Currently there is great concern about the increasing levels of antimicrobial resistant microorganisms. In aquatic environments the discharge of faecal pollution, agricultural practices and the use of uncontrolled drugs, contribute to the increase in resistance levels. This study aimed to monitor resistance in bacteria Enterococci group to the use of antimicrobials in human clinical and veterinary as a method to track potential contributors sources and enable more efficient management of resources, on eight samples of water and sediment in lagoon Catu in Fortaleza -CE. To achieve this objective, was performed an antibiogram of 35 strains of enterococci to antibiotics: ampicillin, chloramphenicol, ciprofloxacin, sulfamethoxazole + trimethoprim, cephalothin, erythromycin, Novobiocin, Tetracycline, nitrofurantoin, gentamicin, oxacillin and Nalidixic acid. Antimicrobial resistance has been observed in 94.2% of the strains. The predominant profile was resistance to Oxacillin, Acid Nalidixic and Tetracycline, respectively with 95%, 90% and 85%. For intermediate profiles, the results were more predominant with Eritromicin and Cephalothin with 42% and 38%. Has been observed that the isolate obtained in the points C3 to C13 located near the dunes had a lower resistance profile compared to the isolates from the points closer urban areas that show multiple resistance profiles. The results of this study indicate that the resistance of these microorganisms are related to agricultural practices and agricultural contamination and disposal of human waste.

Keywords: *Enterococcus*, resistant bacteria, contamination.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Distribuição dos pontos de coleta ao longo da lagoa Catu	26
Figura 2	Fluxograma da técnica do antibiograma realizado com os isolados das amostras de água e sedimento da lagoa do Catu	28
Figura 3	Distribuição das características de uso e ocupação ao longo da lagoa do Catu	40

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Percentual de suscetibilidade a diferentes antimicrobianos de 14 estirpes de <i>Enterococcus</i> isoladas de amostras ambientais de água	30
Gráfico 2	Percentual de suscetibilidade a diferentes antimicrobianos de 21 estirpes de <i>Enterococcus</i> isoladas de amostras de sedimento	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Codificação das amostras e culturas de <i>Enterococcus</i> spp. isoladas de água e sedimento da Lagoa do Catu	25
Tabela 2	Caracterização dos agentes antimicrobianos e padrões para a análise da susceptibilidade dos isolados bacterianos pelo teste de difusão em disco.....	27
Tabela 3	Parâmetros físico-químicos (salinidade e pH) das amostras de água da Lagoa do Catu	29
Tabela 4	Padrões de comportamento das estirpes de <i>Enterococcus</i> spp. isoladas de amostras de água da lagoa do Catu frente a antimicrobianos	34
Tabela 5	Perfil de resistência a antimicrobianos entre as estirpes de <i>Enterococcus</i> spp. isoladas de sedimento da lagoa do Catu	35
Tabela 6	Perfis de resistência aos antimicrobianos considerando o uso das substâncias.	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMP	Ampicilina
ANA	Agência Nacional de Águas
APP	Áreas de Proteção Permanente
CAGECE	Companhia de Água e Esgoto do Ceará
CE	Ceará
CFL	Cefalotina
CIP	Ciprofloxacina
CLO	Cloranfenicol
CLSI	Clinical and Laboratory Standard Institute
CNPQ	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ECDPC	European Center for Disease Prevention and Control
ERI	Eritromicina
FUNCAP	Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico
GEN	Gentamicina
I	Intermediário
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LAB	Bactérias do Ácido Lático
LABOMAR	Instituto de Ciências do Mar
LAMAP	Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado
MST	Rastreamento de Origem Microbiana
NAL	Ácido Nalidíxico
NB	Novobiocina
NIT	Nitrofurantoína
OX	Oxacilina
pH	Potencial Hidrogeniônico
PNCRC	Plano Nacional de Controle de Resíduos de Contaminantes
PRONEM	Programa de Apoio a Núcleos Emergentes
R	Resistente
S	Sensível

SCIH	Serviço de Controle de Infecção Hospitalar.
SxT	Sulfametoxazol + Trimetoprima
TET	Tetraciclina
UFC	Universidade Federal Do Ceará
VNC	Viáveis mas Não Cultiváveis
WHO	World Health Organization

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
[]	Concentração
µg	Micrograma
L	Litro
Min	Minuto
mL	Mililitro
°C	Grau Celsius
UFC/mL	Unidade formadora de colônia por mililitro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1	Bactérias entéricas	21
2.2	Rastreamento de fontes de contaminação.....	22
2.3	Antimicrobianos	22
2.4	Resistência microbiana aos antimicrobianos	23
2.5	Perfis de multirresistência.....	24
3	MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1	Origem das cepas de <i>Enterococcus</i>	25
3.2	Purificação das culturas bacterianas.....	26
3.3	Teste de antibiograma através do método de difusão em discos (Kirby - Bauer, 1966)	27
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	Antibiograma de cepas do gênero <i>Enterococcus</i> isolados da lagoa do Catu.....	30
5	CONCLUSÕES.....	41
6	REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

O Estado do Ceará possui a maioria do seu território (cerca de 86%) inserido na região do semiárido brasileiro (BRASIL, 2015). Para essa delimitação são considerados critérios técnicos como: a) precipitação pluviométrica média anual inferior a 800mm; b) Índice de aridez de até 0,5 e c) risco de seca maior que 60%, tomando-se por base o período entre 1970 e 1990 (CEARÁ, 2007). Essas características colocam o estado em uma situação de vulnerabilidade hídrica onde os recursos hídricos têm uma importância fundamental na manutenção das condições socioambientais na região e, portanto, precisam ser gerenciados da forma mais eficiente.

As principais bacias hidrográficas do Ceará são: Jaguaribe, Banabuiú; Acaraú e Poti (BRASIL, 2014). A bacia do rio Catu é composta pelo rio e a lagoa com o mesmo nome. Essa bacia corresponde a 33% do território do município de Aquiraz e tem suas nascentes localizadas em áreas de tabuleiros costeiros (GONDIM *et al.*, 2009). A lagoa do Catu teve sua origem relacionada aos processos geológicos e geomorfológicos que são diretamente vinculados a fatores naturais como o barramento do curso do rio Catu pelo campo de dunas e diminuição do fluxo fluvial (GOMES, 2003; MORAIS, *et al.*, 2003). Segundo Companhia de Água e Esgoto do Ceará - CAGECE, essa lagoa corresponde a 30% do abastecimento da sede do município (GONDIM *et al.*, 2009).

Lagoas são conhecidas pela sua relevância na manutenção e preservação da biodiversidade regional, tendo vários usos, um deles como criadouros naturais de espécies com importância comerciais ou de subsistência, sendo de importância para a regulação de ambientes aquáticos e preservação das espécies migratórias (AGOSTINHO *et al.*, 1993), espécies que dependem da conversação e integridade dos mesmos para sobreviverem.

A situação da lagoa do Catu se torna mais preocupante porque, visto que o Ceará possui um retorno turístico alto, quanto mais empreendimentos e ações antrópicas são realizadas ao entorno da lagoa, maior é o interesse de outras empresas na região (GOMES, *et al.*, 2008).

Assim agravando cada vez mais o problema impulsionando o valor econômico dessas áreas, a especulação imobiliária, empreendimentos novos, muitas vezes sem a atenção básica do estado para prover soluções para os problemas ambientais que interferem no equilíbrio dos ecossistemas aquático, fluviais e terrestres (GOMES, *et al.*, 2008).

Por meio do decreto Lei nº 94.076, de 05/03/87 a Agência Nacional de Águas define micro bacia como “uma área drenada por um curso d’água e seus afluentes, a montante

de uma determinada seção transversal, para a qual convergem as águas que drenam a área considerada” (BRASIL, 1987). A micro bacia hidrográfica do rio Catu é Hidrográfica do Recôncavo Norte e vem sendo degradada pela ação antrópica crescente nos últimos anos (GOMES, *et al.*, 2008).

Devido a crescente especulação e interesses imobiliários na região constata-se que a apropriação irregular das Áreas de Proteção Permanente (APP) vem acarretando uma série de consequências ambientais negativas para a lagoa. Na área de enfoque de estudo, situa-se uma intensa ocupação com pousadas, casas de veraneio, hotéis e um grande condomínio. Assim, aumentando o crescimento de restaurantes, pesca artesanal e desportivas, prática de lazer desportivas como *jet ski*, lanchas, barcos e outros (GOMES, *et al.*, 2008). De acordo com a Resolução CONAMA nº303/2002, é necessário que a APP seja de 100 metros ao entorno da lagoa, porém. No entanto, Cavalcante *et al.* (2012) realizaram estudos geográficos de no local, observando o descumprimento dessa determinada resolução.

Essas atividades antrópicas e a sua consequente urbanização, através da utilização de áreas de preservação permanente, desmatamento da mata ciliar e contaminação por efluentes domiciliares tem proporcionado transformações que alteram a qualidade da água e a interação entre os ecossistemas existentes (GOMES, *et al.*, 2008). Oliveira e Meireles (2010) defendem essa problemática após estudarem o chamado “litoralização do município de Aquiraz”, no que sugere os fenômenos de transformação intensiva da região litorânea, com destaque a zona costeira e sua repercussão na dinâmica natural.

O uso e ocupação desordenados fazem com que essa lagoa sofra uma série de impactos antropogênicos que colocam em risco o seu uso prioritário como reservatório para o abastecimento humano. Contribuições de efluentes de diversas fontes ao longo do perímetro da lagoa são fontes de contaminantes que podem trazer risco à saúde da população que depende desse corpo d’água. Entre esses contaminantes estão bactérias de origem entérica. Uma abordagem interessante para a gestão mais eficiente dos recursos hídricos é o rastreamento das fontes poluidoras (GOMES, *et al.*, 2008).

O rastreamento de resistência antimicrobiana procura identificar, quantificar e localizar as fontes de contaminação na região e em diferentes pontos da lagoa baseado no isolamento dos *Enterococcus* nas fontes contaminadas de amostra de água e de sedimento (STOECKEL; HARWOOD, 2007). De acordo com a identificação do antimicrobiano encontrado, clínica humana ou fator de crescimento animal, é possível traçar perfis de uso e ocupação da área.

Esta pesquisa teve como objetivo monitorar a resistência em bactérias do grupo

Enterococcus a antimicrobianos de uso na clínica humana e veterinária como forma de rastrear as potenciais fontes contribuidoras e permitir uma gestão mais eficiente dos recursos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Bactérias entéricas

Bactérias entéricas estão relacionadas com casos de infecção/intoxicação alimentar e são consideradas como um dos principais indicadores sanitários que são utilizados como critérios de qualidade alimentar para órgãos nacionais e comunidade europeia. (BRASIL, 2001).

A contaminação de organismos aquáticos e de ambiente de cultivo estão ligados a qualidade bacteriológica do ambiente, estando diretamente ligadas à poluição de águas ou de ambientes aquáticos, onde naturalmente esses microrganismos são mais adaptados a sobreviver durante maiores períodos. (HUSS, 1997).

O gênero *Enterococcus* é formado por bactérias gram-positivas, catalase negativa e bactérias anaeróbias facultativas, podendo ocorrer como cocos individuais ou em cadeias. Elas são bactérias ácido-láticas (LAB) que produzem bacteriocinas (FISHER, *et al.*, 2009). As espécies mais comuns são: *Enterococcus faecalis* (mais comum nos casos de infecção hospitalar no Brasil, com 90% dos casos) e *Enterococcus faecium* (com 5% a 10% dos casos de infecção hospitalar). Todavia, em raros casos existem infecções pelas espécies *Enterococcus casseliflavus* ou *Enterococcus gallinarum* (INGLATERRA, 2008; BRASIL, 2007). Ao longo dos anos, *Enterococcus* têm demonstrado o potencial para abrigar e transferir genes de resistência e, como tal, tornaram-se um importante patógeno clínico (RICE e HOLLENBECK, 2012).

Eles fazem parte da microbiota intestinal de humanos e animais, possuindo mais de 17 espécies, porém poucas são observadas como patógenos para humanos. Muitas das espécies patogênicas, hoje, possuem resistência a praticamente qualquer agente antimicrobiano de uso clínico, sendo necessário muitas vezes que os pacientes com infecção precisem complementar o tratamento com mais de dois antimicrobianos (KRISTICH, RICE e ARIAS, 2014; FRASER *et al.*, 2015; BRASIL, 2007).

Entre as principais infecções causadas por essa bactéria, estão: infecção urinária, infecção da parede abdominal, endocardite e meningite. A capacidade dessas bactérias de sobreviver em ambientes adversos permite a facilidade de contaminação por diversas formas como fontes de alimentos, ambiental e hospitalar (FISHER *et al.*, 2009). Nos hospitais brasileiros, epidemias de infecções hospitalares já ocorreram diversas vezes devido a *Enterococcus faecalis* (BRASIL, 2007).

2.2 Rastreamento de fontes de contaminação

De acordo com a Norma ISO 9000, rastreabilidade pode ser definida como a capacidade, por meio de uma identificação registrada, de encontrar a história, o uso e a localização de um determinado produto. Significa descobrir algo usando provas, rastreando drogas, antimicrobianos, vacinas, herbicidas e organismos geneticamente modificados (FRANCISCO, 2004).

De acordo com Stoeckel e Harwood (2007) o rastreamento de origem microbiana é composto por um conjunto de metodologias que procuram identificar, quantificar e localizar as fontes dominantes de contaminação em águas de recursos naturais. Métodos de MST são baseados no isolamento de bactérias de fontes contaminadas e amostras de água, e possuem dois métodos principais relacionados a biblioteca genômica: Biblioteca-dependente e Biblioteca-Independente; elas funcionam catalogando vários genes relacionados a resistência e a armazenam nessas bibliotecas virtuais.

Relativo à biblioteca genômica, eles registram vários genes que são relacionados à resistência e os catalogam (as sequências genéticas) nessas bibliotecas virtuais (genômicas). A partir dessa informação, sequencia todo o DNA de uma bactéria pode ser feita uma busca nessas "bibliotecas" se parte do DNA é referente a algum desses genes de resistência catalogados. Bibliotecas dependentes, são por meio de impressões digitais bioquímica de *Escherichia coli* e *Enterococcus*. Bibliotecas independentes, por detecção de biomarcadores específicos em humanos (STOECKEL; HARWOOD, 2007).

2.3 Antimicrobianos

Antibióticos são derivados de substâncias naturais ou sintéticas que inibem ou destroem determinados microrganismos. Os primeiros antimicrobianos foram produzidos de substâncias que impediam o desenvolvimento de outros microrganismos, que logo, seu uso foi associado ao tratamento de doenças infecciosas, sendo necessário que sua concentração seja suficiente (BAPTISTA, 2013). Cada antimicrobiano manifesta duas aplicabilidades diferentes, a inibição (ação bacteriostática) do crescimento da bactéria infecciosa, mantendo-a na fase estacionária; e a destruição da população bacteriana (bactericida), atuando com fatores essenciais para a célula (BAPTISTA, 2013).

Segundo Levy (1994), dois fatores são importantes para a ocorrência da resistência microbiana: o antibiótico, que se comporta como fator seletivo ajudando a reproduzir os

outros organismos; E o segundo fator: o gene da resistência correspondente, que representa a característica genética herdada.

2.4 Resistência microbiana aos antimicrobianos

Muitas das doenças e infecções causadas por bactérias, parasitas, vírus e fungos só foram capazes de serem tratadas com desenvolvimento de antibióticos, sendo considerados um dos maiores avanços da medicina e ciência, salvando milhões de vida (NPS MEDICINEWISE, 2014).

De acordo com Tavares (2000), a resistência antimicrobiana é um fenômeno natural que ocorre a mutação dos genes da bactéria após eles entrarem em contato com o antibiótico, e é inibido com a ação da droga, fazendo com que a bactéria se torne não sensível a esse antibiótico. Após isso acontecer, a droga que antes teria matado a bactéria ou impedido ela de se multiplicar, deixa de exercer a sua função mesmo com a presença do antibiótico.

O aumento do número de microrganismos resistentes a antibióticos ocorre por uma série de fatores, como o uso indiscriminado, grandes dosagens, uso incorreto para determinados tratamentos, descarte de resíduos no ambiente, práticas de controle da infecção ineficientes (como interromper o tratamento antes do tempo determinado), condições sanitárias inadequadas e a manipulação irregular de alimentos. O aumento na frequência da resistência de cepas bacterianas para algumas drogas tem consequência direta sobre a saúde pública tornando difícil o tratamento de doenças infecciosas (WHO, 2015; MACHADO, 2015)

Os afluentes aquáticos são um dos fundamentais receptores de resíduos antimicrobianos, é evidente que a poluição ambiental vem tornando a questão da propagação de bactérias resistentes um grande problema, principalmente pela chance de contaminação de peixes que são destinados ao consumo humano (MACHADO, 2015; VASCONCELOS *et al.*, 2010).

A resistência antimicrobiana começa a ser uma ameaça global quando novas bactérias resistentes aparecem e se espalham, levando em consideração que a capacidade de tratar doenças infecciosas comuns com bactérias resistentes ainda é muito limitada, pode-se levar a morte ou invalidez de indivíduos, já que o tratamento comum não vai ser eficaz e podem se transformar em procedimentos de alto risco (WHO, 2015).

Drogas de segunda e terceira geração são necessárias para o tratamento de infecções causadas por bactérias resistentes. Esses remédios tendem a ser mais caros aumentando o

custo para o paciente. De acordo com o relatório do Centro para Desenvolvimento Global de Trabalho a Resistência às Drogas, o custo para o tratamento de uma tuberculose provocada por estipes resistente é o mesmo para curar 200 pacientes tuberculosos infectados por microrganismos sensíveis aos fármacos de última geração (NUGENT, BACK e BEITH, 2015).

2.5 Perfis de multirresistência

A multirresistência microbiana ocorre de forma natural, quando os microrganismos desenvolvem resistência a um ou mais antimicrobianos que seriam indicados clinicamente para seu tratamento. É um fenômeno mundial que vem sendo observado em muitos casos em hospitais no Brasil e pelo mundo, com grande capacidade de proliferação e transmissão das mutações de seus genes resistentes as próximas linhagens (SCIH, 2014).

As bactérias são classificadas em três categorias: parâmetros epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. Microrganismos considerados resistentes a um ou mais antimicrobiano testados, pertencentes a três ou mais categorias; extensivamente resistente, quando são resistentes a um ou mais antimicrobianos, em quase todas as categorias; Pan-resistência, quando o microrganismo é resistente a todos as drogas testadas (SCIH, 2014).

3 MATERIAL E METÓDOS

3.1 Origem das cepas de *Enterococcus*

As cepas de *Enterococcus* (n=35) foram originárias de amostras de água e sedimento obtidas na coleta realizada ao longo da Lagoa do Catu, localizada no litoral sudoeste do Ceará, no município de Aquiraz, localizado a 27 km da capital pertencendo à Região Metropolitana de Fortaleza.

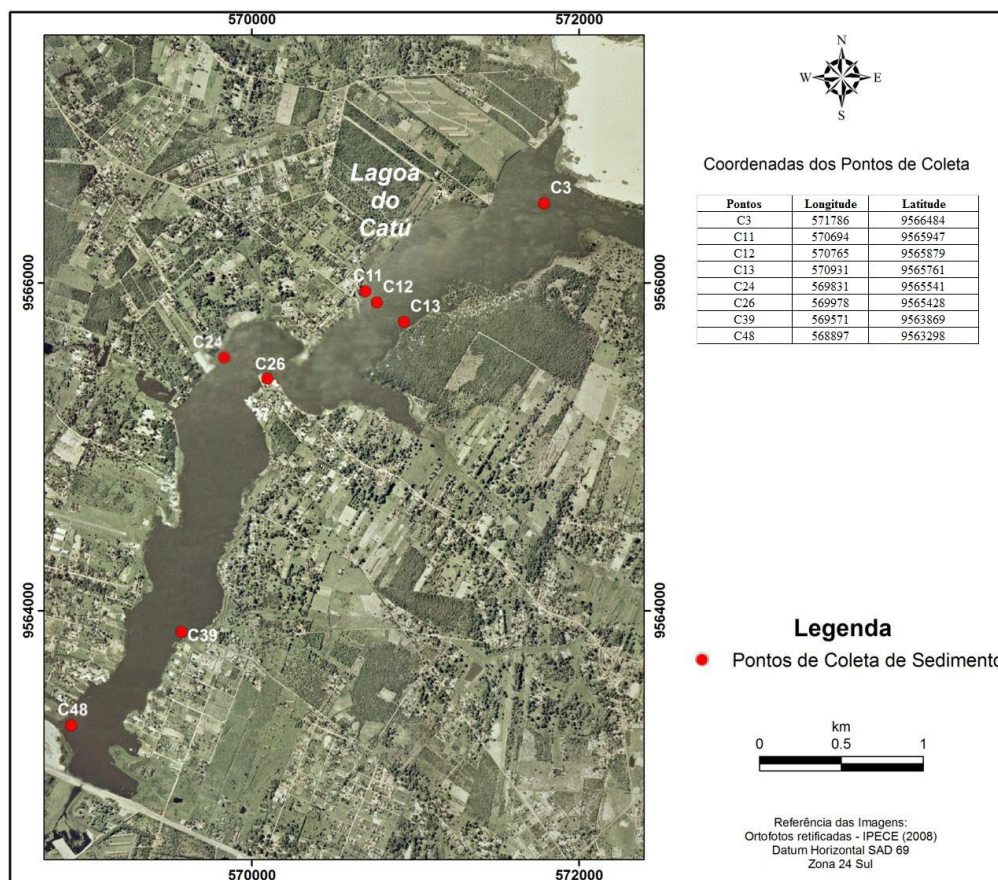
As culturas bacterianas fazem parte do acervo da bacterioteca do Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado- LAMAP do Instituto de Ciências do Mar- LABOMAR, na Universidade Federal do Ceará- UFC. As estirpes isoladas fazem parte do projeto PRONEM-FUNCAP/CNPQ “Análise integrada dos recursos hídricos na Zona Costeira do Estado do Ceará: Potencialidades de usos, impactos e conservação ambiental”. Os pontos de coleta e códigos das cepas de *Enterococcus* sp. estão apresentados na Tabela 1 com distribuição na Figura 1.

Tabela 1 - Codificação das amostras e culturas de *Enterococcus* spp. isoladas de água e sedimento da Lagoa do Catu.

Tipo de amostra	Pontos de origem dos isolados	Longitude	Latitude	Código dos isolados
Água	C3	571786	9566484	E9, E15, E32
	C13	570931	9565761	E68, E75, E77, E88, E92, E95, E96
	C26	569978	9565428	E142
	C39	569571	9563869	E144, E145
	C48	568897	9563298	E150
Sedimento	C11	570694	9565947	E202
	C12	570765	9565879	E204, E207
	C24	569831	9565541	E228, E229, E225
	C26	569978	9565428	E232, E234
	C48	568897	9563298	E235, E237, E236, E239, E240, E242, E243, E245, E247, E250, E251, E253, E254

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 1: Distribuição dos pontos de coleta ao longo da lagoa do Catu



Fonte: Lysandra Guedes

3.2 Purificação das culturas bacterianas

Trinta e cinco isolados bacterianos foram inoculados em ágar Triptona de Soja (TSA) e incubadas a 35°C por 24h. Após esse período de incubação, as cepas foram repicadas para tubos contendo caldo Brain Heart Infusion (BHI) e levadas à estufa bacteriológica a 35°C por 24h. Depois de crescidas, alíquotas foram retiradas e inoculadas por esgotamento sobre a superfície do meio Agar m-Enterococcus (BD) e incubadas à 35°C por 48h. Após incubação, colônias crescidas foram isoladas para posterior confirmação da pureza através da técnica de coloração de Gram. Após essa etapa, as cepas foram submetidas ao teste de susceptibilidade a antimicrobianos.

3.3 Teste de antibiograma através do método de difusão em discos (Kirby-Bauer, 1966)

Para o antibiograma foram utilizados os seguintes discos comerciais da marca LABORCLIN e BD: Ampicilina (AMP), Cloranfenicol (CLO), Ciprofloxacina (CIP), Sulfametoxazol + trimetoprima (SxT), Cefalotina (CFL), Eritromicina (ERI), Novobiocina (NB), Tetraciclina (TET), Nitrofurantoína (NIT), Gentamicina (GEN), Ácido Nalidíxico (NAL), Oxacilina (OX). Foram seguidas as recomendações descritas por Kirby *et al* (1966) em “Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI” (CLSI, 2013).

Foram utilizados 12 antimicrobianos de uso veterinário e clínica humana, de acordo com a tabela 2, estão especificados mais detalhes sobre as concentrações, classe e classificação dos antibióticos.

Tabela 2: Caracterização dos agentes antimicrobianos e padrões para a análise da susceptibilidade dos isolados bacterianos pelo teste de difusão em disco.

Classe	Agente Antimicrobiano	Sigla	[mcg]	Classificação		
				R	I	S
<i>Penicilinas</i>	Ampicilina ¹	AMP	10 mcg	≤ 16	-	≥ 17
	Novobiocina ²	NB	5 mcg	≤ 16	-	≥ 17
	Oxacilina ¹	OX	1 mcg	≤10	11 a 12	≥ 13
<i>Cefalosporinas</i>	Cefalotina ¹	CFL	30 mcg	≤ 14	15 a 22	≥ 23
<i>Aminoglicosídeos</i>	Gentamicina ¹	GEN	10 mcg	≤12	13 a 14	≥ 15
<i>Sulfonamidas</i>	Sulfametoxazol + trimetoprima ¹	SxT	25 mcg	≤10	11 a 15	≥ 16
<i>Fenicolis</i>	Cloranfenicol ²	CLO	30 mcg	≤12	13 a 17	≥ 18
<i>Quinolonas/Fluquinolonas</i>	Ciprofloxacina ¹	CIP	5 mcg	≤15	16 a 20	≥ 21
	Ácido Nalidíxico ²	NAL	30 mcg	≤13	14 a 18	≥ 19
<i>Macrolídeos</i>	Eritromicina ²	ERI	15 mcg	≤13	14 a 22	≥ 23
<i>Tetraciclinas</i>	Tetraciclina ¹	TET	30 mcg	≤14	15 a 18	≥19
<i>Nitrofuranos</i>	Nitrofurantoína ²	NIT	300 mcg	≤14	15 a 16	≥ 17

[] = Concentração; R = Resistente; I = Intermediário; S = Sensível

¹Clínica humana; ² Promotor de crescimento animal

Fonte: CLSI (2011)

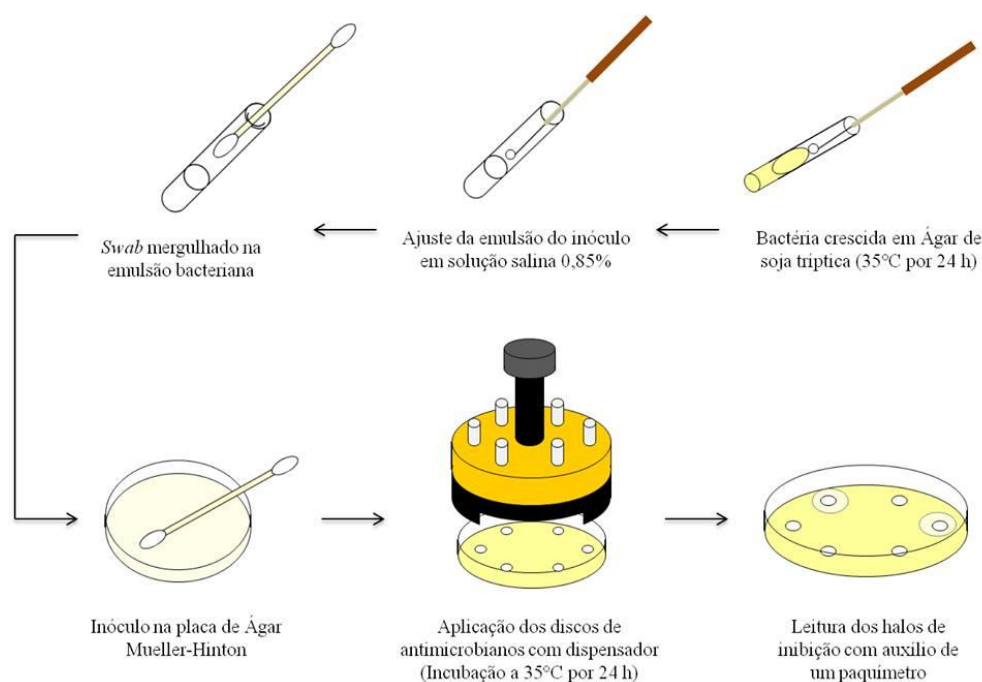
Todas as cepas foram cultivadas em TSA e incubadas durante 24 horas em 35°C. Após isso, inóculos das culturas crescidas foram diluídos em solução salina 0,85% até alcançar turbidez equivalente a 0,5 da Escala de McFarland que corresponde a uma concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

Em seguida, após as concentrações estarem ajustadas de acordo com a diluição controle, eles foram encaminhados para o espectrofotômetro com o comprimento de onda de 625nm para confirmação da concentração bacteriana.

Utilizando *swab* estéreis, o conteúdo bacteriano foi inoculado sobre a superfície das placas de Petri contendo ágar Mueller Hinton - MH (Difco) semeando em quatro direções e contornando as bordas da placa. Após a absorção do conteúdo bacteriano no ágar MH, foram depositados discos de papel contendo antimicrobianos da marca BD e LABORCLIN usando um dispensador (BD SENSI-DISC) com suas devidas concentrações padronizadas e incubadas durante 24 horas em 35°C (Figura 2).

Depois desse período, foram realizadas a leitura e a medição dos halos de inibição dos microrganismos de acordo com a regulamentação estabelecida pela CLSI (2013) utilizando um paquímetro digital (DIGIMESS). As cepas foram classificadas em sensíveis (S), intermediárias (I) e resistentes (R) de acordo com o tamanho dos halos de inibição.

Figura 2: Fluxograma da técnica do antibiograma realizado com os isolados das amostras de água e sedimento da Lagoa do Catu.



Fonte: Rafael Rocha

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As bactérias do gênero *Enterococcus* são tolerantes e resistentes aos mais diversos parâmetros físicos e químicos, como alta e baixa temperaturas, altas concentrações de sal e pH extremos sendo consideradas uma das bactérias não esporuladas mais termotolerantes. De acordo com Campos (2012), esses microrganismos são capazes de sobreviver em ambientes à 80°C por até 3 minutos. Sua resistência promove uma adaptabilidade e condições de crescimento em diferentes substratos, meios e ambientes.

Os parâmetros físicos e químicos dos pontos de onde se originaram as culturas bacterianas usadas na pesquisa estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3 Parâmetros físico-químicos (Salinidade e pH) das amostras de água da Lagoa do Catu.

Amostras de água	Parâmetros Físico-químicos	
	Salinidade (%)	pH
C3	1	7,86
C13	1	7,45
C26	≤0,05	7,96
C39	≤0,05	7,75
C48	≤0,05	7,70

Fonte: Elaborada pelo autor

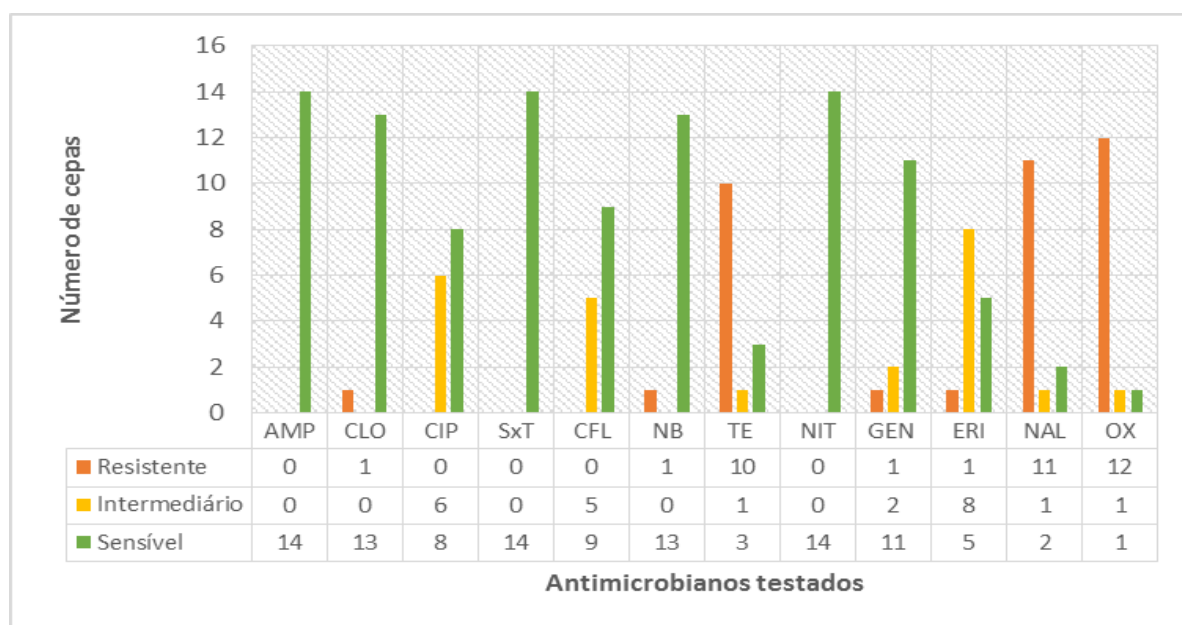
A temperatura ideal para o crescimento varia entre 10°C e 45°C, pH de 9,5 e toleram concentrações de até 6,5% de NaCl. Isso explica a diversidade de ambientes onde esses grupos de bactérias podem ser encontrados, como em solo, plantas e água (CAMPOS, 2012).

De acordo com os dados registrados no momento das coletas a salinidade variou entre 0 e ≤0,05%, o pH apresentou uma variação de 7,45 e 7,96. É importante medir esses parâmetros porque as reações metabólicas dependem das condições fisiológicas das bactérias, logo que grandes alterações (ou repentinas) por mais que os *Enterococcus* tenham uma boa adaptabilidade a ambientes, podem causar situações de estresse e dificultar seu crescimento no meio de cultura (COSTA, VAZ-PIRES e BERNARDO, 2006).

4.1 Antibiógrama de cepas do gênero *Enterococcus* isolados da lagoa do Catu

Os resultados associados ao perfil de susceptibilidade aos doze (12) antimicrobianos com promotores de crescimento animal e humanos estão presentes nos Gráficos 1 e 2, mencionados e quantificados com mais detalhes. Os isolados com perfis de resistência, resistência intermediária e sensíveis às substâncias antimicrobianas foram separados por amostras ambientais.

Gráfico 1 - Percentual de suscetibilidade a diferentes antimicrobianos de 14 estirpes de *Enterococcus* isoladas de amostras ambientais de água.



Legendas: Ácido Nalidíxico: NAL; Ampicilina: AMP; Cefalotina: CFL; Ciprofloxacina: CIP; Cloranfenicol: CLO; Eritromicina: ERI; Gentamicina: GEN; Nitrofurantoína: NIT; Novobiocina: NB; Oxacilina: OX; Sulfametoxazol + trimetoprima: SxT; Tetraciclina: TET.

Fonte: Elaborada pelo autor

Foi possível verificar que a maioria das cepas isoladas na água apresentaram resistência a oxacilina, ácido nalidíxico e tetraciclina (85%, 78% e 71%, respectivamente). Também foram encontrados perfis intermediários para esses antimicrobianos entre os isolados.

Os antimicrobianos com maior frequência entre os perfis intermediários foram eritromicina, ciprofloxacina e cefalotina com 57%, 42% e 35%, respectivamente.

Um estudo realizado no Canadá em amostras de água detectou isolados intermediários à ciprofloxacina (31.8%), eritromicina (52.9%) e nitrofurantoína (36.5%). A

presença de isolados intermediários pode indicar uma tendência para a resistência total e em alguns trabalhos eles podem ser considerados como resistentes. A pesquisa de Furtula *et al.* (2013) possui uma abordagem semelhante ao da presente pesquisa, isso é, não considerando perfis intermediários como resistentes. Porém, caso contrário, se fosse considerado essa abordagem nos determinados estudos, o percentual de isolados aumentaria significativamente, tendo em vista que muitos isolados desse grupo mostraram resistência intermediária.

Tendo em vista os resultados no antibiograma, os antimicrobianos mais eficazes contra os *Enterococcus* isolados das amostras de água foram: ampicilina (AMP) 100%, sulfametoxazol + trimetoprima (SxT) 100%, nitrofurantoína (NIT) 100%, cloranfenicol (CLO) 92%, novobiocina (NB) 92%, e gentamicina (GEN) 78%. Duas dessas substâncias (ampicilina, sulfametoxazol + trimetoprima) são de uso na clínica humana e os outros são usados como promotores de crescimento em criação de animais.

Entre os isolados de *Enterococcus* testados nas amostras de água, os maiores percentuais de resistência foram detectados para oxacilina, ácido nalidíxico e tetraciclina, com 95%, 90% e 85%, respectivamente.

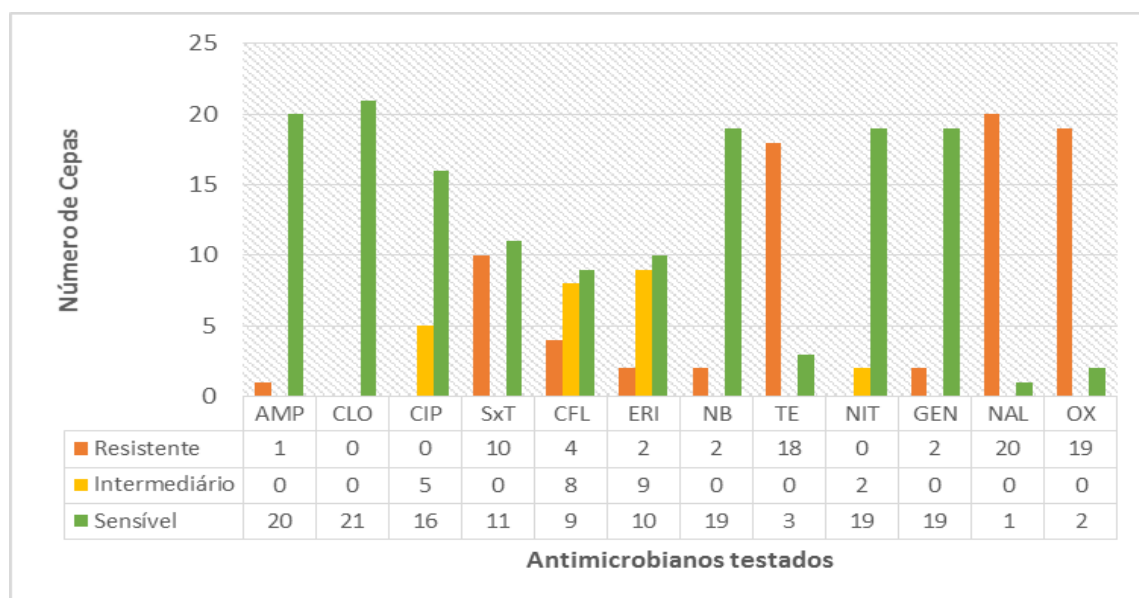
A droga sulfametoxazol + trimetoprima representou 47% de resistência entre os isolados, ficando na quarta colocação dos antibióticos menos eficientes, ainda sendo um número alto comparando as demais drogas, sendo necessário um acompanhamento mais preciso sobre os pontos de difusão.

As drogas que obtiveram os maiores percentuais de resistência são em sua maioria antibióticos utilizados em clínica humana (oxacilina e tetraciclina) o que representa a ocorrência de ação antrópica e áreas urbanizadas nesses locais. Essas drogas possuem um perfil de ocorrências comum na lagoa Catu.

Em um estudo de resistência antimicrobiana de Carvalho (2014) em amostras de água em Fortaleza- CE foi verificada a resistência de *Enterococcus* em pelo menos 53 amostras das 81 amostras pesquisadas, os microrganismos representaram resistências aos seguintes antimicrobianos: penicilina (28.3%), tetraciclina (27.1%), ampicilina (24.6%), gentamicina (20.9%) e ciprofloxacina (11.1%).

Na lagoa do Catu, a porcentagem de microrganismos resistentes a tetraciclina foi de 71%, onde foi verificado um percentual mais alto em comparação ao trabalho de Carvalho (2014) que foi realizado em águas costeiras próximas a uma foz, representando um nível de solubilidade muito maior em comparação a lagoa do Catu.

Gráfico 2 - Percentual de suscetibilidade a diferentes antimicrobianos de 21 estirpes de *Enterococcus* isoladas de amostras de sedimento.



Legendas: Ácido Nalidíxico: NAL; Ampicilina: AMP; Cefalotina: CFL; Ciprofloxacina: CIP; Cloranfenicol: CLO; Eritromicina: ERI; Gentamicina: GEN; Nitrofurantoína: NIT; Novobiocina: NB; Oxacilina: OX; Sulfametoxazol + trimetoprima: SxT; Tetraciclina: TET.

Fonte: Elaborada pelo autor

Podemos verificar que a maioria das cepas isoladas no sedimento apresentaram resistência a ácido nalidíxico (95%), oxacilina (90%), tetraciclina (85%), sulfametoxazol + trimetoprima (47%). Os perfis intermediários encontrados entre os isolados foram frente as drogas eritromicina e cefalotina, com 42% e 38%, respectivamente.

As cepas de *Enterococcus* mostraram perfis de resistência diferentes frente ao antimicrobiano cefalotina sendo sensíveis (42%), intermediário (38%) e resistentes (19%). É preocupante porque sugere o aumento do número de estirpes bacterianas resistentes a um medicamento comumente utilizado na clínica humana. O crescente número de isolados com perfil intermediário para cefalotina e eritromicina é um alerta porque sugere que há uma utilização desses medicamentos no ambiente, selecionando formas bacterianas resistentes a essas drogas.

A ação de substâncias antimicrobianas da classe das cefalosporinas é a menos efetiva contra o grupo *Enterococcus*, estando tão disseminada que o uso de cefalotina é contra-indicado no tratamento de infecções cujo agente etiológico seja *Enterococcus* spp. (SADER, *et al.*, 1998).

O cuidado com disseminação de resistência a eritromicina se justifica por ela ser utilizada em infecções por *Streptococcus* e em pacientes alérgicos a classe de penicilina. De acordo com Nachtigall (2013), a ocorrência de um número tão elevado para esse tipo de comportamento deve-se a presença de hospitais que podem não estar encaminhando apropriadamente o seu lixo hospitalar à companhia de coleta específica.

Os antimicrobianos mais eficientes considerando as amostras de sedimento frente aos *Enterococcus* foram: cloranfenicol (100%), ampicilina (95%), novobiocina (90%), nitrofurantoína (90%) e gentamicina (90%), ciprofloxacina (76%).

De acordo com Baptista (2013) o mecanismo de resistência da gentamicina é realizado pela inativação enzimática, elas se caracterizam por um efeito pós-antibiótico, onde a atividade bactericida continua da mesma forma mesmo com a diminuição da concentração da dosagem disponível no ambiente (concentração sérica).

Em um estudo de resistência bacteriana em Portugal entre os anos 2008 e 2011 com *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* apresentou, respectivamente, um decréscimo de 13,4% e um aumento de 9,6% para a resistência ao antimicrobiano gentamicina. Nesse mesmo estudo, realizado em 29 países europeus, mostra que de forma geral, ambas espécies de *Enterococcus* estavam diminuindo ou se estabilizando. Porém, nesses mesmos dados, a pesquisa aponta que a resistência combinada à cefalosporinas, fluoroquinolonas e aminoglicosídeos foram as mais dominantes (ECDPC, 2010). Em comparação dos nossos dados, a resistência para os isolados de água e sedimento para a droga gentamicina foi pequena, apresentando cerca de 10% isolados resistentes e 90% de isolados sensíveis.

Nas tabelas 4 e 5 estão apresentados os resultados do perfil de multiresistência aos agentes antimicrobianos para os isolados de água e sedimento de *Enterococcus* da lagoa do Catu.

Tabela 4: Padrões de comportamento das estirpes de *Enterococcus* spp. isoladas de amostras de água da lagoa do Catu frente a antimicrobianos.

Origem	Ponto	Amostra	PERFIL		
			R	I	S
Lagoa do Catu	C3	E9	TET; NAL; OX	GEN; ERI; CFL	CLO; AMP; NB; SxT; F/M; CIP
		E15	TET; NAL; OX	-	ERI; GEN; CLO; AMP; NB; SxT; F/M; CFL; CIP
		E32	TET; NAL; OX	GEN; ERI; CFL; CIP	CLO; AMP; NB; SxT; F/M;
	C13	E68	TET; NAL; OX	ERI	GEN; CLO; AMP; NB; SxT; F/M; CFL; CIP
		E75	NAL; OX	ERI; TET	GEN; CLO; AMP; NB; SxT; F/M; CFL; CIP
		E77	NAL; OX	ERI; CIP	GEN; CLO; AMP; NB; SxT; F/M; CFL; TET
		E88	TET; OX	ERI;	GEN; CLO; AMP; NB; SxT; F/M; CFL; CIP; NAL
		E92	ERI	NAL	AMP; NB, SxT; F/M; TET; CIP; OX; CLO; GEN; CFL
		E95	NAL; TET; OX	CFL	AMP; NB, SxT; F/M; CIP; CLO; GEN; ERI
		E96	NAL; NB; TET; OX; CLO	CIP; ERI	AMP; SxT; F/M; GEN; CFL
	C26	E142	NAL; TET; OX; GEN	CIP	AMP; NB, SxT; F/M; CLO; ERI; CFL
	C39	E144	NAL; TET; OX	CIP; CFL	AMP; NB, SxT; F/M; CLO; GEN; ERI
		E145	NAL; TET; OX; GEN	CIP; ERI; CFL	AMP; NB, SxT; F/M; CLO
	C48	E150	-	-	AMP; NB, SxT; F/M; NAL; TET; CIP; OX; CLO; GEN; ERI; CFL

Legendas: Ácido Nalidíxico: NAL; Ampicilina: AMP; Cefalotina: CFL; Ciprofloxacina: CIP; Cloranfenicol: CLO; Eritromicina: ERI; Gentamicina: GEN; Nitrofurantoína: NIT; Novobiocina: NB; Oxacilina: OX; Sulfametoxazol + trimetoprima: SxT; Tetraciclina: TET.

Fonte: Elaborada pelo autor

É possível notar que existe um perfil comum de resistência entre os isolados na maioria dos pontos (ácido Nalidíxico e oxacilina) (Tabela 4). O perfil de resistência intermediário foi verificado em mais da metade dos isolados de *Enterococcus* (57,2%), apenas os isolados E15 e E150 não apresentaram resistência intermediária a nenhuma droga.

Nos pontos onde foram detectados perfis de resistência e resistência intermédia pode haver algum tipo de difusor pontual ou disperso desses medicamentos. É necessário um monitoramento maior da descarga de resíduos de drogas para que haja um controle da disseminação dos genes de resistência nos ambientes.

No trabalho de Nachtigall (2013) sobre a susceptibilidade antimicrobiana de *Enterococcus* sp. isolados das águas do Arroio Dilúvio em Porto Alegre foi verificado que nenhuma amostra foi resistente às drogas ampicilina e gentamicina. Em comparação com os isolados da lagoa do Catu, também houve um registro baixo no número de cepas de água resistentes a ampicilina e a gentamicina.

É importante ressaltar que o Arroio Dilúvio está localizado em uma área de extensa ocupação urbana e possui depósito de lixo irregular. Os antimicrobianos com o maior percentual de isolados resistentes originados desse ambiente foram: Eritromicina (81,07%) e Nitrofurantoína (37,2%) (NACHTIGALL, 2013). Na lagoa do Catu, não houve isolamento de cepa resistente a Nitrofurantoína, somente com perfil intermediário (5,7% dos isolados). Já a resistência a eritromicina foi verificada em 8,5% dos isolados bacterianos testados, porém com um número preocupante de 48,5% de isolados intermediários a esse antimicrobiano.

Tabela 5 Perfil de resistência a antimicrobianos entre as estirpes de *Enterococcus* spp. isoladas de sedimento da lagoa do Catu

Origem	Ponto	Amostra	PERFIL		
			R	I	S
Lagoa do Catu	SC11	E202	GEN; OX; NAL; TET; CFL	ERI; CIP	CLO; AMP; NB; SxT; F/M
	SC12	E204	GEN; OX; NAL; TET	ERI; CFL; CIP	CLO; AMP; NB; SxT; F/M
		E207	OX; NAL; TET; CFL	ERI; CIP	CLO; AMP; NB; SxT; F/M; GEN
	SC24	E228	OX; NAL; TET	ERI; CFL	CLO; AMP; NB; SxT; F/M; GEN; CIP
		E229	OX; NA	CFL; CIP	CLO; AMP; NB; SxT; F/M; GEN; TET; ERI
		E225	NA	-	CLO; AMP; NB; SxT; F/M; GEN; OX; TET; ERI; CFL; CIP
	SC26	E232	SxT; OX; NAL; TET	-	ERI; CLO; AMP; NB; F/M; GEN; CFL; CIP
		E234	AMP; NB; OX; NAL; TET; ERI; CFL	-	CLO; SxT; F/M; GEN; CIP
	SC48	E235	SxT; OX; NAL; TET	ERI	CLO; AMP; NB; F/M; GEN; CFL; CIP
		E237	TET; NAL; OX; SxT	-	GEN; CLO; AMP; NB; CIP; F/M; ERI; CFL
		E236	TET; NAL; OX	ERI; CFL	GEN; CLO; AMP; NB; CIP; F/M; SxT
		E239	TET; NAL; OX; SxT	-	GEN; CLO; AMP; NB; CIP; F/M; ERI; CFL
		E240	TET; NAL; OX; SxT	F/M; ERI	GEN; CLO; AMP; NB; CIP; CFL
		E242	AMP; NB; TET; NAL; OX; CFL	CIP; ERI	GEN; CLO; F/M; SxT
		E243	TET; NAL; OX; SxT	-	GEN; CLO; AMP; NB; CIP; F/M; ERI; CFL
		E245	TET; NAL; OX; SxT	ERI; CFL	GEN; CLO; AMP; NB; CIP; F/M
		E247	TET; NAL; OX	CFL	GEN; CLO; AMP; NB; CIP; F/M; SxT; ERI
		E250	CIP; TET; NAL; OX; SxT	CFL	GEN; CLO; AMP; NB; F/M; ERI
		E251	TET; NAL; OX; SxT	-	GEN; CLO; AMP; NB; CIP; F/M; ERI; CFL
		E253	-	-	GEN; CLO; AMP; NB; CIP; F/M; OX; NAL; TET; SxT; ERI; CFL
		E254	TET; NAL; OX; SxT; ERI	F/M; CFL	GEN; CLO; AMP; NB; CIP;

Legendas: Ácido Nalidíxico: NAL; Ampicilina: AMP; Cefalotina: CFL; Ciprofloxacina: CIP; Cloranfenicol: CLO; Eritromicina: ERI; Gentamicina: GEN; Nitrofurantoína: NIT; Novobiocina: NB; Oxacilina: OX; Sulfametoxazol + trimetoprima: SxT; Tetraciclina: TET.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Podemos observar que 14,2% das cepas isoladas do sedimento apresentaram perfil de multiresistência. O perfil de resistência intermediária para os antimicrobianos cefalotina e eritromicina para o sedimento foi semelhante ao apresentado nos isolados da matriz água. No entanto, a resistência à tetraciclina chama atenção, devido ser um perfil de resistência comum a 85,8% dos enterococos isolados.

A tetraciclina foi um dos antibióticos ao qual os isolados bacterianos foram mais resistentes, esse é um padrão comum entre *Enterococcus* isolados de alimento. As substâncias do grupo das tetraciclinas são utilizadas em terapias humanas, medicina veterinária, agricultura e aquicultura, sendo um dos antibióticos relativamente mais baratos e consideravelmente eficaz. Muitas vezes ele é associado com o tratamento de aves e aplicado no controle e prevenção de enfermidades de peixes. O seu uso para o controle de infecção tornou-se limitado porque surgiram muitos patógenos resistentes (CAMPOS, 2013).

De acordo com o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (BRASIL, 2009) é vedada a utilização das drogas de classe anfenicóis, tetraciclinas, beta lactâmicos (benzilpenicilâmicos e cefalosporinas), quinolonas e sulfonamidas sistêmicas para o uso de melhoramento de desempenho ou como conservantes de alimento para animais sendo exclusivos apenas em produtos veterinários.

O cloranfenicol é um antibiótico que atua na inibição da síntese proteica nas bactérias e pode muitas vezes possuir ação bactericida. De forma geral, esse antimicrobiano possui uma alta taxa de toxicidade, sendo utilizado em casos de infecções com resistência à tetraciclinas preferencialmente tendo seu uso controlado (BAPTISTA, 2013). Apenas um isolado apresentou resistência a essa substância, mostrando uma alta eficiência desse antibiótico contra bactérias do gênero *Enterococcus*.

Entre os isolados do sedimento (Tabela 5), a ciprofloxacina foi o único antimicrobiano ao qual todos os isolados foram sensíveis ou intermediários. E a cefalotina e eritromicina foram as substâncias com a maior frequência de bactérias com perfil de resistência intermediária. Essa é uma situação que precisa de atenção e monitoramento porque esse perfil indica uma tendência ao estabelecimento de populações bacterianas resistentes aos fármacos.

Foi observado que dos 35 isolados, apenas dois, um de água (E150) e um de sedimento (E253), não apresentaram resistência a qualquer um dos antibióticos testados. Os dois isolados são originários do mesmo ponto na lagoa C48 que fica mais afastado da influência do mar, com salinidade $< 0,05\%$.

Comparando os resultados das tabelas 4 e 5 (matriz água e sedimento, respectivamente) pode-se observar que os *Enterococcus* apresentaram perfil de resistência intermediária mais frequentemente as drogas ciprofloxacina, cefalotina e eritromicina.

Na maioria das cepas de sedimento foi observado um elevado número (10) de isolados resistentes ao antimicrobiano sulfametoxazol + trimetoprima. Enquanto nas amostras de água não foi verificado perfil de resistência a essa droga. Caumo *et al.* (2010) fizeram um levantamento sobre resistência bacteriana no meio ambiente e verificaram um elevado percentual de resistência a múltiplos antibióticos nas bactérias isoladas de solos indicando essa matriz como fonte de genes de resistência.

Os altos percentuais de microrganismos resistentes ao grupo das fluorquinolas, como o fármaco ácido nalidíxico, foram confirmados no ambiente da lagoa do Catu. Em nossa pesquisa, os percentuais de resistência ao ácido nalidíxico entre as bactérias testadas também foram elevados, 88,5% dos isolados ambientais (água e sedimento) foram resistentes a esse fármaco.

De acordo com Tavares (2000) vários aspectos de resistência a antimicrobianos da classe das fluorquinolas vem sendo discutidos e observados no México, onde são amplamente utilizados para promover o crescimento de animais, aplicados na ração com o intuito de engorda e crescimento, sendo um importante fator para a disseminação da resistência em bactérias patogênicas. É importante citar que a resistência dessas bactérias é variável de acordo com a região e origem das estirpes selecionadas.

Em um estudo de Furtula *et al.*, (2013) sobre a contaminação microbiana de águas residuais no Canadá sobre resistência de microrganismos aos antimicrobianos: tetraciclina, penicilina e ciprofloxacina foram de respectivamente de: 4.1%, 7.6% e 12.9%. Em geral, 86% dos isolados de areia, 58% de água e superfície 100% dos isolados de água subterrânea eram resistentes a mais do que um antibiótico.

Como uma tentativa de rastrear as fontes contribuidoras dos *Enterococcus* na lagoa do Catu, foi elaborada a tabela 6, onde separa os perfis de resistência de acordo com o uso dos antimicrobianos. Verifica-se que a resistência à tetraciclina e à oxacilina foi o perfil de mais frequente entre as substâncias de uso na clínica humana. Entre os antimicrobianos reconhecidos como promotores de crescimento de animais, o ácido nalidíxico obteve o perfil de resistência em todos os isolados. O rastreamento das fontes contribuidoras de poluição em ambientes aquáticos é extremamente importante para a gestão desses corpos de água.

Na medida em que os pontos de coleta se aproximam do aglomerado urbano, os perfis de resistência a múltiplos antimicrobianos de uso na clínica humana se intensificam, indicando a influência do aporte de efluentes domésticos nesse ambiente.

Tabela 6: Perfis de resistência aos antimicrobianos considerando o uso das substâncias.

Pontos	Códigos cepas	Amostra de origem	Resistência	
			Antibiótico clínica humana	Antibiótico promotor de crescimento animal
C3	E9	Água	TET; OX	NAL
	E15	Água	TET; OX	NAL
	E32	Água	TET; OX	NAL
C11	E202	Sedimento	GEN; OX; TET; CFL	NAL
C12	E204	Sedimento	GEN; OX; TET	NAL
	E207	Sedimento	OX; TET; CFL	NAL
C13	E68	Água	TET; OX	NAL
	E75	Água	OX	NAL
	E77	Água	OX	NAL
	E88	Água	TET; OX	-
	E92	Água	-	ERI
	E95	Água	TET; OX	NAL
	E96	Água	TET; OX;	NAL; CLO; NB;
C24	E228	Sedimento	OX; TET	NAL
	E229	Sedimento	OX;	NAL
	E225	Sedimento	-	NAL
C26	E142	Água	TET; OX; GEN	NAL
	E232	Sedimento	SxT; OX; TET	NAL
	E234	Sedimento	AMP; OX; TET; CFL	NAL; NB; ERI;
C39	E144	Água	TET; OX	NAL
	E145	Água	TET; OX;	NAL
C48	E235	Sedimento	SxT; OX; TET	NAL
	E237	Sedimento	TET; OX; SxT	NAL
	E236	Sedimento	TET; OX	NAL
	E239	Sedimento	TET; OX; SxT	NAL
	E240	Sedimento	TET; OX; SxT	NAL
	E242	Sedimento	AMP; TET; OX; CFL	NAL; NB;
	E243	Sedimento	TET; OX; SxT	NAL
	E245	Sedimento	TET; OX; SxT	NAL
	E247	Sedimento	TET; OX	NAL
	E250	Sedimento	CIP; TET; OX; SxT	NAL
	E251	Sedimento	TET; OX; SxT	NAL
	E254	Sedimento	TET; OX; SxT;	NAL; ERI

Legendas: Ácido Nalidíxico: NAL; Ampicilina: AMP; Cefalotina: CFL; Ciprofloxacina: CIP; Cloranfenicol: CLO; Eritromicina: ERI; Gentamicina: GEN; Nitrofurantoina: NIT; Novobiocina: NB; Oxacilina: OX; Sulfametoxazol + trimetoprima: SxT; Tetraciclina: TET.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Analisando as características dos pontos de coleta de água (Figura 1/Tabela 3) observamos que o ponto C3 é o local que possui a maior proximidade das dunas e do mar, com uma extensa área de solo descampado e vegetação rala. Possuindo isolados resistentes aos principais antibióticos utilizados na clínica humana (tetraciclina e oxacilina) e veterinária (ácido nalidíxico).

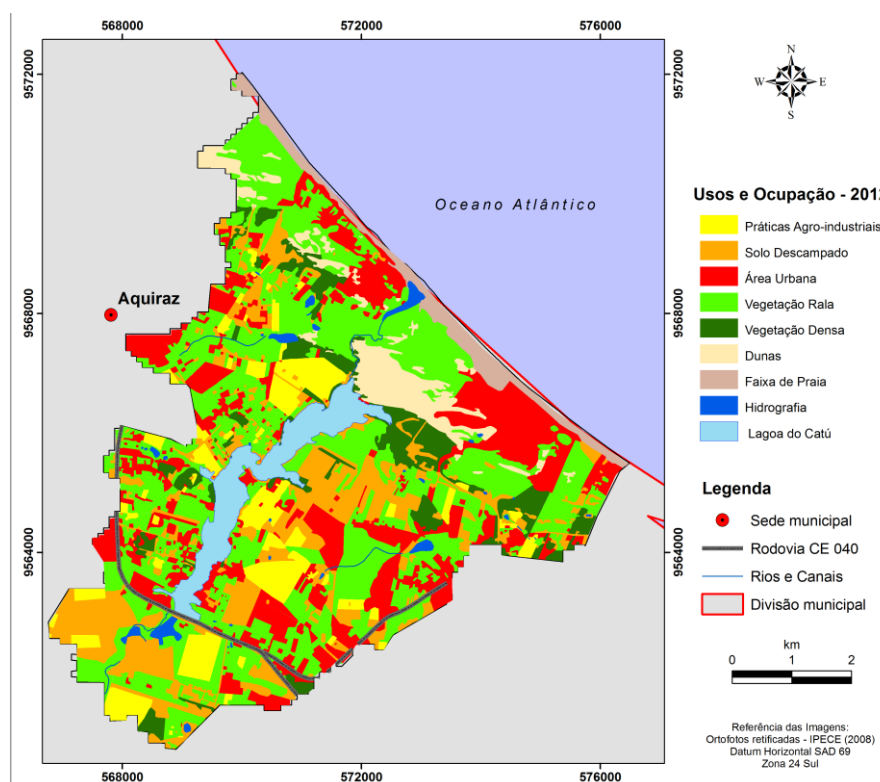
No estudo de Campos (2013) sobre resistência antimicrobiana em carcaças de frango no Distrito federal, também encontrou níveis elevados para a resistência à tetraciclina (90,47% de *Enterococcus faecalis* e 100% das cepas de *Enterococcus faecium*) o que liga essa droga com a presença de agroindustrias no local. Podendo mesclar essa informação com os dados que a Lagoa do Catu está ligada a prática de agroindústria em quase toda sua extensão, pois esses números são vistos como frequentes em quase todas as amostras.

De acordo com o estudo de isolados durante quatro anos de um hospital, Conceição *et al* (2011) mostra que *Enterococcus* obtiveram uma resistência de 21,4% para a ampicilina; 25,2% para a droga gentamicina, 61,2% para a ciprofloxacina, 29,1% para o cloranfenicol, 57,3% para tetraciclina e 80% para eritromicina.

Analizando nossas informações, é possível observar a resistência de bactérias a Ampicilina nos pontos de coleta C26 e C48, Ciprofloxacina em C48, Gentamicina em C26 e C11 e Tetraciclina na maior parte dos pontos, pontos que podem ser identificados como densa área urbana.

A tetraciclina foi a substância para qual se verificou a maior frequência de marcos de resistência entre os isolados de *Enterococcus* de origem animal e humana em estudo conduzido por Henkes (2010). De 86 estirpes expostas a diferentes concentrações desse fármaco; desses, 15 isolados apresentaram resistência até 32ug/mL e vários outros sobreviveram a concentrações mais elevadas. Da mesma forma no nosso estudo, a Tetraciclina foi o antimicrobiano de uso clínico com maior frequência de resistência entre os isolados de *Enterococcus* spp.

Figura 3: Distribuição das características de uso e ocupação ao longo da lagoa do Catu.



Fonte: Lysandra Guedes

De acordo com a figura 3, podemos notar um perfil de diferentes ocupações no entorno da lagoa do Catu, de acordo com as atividades urbanas, agroindústrias e vegetações. Diferentes concentrações e resistências antimicrobianas são esperadas durante o percurso da lagoa, onde existem salinidade e pH diferentes, que por ser em uma lagoa a solubilidade não é tão grande assim como o aporte e acúmulo de antimicrobianos.

O crescente aumento da resistência a múltiplos antimicrobianos serve como uma advertência para o monitoramento frequente da resistência de bactérias patogênicas, tanto em ambientes humanos quanto agrícolas em Fortaleza. Sem essas medidas de vigilância preventiva e reguladora, a administração desse problema pode resultar em uma diminuição da eficácia dos agentes antimicrobianos, automaticamente, conduzindo uma redução do número de agentes microbianos disponíveis para tratar infecções humanas e animais (NASCIMENTO, 2013).

4 CONCLUSÕES

O presente estudo apresenta as seguintes conclusões:

- Confirma a presença de *Enterococcus* resistentes no ambiente, com o total de 88,5% das bactérias apresentaram resistências a um ou mais antimicrobianos. E no total de 80% resistentes a dois ou mais fármacos (multirresistentes).
- Os microrganismos resistentes à antimicrobianos de clinica humana nas amostras de água mais frequentes foram a Oxacilina e a Tetraciclina (85% e 71%), nas amostras de sedimento foram Oxacilina, Tetraciclina e Sulfametoxazol + Trimetoprima com 90%, 85% e 47% respectivamente; já os antibióticos promotores de crescimento animal mais frequente nas amostras de águas foi o Cloranfenicol (78%), e nas amostras de sedimento foi o Ácido Nalidíxico (95%)
- As drogas Tetraciclina e Oxacilina foram as que apresentaram um perfil de microorganismos mais resistentes e constante entre os antimicrobianos de clinica humana, representando 91%; E o Ácido Nalidíxico foi o mais constante, presente em 80% dos isolados totais, nos antimicrobianos usados como fatores de crescimento animal.
- Nos pontos C11, C26 E C48 é possível observar uma maior quantidade de microrganismos resistentes à fármacos de clinica humana, o que indica uma grande concentração de microrganismos de origem de dejetos humanos nessas áreas, onde é possível verificar um adensamento urbano.

REFERÊNCIAS

AGOSTINHO, A. A., *et al.* Estratificación espacial y comportamiento de *Prochilodus scrofa* em distintas fases del ciclo de vida, em la planície de inundación del alto rio Paraná y embalse de Itaipu, Paraná, Brasil. **Revue d'Hydrobiologie Tropicale**, v.26, n 1, p.79-90, 1993.

BAPTISTA, M.G; **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos**. p51, 2013. Dissertação de Mestrado. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia. Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde, 2013.

BRASIL, 2015. Ministério Da Integração Nacional. Portaria N° 89 de 16 de março de 2005. Disponível em: <www.fundaj.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=1116%3Aportaria-nd-89-de-16-de-marco-de-2005&catid=75&Itemid=717>. Acessado em 4 de fevereiro de 2016.

BRASIL, 2014. Agência Nacional de Águas. Comitê de Bacias Hidrográficas. Disponível em: <<http://www.cbh.gov.br/DataGrid/GridCeara.aspx>> Acesso em: 2 de janeiro de 2016.

BRASIL, 2009. Ministério da Cultura. Plano nacional de controle de resíduos e contaminantes em produtos de origem animal - PNCRC. Instrução Normativa SDA N.º 26, de 09 de julho de 2009.

BRASIL, 2007. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Investigação e controle de bactérias multirresistentes. p.21, 2007.

BRASIL, 2001. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 12 de janeiro de 2001. Brasília: ANVISA, 2001.

BRASIL, 1987. Ministério da Agricultura. Programa Nacional de Microbacias Hidrográficas. Manual Operativo. Brasília, DF, Coordenação Nacional do PNMH, Ministério da Agricultura, p.60, 1987.

CAMPOS, A.C. **Resistência antimicrobiana de cepas de Enterococcus isoladas de carcaças de frango comercializadas no Distrito Federal**. 2012, 64 f., Dissertação. Mestrado em Saúde Animal. Universidade de Brasília, 2012

CAMPOS, T. **Resistência Antimicrobiana de enterococcus sp isolados de carcarças suínas na etapa de pré resfriamento**. 2013, 88f. Pós-graduação em Ciências Veterinárias. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina Veterinária, 2013.

CARVALHO, E. M. R.; *et al.*, Multiple antibiotic-resistance of *Enterococcus* isolated from coastal water near the outfall in Brazil.. *African Journal of Microbiology Research* , v. 8, p. 1825-1831, 2014.

CAUMO, K., *et al.*, Resistência bacteriana no meio ambiente e implicações na clínica hospitalar. *Revista Liberato*, v.11, n.16, p.89-188, 2010.

CAVALCANTE, J. A. H; *et al.*, **Impacto ambiental nas áreas de proteção permanente na lagoa costeira do Catu**. Workshop internacional de inovações tecnológicas na irrigação, 2012.

CEARÁ, 2007. **Consultoria Legislativa**. Nova Delimitação Do Seriário Brasileiro. Estudo, Novembro, 2007. Disponível em: < http://www2.camara.leg.br/documentos-e-pesquisa/publicacoes/estnottec/areas-da-conle/tema14/2007_13786_Manoel%20Junior.pdf> Acessado em: 3 de Fevereiro de 2016.

CLSI - CLINICAL AND LABORATORY STANDARD INSTITUTE. **Methods for Broth Dilution Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals**. Guideline. v.26, n.24, 50p, 2011.

CONCEIÇÃO, N. *et al.*, Trends in antimicrobial resistance among clinical isolates of enterococci in a Brazilian tertiary hospital: a 4-year study. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 44, n. 2, p. 177-181, 2011

COSTA, P. M; VAZ-PIRES, P; BERNARDO, F. Antimicrobial resistance in *Enterococcus* spp. isolated in inflow, effluent and sludge from municipal sewage water treatment plants. *Water research*, v.40, no.8, p.1735-1740, 2006.

ECDPC - European Center For Disease Prevention And Control. Antimicrobial Resistance **Special Eurobarometer** v.338, p.113, 2010. Disponível em: <http://ec.europa.eu/health/antimicrobial_resistance/docs/ebs_338_en.pdf>. Acessado em: 3 de Fevereiro de 2016.

FISHER, K. *et al.*, The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology* v.155, no. 6, p1749-1757, 2009.

FRANCISCO, D. **A rastreabilidade de carnes segundo os atributos valorizados pelos consumidores: o caso da cadeia avícola do Rio Grande do Sul**; 2004; 108f; Dissertação. Mestrado em Agronegócios. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; 2004.

FRASER, S.L; *et al.*, **Enterococcal Infections: Pathophysiology** (2015) Medscape. Disponível em: <<http://emedicine.medscape.com/article/216993-overview#a5>> Acesso em: 12 de fevereiro de 2016

FURTULA, V., *et al.*, Antimicrobial Resistance in *Enterococcus* spp. Isolated from Environmental Samples in an Area of Intensive Poultry Production. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v.10, n.3, p.1020–1036, 2013.

GOMES, M. L. **Aspectos hidrológicos, sedimentológicos e impactos ambientais na lagoa costeira do Rio Catú-Aquiraz-Ceará**. 2003. 138p. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Ceará, 2003.

GOMES, M.L; PEREIRA, E.C; MORAIS, J. O. Degradação Socioambiental no Baixo Curso do Rio Catú, Aquiraz-Ceará: Comprometimento da mata ciliar e recursos hídricos. **IV Encontro Nacional da Anppas Brasília – DF – Brasil**, 2008.

GONDIM, V. M. ; ALEXANDRE, M. S. ; CRUZ, M. L. B. **Uso do Sensoriamento Remoto na Identificação da Pressão Antrópica na Lagoa do Catú Aquiraz/Ceará**. In: XIV Simpósio Brasileiro De Sensoriamento Remoto, p. 3859-3865, 2009.

HENKES, W.E. **Identificação de *Enterococcus* sp. e a resistencia a antimicrobianos em amostras de regiões costeiras da lagoa dos patos**. 60 f, 2010. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, 2010.

HUSS, H. H. **Garantia da qualidade dos produtos da pesca**. Roma: Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, p.176, no.334, 1997.

INGLATERRA, 2008. **Enterococcus species and glycopeptide-resistant enterococci (GRE)**. Public Health England. Disponível em: <<https://www.gov.uk/guidance/enterococcus-species-and-glycopeptide-resistant-enterococci-gre>>. Acessado em 1 de fevereiro de 2016.

KRISTICH, C.J; RICE L,B; ARIAS C,A; Enterococcal Infection—Treatment and Antibiotic Resistance. **Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection**, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190420/>> Acesso em: 3 de dezembro de 2015.

Levy, S.B (1994). Balancing the resistance equation. **Trends in Microbiology** 2. 341-2.

LLÉO, M.M., *et al.*, Resuscitation rate in different enterococcal species in the viable but non-culturable state. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, p.1095-1102, 2000

MACHADO, A.L. **Susceptibilidade a antimicrobianos e perfil de resistência plasmidial em cepas de *Escherichia coli* isoladas de pescado de água doce e marinha,**

comercializados em feiras de Fortaleza, 2015. Universidade Federal Do Ceará. Centro De Ciências Agrárias. Programa de pós graduação em pesca, 2015.

MORAIS, J.O; *et al.*, **Estuário do Rio Catú-CE: Ações Antrópicas e Impactos Ambientais**. In: IX Congresso da Associação Brasileira de Estudos Quaternários, 2003.

NACHTIGALL, G. **Diversidade e perfil de susceptibilidade antimicrobiana de *Enterococcus* sp. isolados das águas do Arroio – Porto Alegre**, 2013. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Ciências Básicas da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, 2013.

NASCIMENTO, G. **Utilização de produtos alternativos aos antibióticos** (2013) Dissertação (Mestrado)- Curso de Zootecnia, Universidade Federal de Goiás. Disponível em: <<http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais/edu/ce04.htm>>. Acessado em 12 de fevereiro de 2016.

NPS MEDICINEWISE. **Antibiotic resistance — what is it and why is it a problem?** (2014). Disponível em: <<http://www.nps.org.au/medicines/infections-and-infestations/antibiotics/for-individuals/what-is-antibiotic-resistance>>. Acessado em 12 de fevereiro de 2016.

NUGENT, R; BACK, E; BEITH, A; **The rage against drug resistance: A Report of the Center for Global Developments Drug Resistance Working Group**. Center for Global Development, 2010. Disponível em: <http://www.cgdev.org/files/1424207_file_CGD_DRWG_FINAL.pdf>. Acessado em: 3 de dezembro de 2015.

OLIVEIRA, G. G.; MEIRELES, A. J. A. Dinâmica Geoambiental a partir da “Litoralização” de Aquiraz, Ceará, Brasil. In: **Revista Eletrônica do Prodepa** – REDE, Fortaleza, v.5, n.2, p. 50-68, 2010.

RICE, L.B; HOLLENBECK, B.L. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. **Virulence** v.3, i.5,p.433, 2012.

SADER, H.S. *et al* . Atividade antimicrobiana in vitro da cefpiroma em comparação com outros beta-lactâmicos de amplo espectro contra 804 amostras clínicas de nove hospitais brasileiros. **Revista Associação Médica Brasileira**. São Paulo , v. 44, n. 4, p. 283-288, 1998 .

SCIH - Serviço de Controle de Infecção Hospitalar. **Microorganismos Multiresistente**. Hospital Universitário Regional de Maringá, 2014. Disponível em: <<http://www.hum.uem.br/wp-content/uploads/2014/05/multiresistentes.pdf>>. Acessado em: 3 de fevereiro de 2016.

STOECKEL, D. M.; HARWOOD, V. J. Performance, Design, And Analysis In Microbial Source Tracking Studies. **Applied and Environmental Microbiology**, v.73, no.8, p.2405-2415, 2007.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.33, no.3. p.281-301, 2000.

VASCONCELOS, F.R., *et al.*, Perfil De Resistência Antimicrobiana de Escherichia coli Isoladas do Açude Santo Anastácio, Ceará, Brasil. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, p 405-410, 2010.

WHO - World Health Organization, **Antimicrobial resistance**, 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>>. Acessado em: 20 de dezembro de 2015.