



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

**LETÍCIA MOTA CÂMARA**

**Caracterização de enterobactérias aderidas a partículas de plástico em galerias pluviais na orla de Fortaleza-Ceará**

**FORTALEZA  
2023**

**LETÍCIA MOTA CÂMARA**

**Caracterização de enterobactérias aderidas a partículas de plástico em galerias pluviais na orla de Fortaleza-Ceará**

**Trabalho de conclusão de curso apresentado 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 grau de Bacharelado em Ciências Ambientais.**

**Orientadora: Profa. Dra. Oscarina Viana de Sousa.**

**Co-orientadora: MSc. Ana Vládila da Silva Oliveira**

**FORTALEZA  
2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

C173c Câmara, Letícia Mota.

Caracterização de enterobactérias aderidas a partículas de plástico em galerias pluviais na orla de Fortaleza-Ceará / Letícia Mota Câmara. – 2023.

53 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Curso de Ciências Ambientais, Fortaleza, 2023.

Orientação: Profa. Dra. Oscarina Viana de Sousa.

Coorientação: Profa. Ma. Ana Vládila da Silva Oliveira.

1. contaminação costeira. 2. agregados microbianos. 3. polímeros sintéticos. 4. coliformes. I. Título.

CDD 333.7

---

LETÍCIA MOTA CÂMARA

Caracterização de enterobactérias aderidas a partículas de plástico em galerias pluviais na orla de Fortaleza-Ceará

Tese ou Dissertação apresentada ao Trabalho de conclusão de curso apresentado 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 grau de Bacharelado em Ciências Ambientais.

Orientadora: Profa. Dra. Oscarina Viana de Sousa.

Co-orientadora: MSc. Ana Vládila da Silva Oliveira

Aprovada em: 21/07/2023.

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Oscarina Viana de Sousa (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

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

---

Profa. Dra. Jessica Lucinda Saldanha da Silva  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

À minha família.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Francisca Domingos e Reginaldo Gomes, pelo apoio e suporte em todos os âmbitos de minha vida.

Aos meus irmãos, Isabella Mota, Renato Mota, Cecília Mota, vocês me inspiram, incentivam, nada disso seria possível sem vocês.

Ao meu tio Francisco Gomes Câmara, por incentivar a mim e meus irmãos a trilhar os caminhos que a educação reserva.

À minha avó, Vanda Gomes Câmara (in memorian), pelo seu carinho durante a vida toda, por todo o suporte financeiro, sem você eu não estaria aqui hoje.

À Profa. Dra. Oscarina Viana de Sousa, pela orientação, carinho e cuidado, serei eternamente grata.

À Dra. Fátima Cristiane Teles de Carvalho, por todos os ensinamentos no laboratório e todos os conselhos dados, você é inspiradora.

À Ma. Ana Vládila da Silva Oliveira, pela co-autoria, sua paciência e atenção foram muito importantes nesse momento.

Aos professores participantes da banca examinadora Profa. Dra. Francisca Gleire e Ma. Jessica Lucinda, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Ao Dr. Marcelo de Oliveira Soares, por disponibilizar o uso de equipamento no Laboratório de Plâncton.

Ao Ma. Lucio Davi Moraes Brabo, pelos auxílio na identificação e caracterização de microplásticos.

Aos meus amigos de graduação, Larissa de Oliveira, Soraia Mesquita, Noely Viana, Atilas Freitas, pela amizade durante essa jornada, os levarei pra sempre em minha vida.

Ao Delano Brasil de Vasconcelos, pelo carinho, companheirismo e amabilidade durante esse percurso.

Aos meus colegas de turma, por momentos de aprendizado e pelo companheirismo durante a caminhada.

Aos meus colegas e amigos de laboratório Ana Vládila, Anna Brito, Yasmin Girão, Daniel Borges, Igor Cavalcante, Régia Leiliana, Junior Ferreira, Vitória Régia, Jamille Rabelo, Deborah Oliveira, Mariana Franco, Robério Freitas, Sara Andrade, Marina Rodriguez, Iorrana Joyce, Raquel Cavalcante, Maria Ariele,

Thereza Martins, Isabela Tavares, pelos conhecimento compartilhado e por todos os momentos de descontração.

Ao Laboratório de Microbiologia Ambiental e de Pescados (LAMAP), por todos os aprendizados, todas as conexões e por fazer ciência com propriedade, muito obrigada por tudo.

Ao curso de Ciências Ambientais e todo o corpo docente.

Ao Instituto de Ciências do Mar (Labomar) da Universidade Federal do Ceará.

“O mundo acaba em plástico e o plástico fica.” (Don L, 2013).

## RESUMO

As cidades costeiras sofrem com o aumento populacional desordenado com a falta de saneamento básico como um dos grandes problemas ambientais e de saúde pública. O lançamento de esgotos sanitários é um dos tipos mais comuns de poluição dos oceanos e as galerias pluviais são vetores pontuais dessa contaminação em cidades costeiras. Por disposição inadequada, estima-se que 80% dos resíduos plásticos provenientes do ambiente terrestre, tem o oceano como destino final. No ambiente, esses resíduos plásticos são degradados e se tornam microplásticos (MPs). Sabe-se que nos ambientes aquáticos essas partículas são rapidamente colonizadas por microrganismos que formam biofilmes em suas superfícies. Isso torna os MPs hospedeiros e dispersores de microrganismos potencialmente patogênicos. Desse modo, este trabalho buscou estudar a presença de bactérias entéricas aderidas aos microplásticos presentes na água e na areia da saída de galerias pluviais, na orla de Fortaleza/Ceará. Foi realizada uma coleta em três galerias pluviais: Galeria pluvial da Av. Rui Barbosa (P1), Galeria pluvial do espigão da Av. Desembargador Moreira (P2) e Galeria pluvial do Riacho Maceió (P3). Foram coletadas amostras de água e areia molhada nas saídas dessas galerias. Um volume de 5 litros de água foi filtrado em cada ponto para separação de partículas de MPs. Uma amostra de água foi coletada separadamente para análise de colimetria. Na areia, a separação do microplástico foi feita por diferença de densidade utilizando água do mar. As micropartículas plásticas separadas das amostras foram submetidas a agitação em solução (Tween 80 1% + Pirofosfato de Sódio 1%) para desagregar as células bacterianas. O lavado foi inoculado em meio seletivo Ágar MacConkey e das colônias crescidas foram feitos isolamentos para identificação através de teste IMVIC e antibiograma. Após processamento, os MPs foram lavados e secos para posterior identificação. Número Mais Provável (NMP) de bactérias *Escherichia coli* em 100mL de água foi de 1.600 nos três pontos amostrados. Foram isoladas sessenta estirpes crescidas em meio seletivo, com morfologia de Gram-negativas. Cinquenta e seis permaneceram viáveis para os testes bioquímicos. As bactérias foram identificadas como membros da família Enterobacteriaceae e pertencentes aos gêneros: *Citrobacter*, *Yersinia*, *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Escherichia* e *Citrobacter*. Os isolados de bactérias entéricas apresentaram resistência ao Ácido nalidíxico, Ceftazidima, Nitrofurantoína e Amoxicilina + Ácido clavulânico. Na identificação das

partículas de microplástico foram verificadas fibras sintéticas, fragmentos plásticos e um *pellet*. Ficou caracterizada a presença de enterobactérias agregadas a microfragmentos plásticos dispersos no ambiente costeiro pelo deságue das galerias pluviais e o papel no transporte e proteção de patógenos potenciais e genes de resistência através dos corpos hídricos até o ambiente marinho. Estudos futuros sobre dispersão de bactérias entéricas e resistência a antimicrobianos devem considerar a influência e consequência dessas interações nos ecossistemas costeiro e marinho.

**Palavras-chave:** contaminação costeira; agregados microbianos; polímeros sintéticos; coliformes.

## ABSTRACT

Coastal cities face disorderly population growth with the lack of basic sanitation as one of the major environmental and public health problems. The discharge of sewage is one of the most common types of oceanic pollution and storm drains are specific vectors of this contamination in coastal cities. Due to inadequate disposal, it is estimated that 80% of plastic waste in the terrestrial environment ends up in the ocean. In the environment, these plastic wastes are degraded and become microplastics (PMs). It is known that in aquatic environments these particles are quickly colonized by microorganisms that form biofilms on their surfaces. This makes MPs hosts and dispersers of potentially pathogenic microorganisms. Thus, this work aimed to study the presence of enteric bacteria adhered to microplastics present in water and sand at the outlet of storm sewers, on the edge of Fortaleza/Ceará. The collections were carried out in three storm sewers: on Av. Rui Barbosa (P1), Av. Desembargador Moreira (P2) and Riacho Maceió storm sewers (P3). Samples of water and wet sand were collected at the outlets of these storm sewers. Five liters of water was filtered at each point to separate MPs particles. One water sample was collected separately for colimetry analysis. In the sand samples, the separation of the microplastic was done by density difference using sea water. The plastic microparticles separated from the samples were subjected to agitation in solution (Tween 80 1% + Sodium Pyrophosphate 1%) to disaggregate the bacterial cells. The washing was inoculated on MacConkey Agar selective medium and the grown colonies were isolated for identification through the IMVIC test and antibiogram. After processing, the MPs were washed and dried for further identification. Most Probable Number (MPN) of *Escherichia coli* bacteria in 100mL of water was 1,600 at the three sampled points. Sixty strains grown in selective medium, with Gram-negative morphology, were isolated. Fifty-six remained viable for biochemical tests. The bacteria have been identified as members of the Enterobacteriaceae family and belonging to the genera: *Citrobacter*, *Yersinia*, *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Escherichia* e *Citrobacter*. Enteric bacteria isolates showed resistance to nalidixic acid, ceftazidime, nitrofurantoin and amoxicillin + clavulanic acid. In the identification of microplastic particles, synthetic fibers, plastic fragments and a pellet were verified. The presence of enterobacteria aggregated to plastic microfragments dispersed in the coastal environment by the drainage of storm

sewers and their role in the transport and protection of potential pathogens and resistance genes through water bodies to the marine environment was evidenced. Future studies on enteric bacterial dispersion and antimicrobial resistance should consider the ecological influence and consequences on coastal and marine ecosystems.

**Keywords:** coastal contamination; microbial aggregates; synthetic polymers; coliforms.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Localização dos pontos de coleta de água e areia nas galerias pluviais na orla de Fortaleza (Ceará).....	25
Figura 2	– Mapa de localização das galerias pluviais na orla de Fortaleza (Ceará).....	25
Figura 3	– Fluxograma do panorama geral da metodologia de coleta e análise de micropartículas plásticas em água e areia na saída de galerias pluviais na orla de Fortaleza (Ceará).....	26
Figura 4	– Processo de filtragem de água coletada na desembocadura do Riacho Maceió.....	27
Figura 5	– Ilustração da delimitação de quadrante para coleta de areia.....	27
Figura 6	– Processo de recuperação de microplásticos das amostras de água, desagregação das bactérias, inoculação em meio de cultura e contagem de bactérias.....	29
Figura 7	– Processo de recuperação de microplásticos das amostras de areia, desagregação das bactérias, inoculação em meio de cultura e contagem de bactérias.....	30
Figura 8	– Coloração de Gram para observação microscópica.....	31
Figura 9	– Método de Difusão de Disco de Kirby Bauer para Teste de Suscetibilidade a Antibióticos.....	34
Figura 10	– Identificação de microplásticos em microscópio óptico por galeria pluvial: A.Fibra sintética azul (P3); B.Fibra sintética amarela (P3); C. <i>Pellet</i> transparente (P3); D.Fragmento plástico branco, rosa, azul, amarelo e verde (P3).....	43
Figura 11	– Identificação de microplásticos em microscópio óptico por galeria pluvial: A.Fibras sintéticas transparentes e vermelha (P3); B.Fragmento plástico rosa e branco (P3); C.Fibras sintéticas	44

transparentes e amarela (P3); D.Fragmento plásticos transparente (P3).....

Figura 12 – Identificação de microplásticos em microscópio óptico por galeria pluvial: A.Fibra sintética azul (P2); B.Fibra sintética preta (P1); C.Fragmento verde (P2); D.Fibra sintética transparente (P2)..... 44

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Detalhamento e indicação de resultados da bateria de testes IMViC para identificação de bactérias do grupo coliformes.....	32
Tabela 2	- Categorias usadas para descrever microplásticos.....	34
Tabela 3	- Número mais provável (NMP) de <i>Escherichia coli</i> 100mL em amostras de água da Galeria da Av. Rui Barbosa (P1), Galeria da Av. Desembargador Moreira (P2) e desembocadura do Riacho Maceió (P3), em Fortaleza-Ceará.....	35
Tabela 4	- Contagem padrão em placas de bactérias crescidas nos meios de cultura Ágar PCA (não seletivo) e Ágar MacConkey (seletivo diferencial) a partir de material agregado a partículas de plástico presentes em água e areia na saída de galerias pluviais na orla de Fortaleza, Ceará.....	36
Tabela 5	- Identificação de estirpes bacterianas por teste IMViC quanto a número e porcentagem.....	37
Tabela 6	- Susceptibilidade de estirpes bacterianas isoladas de microplásticos (água e areia) frente aos antibióticos testados.....	38
Tabela 7	- Perfis de suscetibilidade a antibióticos das estirpes bacterianas isoladas a partir de material agregado a partículas de microplástico presentes em água na saída de galerias pluviais na orla de Fortaleza, Ceará.....	39
Tabela 8	- Perfis de suscetibilidade a antibióticos das estirpes bacterianas isoladas a partir de material agregado a partículas de microplástico presentes em areia molhada na saída de galerias pluviais na orla de Fortaleza, Ceará.....	40
Tabela 9	- Multirresistência de estirpes bacterianas quanto à sua origem (água ou areia) aos antibióticos testados.....	41
Tabela 10	- Caracterização de microplásticos de águas provenientes de galerias pluviais da orla de Fortaleza/Ceará.....	42

Tabela 11 – Tipos de microplásticos por ocorrência nas galerias pluviais da orla de Fortaleza-Ceará.....	42
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMC	Amoxicilina + Ácido Clavulânico
ARGs	Genes de resistência a antibióticos
CAZ	Ceftazidima
EPS	Substância Polimérica Extracelulares
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
NIT	Nitrofurantoína
Lac +	Lactose positiva
Lac -	Lactose negativa
LAMAP	Laboratório de microbiologia ambiental e do pescado
LST-MUG	Lauril Sulfato Triptose
MPs	Microplásticos
NAL	Ácido Nalidíxico
NMP	Número Mais Provável
ODS	Objetivos do Desenvolvimento Sustentável
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCA	Ágar padrão para contagem
RAM	Resistência bacteriana
SNIS	Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento
TSA	Ágar Triptona de Soja

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>21</b>
<b>2.1</b>	<b>Produção e rota dos plásticos e microplásticos</b> .....	<b>21</b>
<b>2.2</b>	<b>Microplásticos como vetores de bactérias patogênicas em ambientes aquáticos</b> .....	<b>22</b>
<b>2.3</b>	<b>Características gerais das enterobactérias</b> .....	<b>23</b>
<b>2.4</b>	<b>Resistência antibiótica</b> .....	<b>23</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
<b>3.1</b>	<b>Pontos de coleta</b> .....	<b>25</b>
<b>3.2</b>	<b>Procedimento da coleta</b> .....	<b>26</b>
<b>3.3</b>	<b>Colimetria</b> .....	<b>27</b>
<b>3.4</b>	<b>Processamento de amostras e inoculação de estirpes</b> .....	<b>28</b>
<b>3.4.1</b>	<i>Recuperação de microplásticos na água e inoculação de enterobactérias</i> .....	<b>28</b>
<b>3.4.2</b>	<i>Recuperação de microplásticos na areia e inoculação de enterobactérias</i> .....	<b>29</b>
<b>3.5</b>	<b>Isolamento de estirpes</b> .....	<b>30</b>
<b>3.6</b>	<b>Identificação de estirpes</b> .....	<b>30</b>
<b>3.6.1</b>	<i>Técnica de coloração de Gram</i> .....	<b>31</b>
<b>3.7</b>	<b>Testes bioquímicos</b> .....	<b>31</b>
<b>3.8</b>	<b>Antibiograma</b> .....	<b>33</b>
<b>3.9</b>	<b>Caracterização de microplásticos</b> .....	<b>34</b>

<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>35</b>
<b>4.1</b>	<b>Colimetria.....</b>	<b>35</b>
<b>4.2</b>	<b>Contagem padrão em placas.....</b>	<b>35</b>
<b>4.3</b>	<b>Estirpes selecionadas.....</b>	<b>36</b>
<b>4.4</b>	<b>Testes bioquímicos (IMViC).....</b>	<b>37</b>
<b>4.5</b>	<b>Teste de sensibilidade aos antibióticos.....</b>	<b>38</b>
<b>4.6</b>	<b>Identificação de microplásticos.....</b>	<b>42</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>45</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>46</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Aproximadamente um terço da população brasileira vive no litoral. As cidades litorâneas do Brasil muitas vezes não possuem infraestrutura suficiente de saneamento básico. Mesmo quando essas instalações estão presentes, os sistemas existentes são ineficientes, especialmente relativos à recolha e tratamento de esgotos domésticos (Ambrozevicius; Abessa, 2008). Dados do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS) apontam que o país ainda tem grandes dificuldades com o tratamento do esgoto, do qual somente 50,8% do volume gerado é tratado. Assim, na maior parte das cidades litorâneas brasileiras, o esgoto doméstico, as águas de drenagem urbana, e mesmo os efluentes industriais são descarregados, com pouco ou nenhum tratamento, diretamente para lagoas costeiras, rios, riachos, estuários e mar (Ambrozevicius; Abessa, 2008). Juntamente com a grande massa populacional e o crescimento desordenado, as zonas costeiras sofrem com a falta de saneamento básico, que corresponde aos seguintes serviços, abastecimento de água, esgotamento sanitário, limpeza urbana, drenagem urbana, manejos de resíduos sólidos e de águas pluviais que são garantidos pela Constituição Federal e instituído pela Lei nº. 11.445/2007.

Atualmente, a poluição plástica é uma questão de forte relevância, tanto do ponto de vista socioeconômico quanto ambiental, uma vez que suas propriedades, como: alta durabilidade, impermeabilidade, transparência, leveza, maleabilidade e baixo custo, justificam sua utilização nos mais diversos setores da sociedade contemporânea (Thompson et al., 2009). Em contraste, o consumo exacerbado desse polímero vem sendo motivo de crescente inquietação ecológica devido a geração de grandes quantidades de resíduos (Derraik, 2002). Os microplásticos (MPs) são partículas que variam de 5 mm a 1 mm, podem ser encontradas nas formas de *pellets*, microesferas e fibras sintéticas. São classificados em primário, quando são de origem industrial e, secundário, quando são degradados e fragmentados de resíduos microplásticos (Gimiliani, 2021).

No momento atual, os microplásticos representam uma parte grande e crescente da poluição global que se caracteriza pela grande quantidade, ampla distribuição e impactos em diferentes níveis nos ecossistemas (Wang; Guo; Xue, 2021).

Além do efeito poluidor direto na biota e ecossistemas, os resíduos de

plástico podem atuar como vetores de poluentes. No ambiente eles podem ser colonizados por microrganismos formando comunidades chamadas biofilmes. No meio aquático, essa bioincrustação tem a capacidade de aumentar a densidade dos MPs, facilitando a passagem dessas partículas para as camadas mais profundas da coluna d'água e para o sedimento. Em contrapartida, o desprendimento do biofilme (desincrustação) favorece que os MPs retornem a interface água-ar (Wagner et al., 2018).

Essa performance permite a distribuição desses elementos em diversos locais das camadas superficiais e em profundidades distintas, em momentos diferentes ao longo do seu tempo de vida, sendo encontrados em galerias pluviais e esgotos, podendo levar a maiores riscos para a saúde humana e ambiental, em escala global (Naik et al., 2019; Rummel et al., 2017; Kirstein et al., 2016).

Entre esses riscos, recentemente, o papel dos MPs na disseminação de resistência bacteriana a antibióticos tem atraído bastante atenção (Kaur et al., 2022; Pham et al., 2021; Wu et al., 2019). Visto que, apenas no ano de 2019, a resistência a antibióticos foi a causa de 1,27 milhões de mortes em todo mundo. Destas, mais de meio milhão foram acarretadas por infecções ocasionadas por enterobactérias resistentes a antibióticos (Antimicrobial Resistance Collaborators et al., 2022).

Diante dessa ameaça à saúde mundial, a Organização Mundial de Saúde (OMS) listou microrganismos patogênicos prioritários para desenvolvimento de novos antibióticos, entre os quais as enterobactérias resistentes a fluoroquinolonas e produtoras de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido (ESB) estavam listadas (OMS, 2017). Assim sendo, compreender a função desempenhada dos MPs na disseminação de poluentes e o papel deles na propagação de resistência bacteriana a antibióticos tem relevância sob a abordagem da "saúde única" (One Health) que reconhece a conexão entre a saúde humana, animal e ambiental (Prata et al., 2021).

Considerando todas essas questões, este trabalho teve como objetivo estudar a presença e caracterizar bactérias entéricas aderidas a micropartículas de plásticos oriundos de galerias pluviais na orla de Fortaleza-Ceará.

Acerca dos objetivos específicos, cita-se:

1. Isolar micropartículas de plástico da água e areia molhada na desembocadura de três galerias pluviais;
2. Desagregar e isolar bactérias entéricas das micropartículas;
3. Identificar bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae;

4. Estabelecer perfis de resistência a antibióticos entre as estirpes de enterobactérias;
5. Identificar e categorizar as partículas de microplásticos.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Produção e rota dos plásticos e microplásticos

O lançamento de esgotos sanitários é um dos tipos mais comuns de poluição dos oceanos, seja por meio de poluição difusa nos cursos d'água, seja por meio de emissários submarinos que constituem-se em fontes pontuais desse tipo de poluição. Os possíveis impactos ambientais gerados por esses lançamentos são, por exemplo, além da contaminação microbiológica, o acréscimo de matéria orgânica no meio marinho, o aumento da turbidez e o enriquecimento por nutrientes podendo levar à eutrofização (Lamparelli, 2006).

A poluição devido ao uso de plástico e microplástico é uma das problemáticas mais preocupantes enfrentadas atualmente. Levando em consideração as práticas recentes de uso e gerenciamento de resíduos sólidos é avaliado que as descargas de plástico nos ecossistemas aquáticos possam atingir 90 milhões de toneladas por ano, até o ano de 2030 (Borrelle et al., 2020).

Esse material quando exposto à ação mecânica, foto-degradação e/ou biodegradação formam os microplásticos (partículas de plástico com tamanho que podem variar de 1 a 5000  $\mu\text{m}$ ). Esses polímeros são também produzidos como matéria-prima para diversas aplicações em várias indústrias (Frias; Nash, 2019).

Aproximadamente 80% dos resíduos de plástico provém do ambiente terrestre, porém, devido sua disposição inadequada é sabido que o destino final majoritário desses materiais é o oceano (Kataoka et al., 2019). Como exemplo, as Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) recebem milhões de MPs todos os dias (Sol et al., 2020). Apesar de diversas vezes serem removidos mais de 90% dos MPs (Hidayaturrahman; Lee, 2019; Sol et al., 2020), a grande quantidade de efluentes lançados diariamente resulta em altos volumes de MPs que chegam no ambiente marinho. Como consequência, existem, na atualidade, pelo menos cinco grandes ilhas de plásticos nos oceanos (Park et al., 2020). São toneladas de resíduos plásticos flutuantes concentrados nos vórtices oceânicos, causando danos inestimáveis ao ecossistema, principalmente marinho.

## **2.2 Microplásticos como vetores de bactérias patogênicas em ambientes aquáticos**

Microplásticos em ambientes aquáticos são rapidamente colonizados por microrganismos que formam biofilmes em suas superfícies (Salta et al., 2013; Zettler et al., 2013). A formação de biofilmes inclui três estágios: (1) a adesão do microrganismo a superfície do sólido, (2) a secreção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS), e (3) a proliferação dos microrganismos (Tu et al., 2020; Katakya et al., 2018; Palmer, 2007).

Ao entrar em contato com o ambiente, a sorção dos poluentes tem a capacidade de potencializar riscos relacionados à ingestão de forma acidental dos MPs pela biota, passando a ter efeitos não somente físicos (obstrução do sistema digestivo, conseqüentemente, sufocamento e estresse), mas também causando danos fisiológicos, como: mudanças hormonais, alteração na produção de enzimas, reprodução e crescimento, que devem estar relacionados aos altos níveis de degradação dos corpos hídricos (Wright; Kelly, 2017).

Além disso, os MPs podem se comportar como potenciais transportadores de microrganismos, inclusive de indivíduos patogênicos, por meio da produção de biofilme na sua superfície (Naik, et al., 2019). A presença dessas comunidades muda as propriedades dos MPs, como por exemplo, densidade, rugosidade e tamanho, o que pode influenciar as suas rotas (Tu et al., 2020).

É sabido que os MPs com biofilmes aderidos possuem maior afinidade por poluentes em comparação com os não colonizados (Wang et al., 2020). Desse modo, essa bioincrustação pode acarretar em uma diversidade de problemas, devido a transferência dos indivíduos acoplados e dos poluentes para o meio ambiente e para outros organismos (Rosato et al., 2020). Além disso, os MPs possuem a capacidade de adsorver resíduos de antibióticos, identificados por terem uma função na resistência antibiótica (Arias-Andres et al., 2019; Silva et al., 2021). De acordo com Yu et al. (2022), há uma taxa mais elevada de transferência horizontal de genes de resistência a antibióticos (ARGs) entre essas bactérias específicas pertencentes ao biofilme.

### 2.3 Características gerais das enterobactérias

Enterobacteriaceae é uma família que comporta bactérias com morfologia de bacilos Gram negativos, que habitam comumente o trato gastrointestinal de humanos e animais. Elas podem ser móveis ou sem motilidade, dependendo da espécie, e aeróbias ou anaeróbias em crescimento, e têm uma preferência por habitar o trato gastrointestinal (Brandão, 2019).

Enterobacteriaceae é uma complexa família sob o ponto de vista taxonômico, que inclui 51 gêneros de acordo com “LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature” (Parte et al., 2020). Muitos desses gêneros têm uma íntima associação como comensais de animais (incluindo humanos), sendo parte da microbiota do intestino. No entanto, diversas variantes patogênicas, associadas com infecções, doenças e síndromes, podem ser reconhecidas. Nesse contexto, o melhor exemplo é a *Escherichia coli*. A vasta maioria da população de *E. coli* em humanos têm um papel comensal e é adaptado para colonizar o hospedeiro sem causar doença. Membros dessas famílias têm sido encontrados em solo, habitats aquáticos e associados com vegetação (Madhaiyan, et al., 2020).

As galerias pluviais como vetores de contaminação por esgoto doméstico já foram amplamente relatadas, tendo os coliformes pertencentes à família das enterobacteriaceae como principal indicador (Vieira et al., 2001;Vieira et al., 2002; Cardonha et al., 2004). A existência de enterobactérias em corpos hídricos, além de indicar contaminação de origem fecal, representa um risco para a saúde pública (Trabulsi et al., 2005).

### 2.4 Resistência antibiótica

Denominados agentes antimicrobianos, os antibióticos são medicamentos que inibem ou cessam o crescimento de bactérias utilizados no tratamento de infecções em humanos e animais. Os antibióticos agem em cinco alvos principais: biossíntese da parede celular, síntese protéica, biossíntese de ácidos nucleicos (RNA e DNA), metabolismo do ácido fólico e alterações na permeabilidade da membrana celular (Kohanski; Dwyer; Collins, 2010).

Existem mais de 15 classes diferentes de antibióticos com estrutura química e modo de ação diferente. É possível que um antibiótico seja eficaz contra

diversas bactérias ou apenas uma. As bactérias resistentes à maioria dos antimicrobianos são conhecidas como multirresistentes (Gorrasi et al., 2021).

A resistência bacteriana (RAM) a antibióticos é apontada como um dos principais e mais preocupantes problemas de saúde pública global do último século. Essa problemática exige ação multissetorial urgente para que se consiga atingir os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS). A OMS comunicou que a RAM é uma das 10 principais ameaças globais à saúde pública enfrentadas pela humanidade. O custo econômico da RAM é bastante significativo. Pois, além de morte e incapacidade, doenças prolongadas tornam as internações hospitalares mais longas, há a necessidade do uso de remédios mais caros e maiores desafios financeiros para os afetados (WHO, 2017/2021).

O ecossistema marinho rege uma vasta diversidade de espécies de bactérias que naturalmente carregam genes envolvidos com a RAM. Deste modo, o mar é um potencial reservatório de bactérias resistentes (Donia; Hamann, 2003; Hatosy; Martiny, 2015). Apesar dessa riqueza oceânica natural, outros fatores, como: descarte inadequado de efluentes, o escoamento impróprio de resíduos químicos e, em especial, a presença residual de antibióticos advindos do despejo de esgotos e dejetos hospitalares; da aquicultura; da agricultura e pecuária têm colaborado para a pressão seletiva de bactérias resistentes (Barcelos et al., 2016).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Pontos de coleta

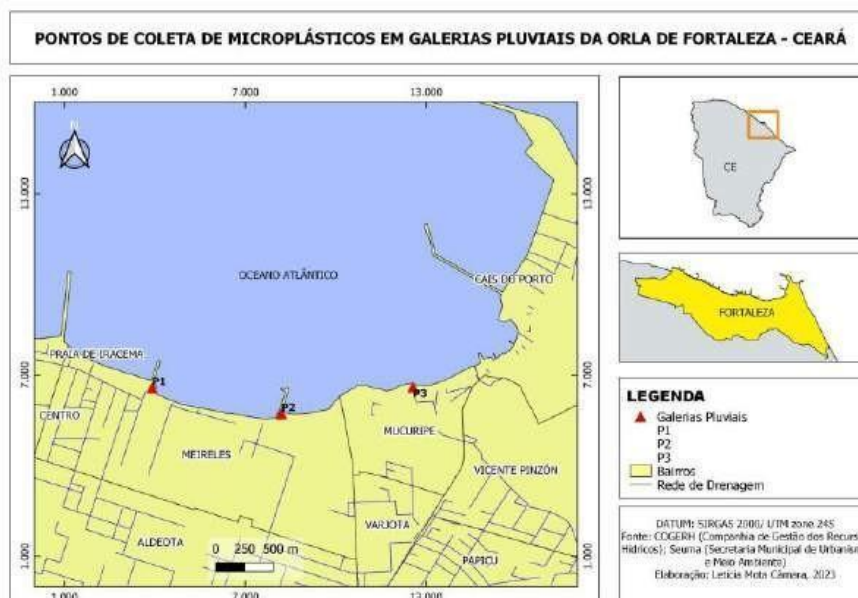
A coleta foi realizada em três galerias pluviais: Galeria pluvial da Av. Rui Barbosa (P1), Galeria pluvial do espigão da Av. Desembargador Moreira (P2) e Galeria pluvial do Riacho Maceió (P3). (Figuras 1 e 2).

Figura 1 - Localização dos pontos de coleta de água e areia nas galerias pluviais na orla de Fortaleza (Ceará)



Fonte: Autora, 2023

Figura 2 - Mapa de localização das galerias pluviais na orla de Fortaleza (Ceará)

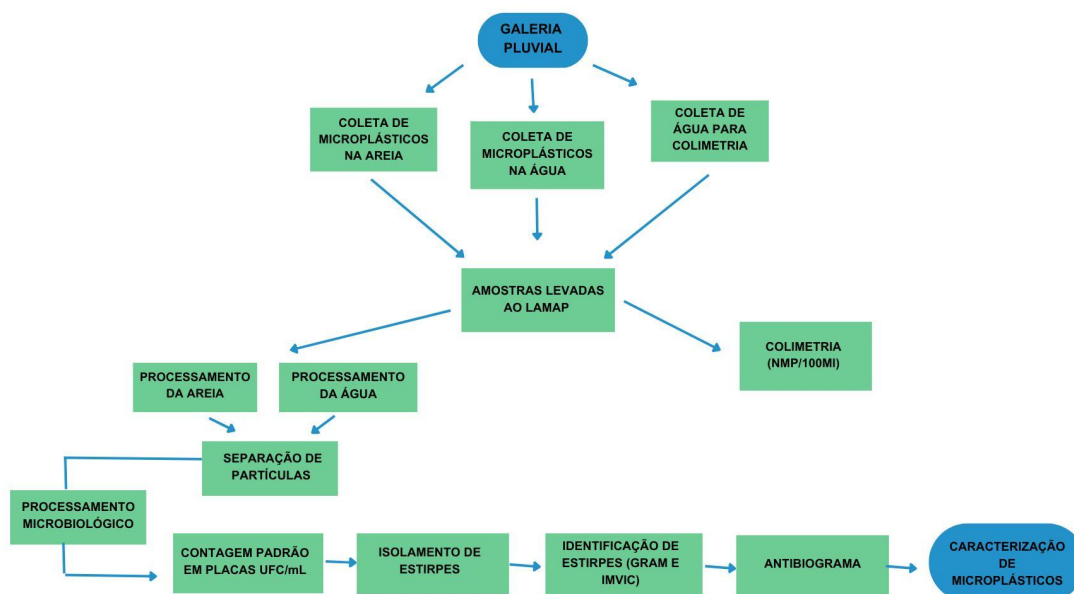


Fonte: Autora, 2023

### 3.2 Procedimento da coleta

Foi realizada uma coleta, na data 21/03/2023, às 09:30h, em baixar-mar, no período chuvoso. Na qual foi coletada água e areia, em frente às três galerias mostradas na Figura 3.

Figura 3 - Fluxograma do panorama geral da metodologia de coleta e análise de micropartículas plásticas em água e areia na saída de galerias pluviais na orla de Fortaleza (Ceará)



Fonte: Autora, 2023

Na amostragem a água foi coletada usando garrafa âmbar estéril com capacidade de 1L. Para obtenção dos resíduos plásticos, foi realizada uma filtragem na água de cada ponto. O líquido (5 L) foi captado na saída da galeria com auxílio de baldes de metal lavados e higienizados (um para cada galeria) e, em seguida, passado em peneira de metal adaptada com um tecido de poliamida (100% nylon) de 20 micra de abertura. (Figura 4).

Uma amostra de água foi coletada, em separado, em recipiente de vidro âmbar e transportada até o laboratório para análise de colimetria.

Na amostragem da areia, uma área de 1m<sup>2</sup> foi delimitada e dividida em quadrantes (Figura 5). Com o auxílio de uma espátula de metal esterilizada foram coletados vários pontos de areia superficial formando uma amostra composta. O material foi armazenado em sacos tipo ziploc. As amostras foram transportadas até o Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP), localizado no

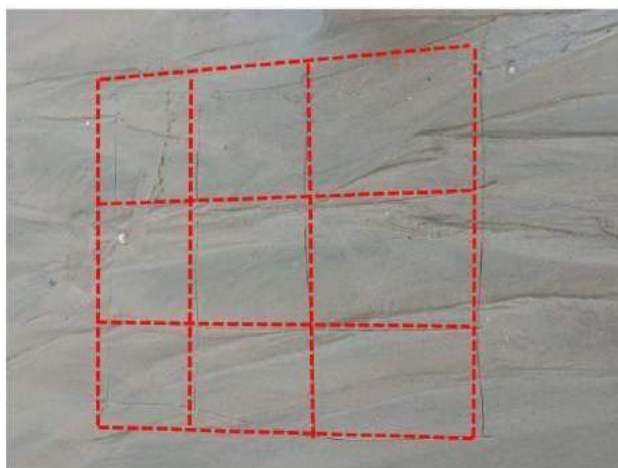
Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Figura 4 - Processo de filtragem de água coletada na desembocadura do Riacho Maceió



Fonte: Autora, 2023

Figura 5 - Ilustração da delimitação de quadrante para coleta de areia



Fonte: Autora, 2023

### 3.3 Colimetria

O caldo Lauril Sulfato Triptose (LST-MUG) foi utilizado para detectar *E. coli* em amostras. A água coletada em garrafa âmbar de 1L foi utilizada para diluições seriadas (5 tubos por diluição  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$ ), sendo transferido 1mL para cada tubo contendo tubo de Durham invertido. Após a inoculação, os tubos foram incubados por 24h a 35°C. Posteriormente, a positividade do teste foi vista pela turvação do meio e produção de gás, também, pela emissão de fluorescência a

exposição a luz UV (365 nm) (Feng et al., 2020).

O teste estima o número de bactérias *E. coli* por mililitro da amostra (número mais provável - NMP). Onde, contou-se a quantidade de tubos positivos para analisar, buscando selecionar três tubos positivos com menores diluições, para garantir uma boa aproximação de NMP. Os resultados considerados foram analisados segundo a tabela para cinco tubos. (Blodgett, 2020).

### 3.4 Processamento de amostras e inoculação de estirpes

#### 3.4.1 Recuperação de microplásticos da água e inoculação de enterobactérias

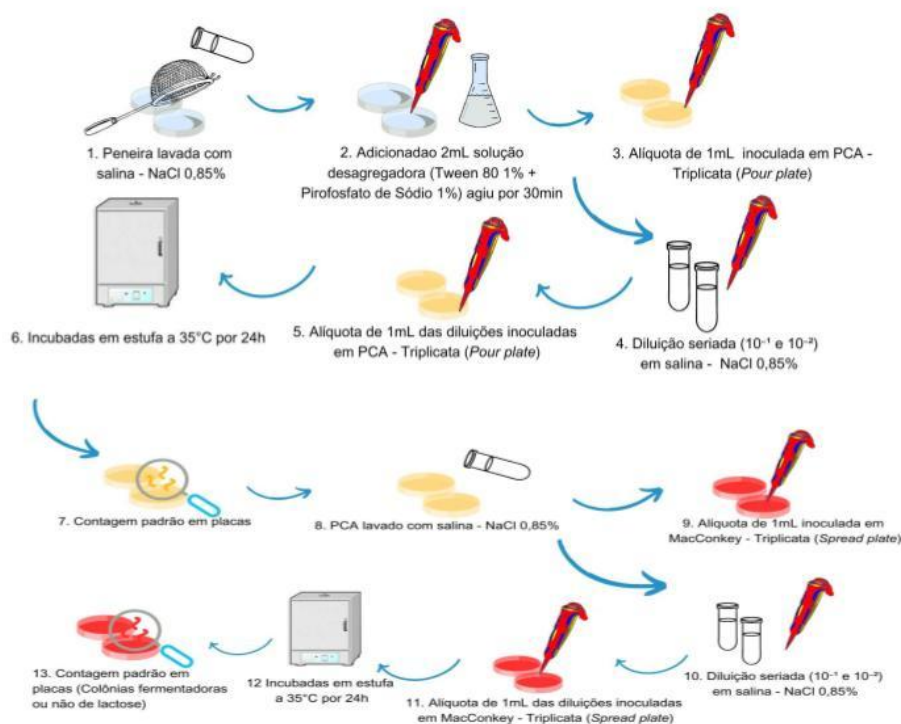
Após a coleta, as amostras foram transportadas para o Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado - LAMAP, onde o material retido nas peneiras foi lavado sequencialmente com salina 0,85% NaCl para recuperação em placas de Petri. Em seguida, 2mL de solução desagregadora (Tween 80 1% + Pirofosfato de Sódio 1%) foi adicionado e deixado em contato com o material por 30 minutos. Passado esse tempo, foram feitas diluições seriadas em solução salina 0,85% ( $10^{-1}$  e  $10^{-2}$ ). Alíquotas de 1 mL foram inoculadas em meio ágar PCA, em triplicata por meio da técnica de *Pour plate*. As placas inoculadas foram incubadas em estufa a 35°C por 24h. As UFCs foram contadas e as placas com crescimento foram lavadas com solução salina. O material recuperado foi diluído, com aproximadamente 8 mL de salina NaCl 0,85% e inoculado na superfície do meio ágar MacConkey com a técnica *Spread plate*. Após incubação por 24h a 35°C foi feita contagem diferencial de colônias com características de fermentadoras ou não de lactose (Lac + e Lac -), como mostra a Figura 6. Essa contagem foi realizada por meio da seguinte equação (Vieira, 2004):

$$N^{\circ} UFC = * MCC \times 1/diluição \times fator de correção$$

\*MCC: média da contagem de colônias

Depois da contagem foram selecionadas colônias para isolamento. Após processamentos, as partículas de plástico foram lavadas e secas a 60°C e mantidas em placas de Petri até a identificação.

Figura 6 - Processo de recuperação de microplásticos das amostras de água, desagregação das bactérias, inoculação em meio de cultura e contagem de bactérias



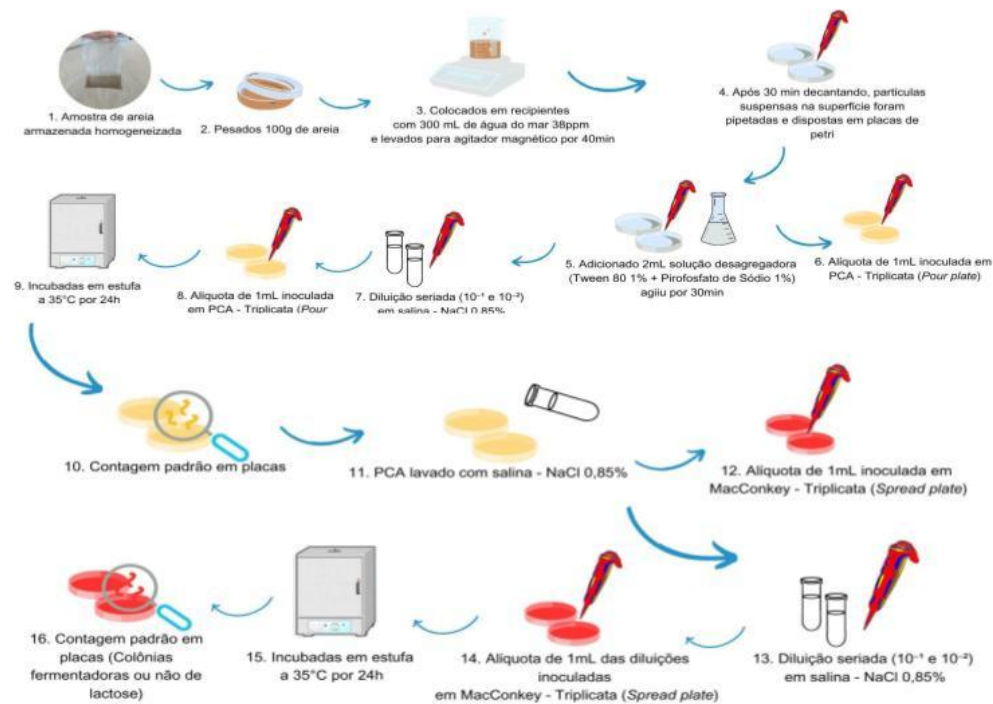
Fonte: Autora, 2023

### 3.4.2 Recuperação de microplásticos na areia e inoculação de enterobactérias

A separação do microplástico foi feita por diferença de densidade utilizando água do mar (Montagner et al., 2021). Em detalhes, as amostras de areia armazenadas foram homogeneizadas e pesadas 100g em placas de petri de vidro. Depois, cada amostra foi colocada em recipiente de vidro com 300ml de água do mar 38 ppm. Em seguida, adicionou-se barras de agitação magnética e colocadas em placa agitadora por 40 minutos. Então permaneceram em repouso por 30 minutos para decantar as partículas em suspensão. Passado esse tempo, 1ml da camada superficial da amostra foi pipetado e usado para fazer diluições seriadas ( $10^{-1}$  e  $10^{-2}$ ). Alíquotas foram inoculadas pela técnica de *Pour plate* em meio Ágar PCA e incubadas em estufa de 35°C por 48h. As UFCs foram contadas e as placas com crescimento foram lavadas com solução salina 0,85% e inoculada na superfície do meio Ágar MacConkey seguindo os mesmos passos das amostras de água já descritas, segundo a Figura 7.

Após processamento, também foram selecionadas estirpes para isolamento e as partículas de plástico foram lavadas e secas a 60°C e mantidas em placas de Petri até a identificação.

Figura 7 - Processo de recuperação de microplásticos das amostras de areia, desagregação das bactérias, inoculação em meio de cultura e contagem de bactérias



Fonte: Autora, 2023

### 3.5 Isolamento de estirpes

Sessenta estirpes foram selecionadas, trinta oriundas da água e trinta da areia, a partir do meio Ágar MacConkey. Nesse meio de cultura as bactérias entéricas se mostram rosadas, pela fermentação da lactose, já as não fermentadoras apresentam colônias incolores. Para este trabalho, as colônias fermentadoras de lactose foram prioritariamente isoladas.

### 3.6 Identificação de estirpes

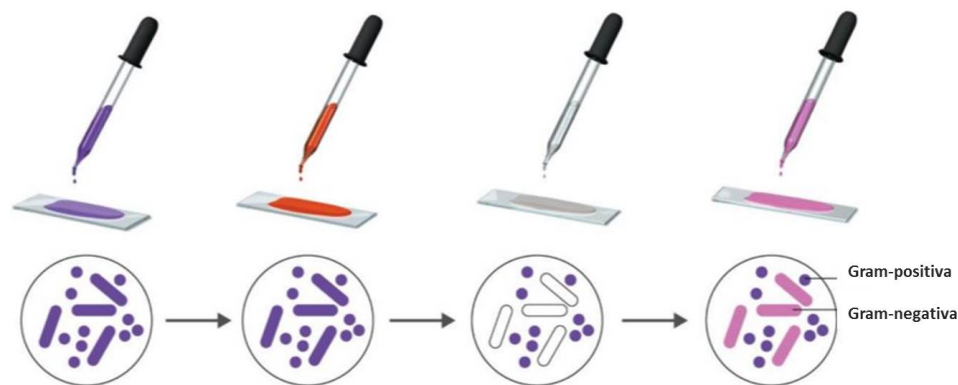
As colônias selecionadas foram pescadas e inoculadas em meio TSA, meio não seletivo, e incubadas por 24h a 35°C para crescimento, isolamento e

caracterização através da técnica de coloração de Gram e de testes bioquímicos (IMViC).

### 3.6.1 Técnica de coloração de Gram

Para a caracterização das paredes celulares (bactérias Gram positivas e Gram negativas), classificação da morfologia celular e comprovação da pureza das células foi realizada a técnica de coloração de Gram (Levy, 2004), como mostrado na Figura 8. Para este trabalho buscou-se bactérias Gram negativas com morfologia de bastonetes de variados tamanhos.

Figura 8 - Coloração de Gram para observação microscópica



Fonte: KASVI, 2023

### 3.7 Testes bioquímicos

A identificação dos membros da família Enterobacteriaceae requer alguns testes bioquímicos, para o presente trabalho foram utilizados os testes Indol, Vermelho de metila, Voges-proskauer, Citrato (IMViC), também, motilidade e produção de gás sulfídrico (Leitão et al., 1971/1972). (Tabela 1).

Tabela 1 – Detalhamento e indicação de resultados da bateria de testes IMViC para identificação de bactérias do grupo coliformes

PROVAS	MEIO	PROCEDIMENTO	RESULTADOS
Motilidade	SIM	Observação visual	Crescimento em torno da picada: imóvel; turvação geral: móvel
H <sub>2</sub> S	SIM	Observação visual	Meio escuro (+) Meio inalterado (-)
Indol	SIM	Reativo de Kovacs 0,2 mL	Anel amarelo (-) Anel vermelho (+)
VM	Clark-Lubs	Solução vermelho de metila (3-5 gotas)	Cor vermelha (+) Cor amarela (-)
VP	Clark-Lubs	Alfa-naftol 0,6 mL do meio; KOH 0,2 mL do meio.	Cor vermelha (+) Ausência de cor vermelha (-)
Citrato	Citrato de Simmons	Observação visual	Cor verde (-) Cor azul (+)

Fonte: Adaptação de Thatcher; Clark, 1973

As estirpes selecionadas foram inoculadas em TSA por 24h em estufa a 35°C, identificadas como Gram negativas e puras pela técnica de coloração de Gram, foram submetidas aos testes bioquímicos.

Para o teste indol, a estirpe foi inoculada no meio SIM de forma a furar o meio, deixando uma picada. Nesse meio, obteve-se a motilidade positiva (móvel) quando houve turvação na picada e negativa (imóvel) quando houve crescimento em torno da picada. O escurecimento do meio, revelou a produção de gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S). Enfim, adicionou-se 0,2 mL do reativo de Kovacs no meio SIM, a formação de anel vermelho, revelou a positividade do resultado. Estes resultados foram obtidos após incubação em estufa a 35°C por 24h.

As estirpes foram inoculadas em dois tubos contendo 2 mL de meio Clark-Lubs, separadamente, um para Vermelho de Metila (VM) e outro para Voges-Proskauer (VP). Posterior a incubação por 24h, foi adicionado 1,2 mL do reativo de Barrit I (alfa-naftol), para cada 1 mL é adicionado 0,6 mL, então é agitado bem e adicionado 0,2 mL de reativo II de Barrit (KOH), também foi agitado bem e deixado de repouso em temperatura ambiente, de 15 a 30 minutos. O aparecimento de coloração rósea no meio, começando na superfície, indicou VP positivo e ausência de cor indicou VP negativo. Passadas 72h, foi adicionada de 3 a 5 gotas de solução vermelho de metila nos outros tubos referentes ao VM, a presença de

coloração vermelha indica VM positivo e a coloração amarela negativo.

A observação visual é o método utilizado para determinar o resultado no Citrato de Simmons, a indicação de crescimento no meio é a mudança de cor do meio, de verde para azul, o que indica um resultado positivo. Já a permanência da cor verde, indica resultado negativo. Também foi analisado após 72h de incubação na estufa a 35°C (Vieira, 2004).

### 3.8 Antibiograma

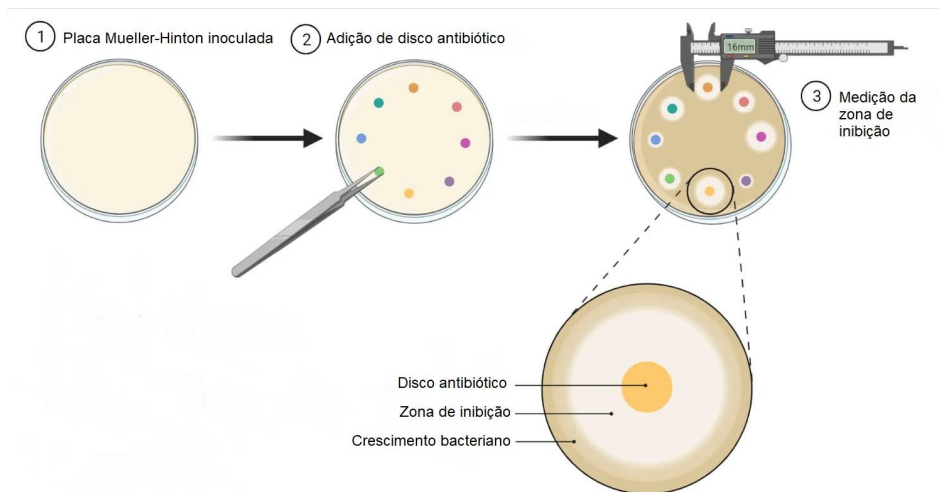
Para realizar o antibiograma as estirpes foram inoculadas em ágar TSA por 24h em estufa a 35°C, então submetidas à técnica de coloração de Gram para verificação da pureza das culturas e viabilidade para o antibiograma.

Inóculos das culturas foram diluídos em salina NaCl 0,85% e agitados em vortex para obter a concentração final próxima à escala 0,5 de Mac Farland (~10<sup>8</sup> UFC). Em seguida, levados ao espectrofotômetro para verificar a concentração em comprimento de onda de 620nm. Após atingir os valores próximos a escala, um swab era umedecido com a cultura e semeada em esfregaço sobre a superfície do ágar Mueller-Hinton. Os discos de antibióticos foram depositados com auxílio de pinça em pontos equidistantes, como mostram os passos 1 e 2 da Figura 9. Em seguida, as placas inoculadas foram incubadas por 24h a 35°C (Hudzicki, 2009).

A leitura do teste se baseou na medida do halo de inibição do crescimento bacteriano formado ao redor dos discos (CLSI, 2020). Assim como no passo 3 da Figura 9, é usado um paquímetro para medir o diâmetro do círculo em milímetros.

Foram usados discos comerciais de quatro antibióticos de classes diferentes: ácido nalidíxico (30µg), ceftazidima (30µg), nitrofurantoína(300µg) e amoxicilina + ácido clavulânico (30µg). O ácido nalidíxico pertence à família das quinolonas e é de primeira geração; ceftazidima é de terceira geração e pertencente à família das cefalosporinas; nitrofurantoína é da família dos nitrofuranos; amoxicilina + ácido clavulânico é da família das penicilinas e é de segunda geração. Os antibióticos foram escolhidos pensando no tipo de infecção que essas bactérias podem causar e se são eficientes contra bactérias Gram negativas. Deste modo, dentro dos selecionados, exceto Nitrofurantoína, que é de curto espectro, todos os outros três são de amplo espectro.

Figura 9 - Método de Difusão de Disco de Kirby Bauer para Teste de Suscetibilidade a Antibióticos



Fonte: Sharma, 2022

### 3.9 Caracterização de microplásticos

A caracterização visual foi feita como etapa primária para a triagem de amostras de partículas plásticas no ambiente (Nguyen et al., 2019). As partículas separadas das amostras foram analisadas de forma visual em microscópio estereoscópio de amplificação de 8x a 32x e caracterizadas de acordo com Ruz (2012) (Tabela 2).

Tabela 2 - Categorias usadas para descrever microplásticos

Categorias	
Fonte	Fragmento de produtos de consumo (ex. rede de pesca) e <i>pellets</i> industriais
Tipo	Fragmentos de plásticos, <i>pellets</i> , fibras, filmes plásticos, espuma de plástico, grânulos e isopor
Forma	<i>Para pellets:</i> cilíndrico, discos, plano, ovóides e esferóides <i>Para fragmentos:</i> arredondado, subarredondado, subangular, angular
Erosão	Recente, intemperizado, alteração incipiente e rachaduras de nível (fraturas conchoidais), desgastado, sulcos, superfície irregular, fragmentos irregulares, fragmentos lineares, cristas subparalelas e muito degradado
Cor	transparente, cristalino, branco, creme-claro-branco, vermelho, laranja, azul, opaco, preto, cinza, marrom, verde, rosa, bege, amarelo e pigmentado

Fonte: (Ruz, H et al.,2012)

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Colimetria

A estimativa de bactérias *Escherichia coli* expressa em NMP/100 mL foi de  $1,6 \times 10^3$  para a água das três galerias (Tabela 3). Segundo a resolução CONAMA n° 274 , de 29 de novembro de 2000, as águas são consideradas impróprias quando o valor obtido da amostragem for superior a 2000 *Escherichia coli* ou 2500 coliformes fecais ou 400 enterococos por 100 mL para cinco amostragens. No entanto, o presente estudo realizou apenas uma coleta.

Tabela 3 - Número mais provável (NMP) de *Escherichia coli*/ 100mL em amostras de água da Galeria da Av. Rui Barbosa (P1), Galeria da Av. Desembargador Moreira (P2) e desembocadura do Riacho Maceió (P3), em Fortaleza-Ceará

Galeria Av. Rui Barbosa	Galeria Av. Des. Moreira	Galeria Riacho Maceió
P1	P2	P3
1600 NMP/100mL	1600 NMP/100mL	1600 NMP/100mL

Fonte: Autora, 2023

De acordo com o estudo de Vieira (2011), nas mesmas galerias pluviais, os valores de NMP para aquele ano foram de  $2,02 \times 10^3$ ,  $2,38 \times 10^3$  e  $3,06 \times 10^3$ , o que mostra um aumento da concentração de *E.coli* nestes compartimentos. Pesquisa realizada por Dantas (2022) apresentando dados de enterococos variando de  $1,1 \times 10^5$  a  $9,2 \times 10^4$  NMP/ 100mL nas galerias P2 e P3, corroboram com fato do aumento de contaminação dessas galerias por esgotos com o passar dos anos, como também, o riacho Maceió que deságua na orla de Fortaleza comprometendo a qualidade das praias no seu uso para recreação.

### 4.2 Contagem padrão em placas

Para a contagem no MacConkey, as colônias foram divididas em lactose positivo (Lac +) e lactose negativa (Lac -), baseado nas características diferenciais das colônias sobre o meio, gerando assim duas contagens para cada triplicata. Os

valores de crescimento obtidos na contagem das colônias Lac + e Lac -, variaram de  $8,8 \times 10^5$  a  $2,3 \times 10^7$ , com P3 apresentando a maior variação. Já para os valores obtidos na contagem das BHCs, a variação foi de  $1,4 \times 10^4$  a maiores que 250 UFC/mL, como mostra a Tabela 4. O estudo de Sousa (2022) em Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) no município de Floriano - PI, apresentou valores de UFC/mL para bactérias Gram negativas em MacConkey de:  $1,11 \times 10^2$  na entrada do tratamento no início do dia; e  $1,87 \times 10^2$  na entrada do tratamento no final do dia. De forma comparativa, os valores para as galerias pluviais se mostraram maiores dos que os encontrados na ETE, isso pode indicar que há maior contaminação fecal nas galerias pluviais.

Tabela 4 - Contagem padrão em placas de bactérias crescidas nos meios de cultura Ágar PCA (não seletivo) e Ágar MacConkey (seletivo diferencial) a partir de material agregado a partículas de plástico presentes em água e areia na saída de galerias pluviais na orla de Fortaleza, Ceará

GALERIAS	ORIGEM	Enterobacteriaceae (UFC/mL)		BHC (UFC/mL)
		Lac +	Lac-	
P1	ÁGUA	$3,8 \times 10^6$	$1,36 \times 10^7$	>250
	AREIA	$1,5 \times 10^7$	$1,16 \times 10^7$	>250
P2	ÁGUA	*	*	$1,4 \times 10^4$
	AREIA	$5,6 \times 10^6$	$7,7 \times 10^6$	>250
P3	ÁGUA	$2,3 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$	>250
	AREIA	$8,8 \times 10^5$	$9,1 \times 10^5$	>250

\*Sem crescimento

Fonte: Autora, 2023

### 4.3 Estirpes selecionadas

Sessenta estirpes foram identificadas com morfologia de bastonetes Gram negativas. Essa é uma característica morfotintorial das bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae (Martins, 2019). Após reinoculados, alguns dos isolados

não apresentaram crescimento sobre os meios de manutenção Ágar TSA.

#### 4.4 Testes bioquímicos (IMViC)

Cinquenta e seis estirpes foram submetidas aos testes e identificadas. Um percentual delas (19,6%) não puderam ser identificadas além de pertencentes à família Enterobacteriaceae. Além disso, obteve-se as seguintes identificações até o nível de gênero: *Citrobacter* sp (1,8%), *Yersinieae* sp (1,8%), *Pseudomonas* sp (1,8%), *Pantoea* sp (17,9%), *Enterobacter* sp (42,9%); e até o nível de espécies: *Hafnia alvei* (1,8%), *Klebsiella pneumoniae* (1,8%), *Escherichia coli I* (1,8%), *Escherichia coli II* (3,6%) e *Citrobacter freundii* (5,4%), como mostra a Tabela 5.

Com exceção de uma estirpe, todas as bactérias selecionadas pertenciam à família Enterobacteriaceae. De acordo com Martins (2019), o aparecimento desses indivíduos é um relevante indicador de contaminação em ecossistemas e efluentes aquáticos. Podendo apontar poluição de origem fecal nos pontos estudados. Além disso, esses achados revelam potencial patogenicidade para seres humanos.

Tabela 5 - Identificação de estirpes bacterianas por teste IMViC quanto a número e porcentagem

IDENTIFICAÇÃO	QUANTIDADE EM NÚMERO	QUANTIDADE EM PORCENTAGEM
<i>Enterobacter</i> sp	24	42,9%
Enterobacteriaceae	11	19,6%
<i>Pantoea</i> sp	10	17,9%
<i>Citrobacter freundii</i>	3	5,4%
<i>Escherichia coli II</i>	2	3,6%
<i>Hafnia alvei</i>	1	1,8%
<i>Citrobacter</i> sp	1	1,8%
<i>Yersinieae</i> sp	1	1,8%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	1,8%
<i>Escherichia coli I</i>	1	1,8%
<i>Pseudomonas</i> sp	1	1,8%

Fonte: Autora, 2023

#### 4.5 Teste de sensibilidade aos antibióticos

Os resultados adquiridos ao testar as cinquenta e três estirpes sob os antibióticos Ácido nalidíxico (NAL - 30 $\mu$ g), Ceftazidima (CAZ - 30 $\mu$ g), Nitrofurantoína (NIT - 300 $\mu$ g) e Amoxicilina + Ácido clavulânico (AMC - 30 $\mu$ g), foram os seguintes: NAL apresentou 4 resistentes, 1 intermediária e 48 sensíveis; CAZ apresentou 12 resistentes, 14 intermediárias e 27 sensíveis; NIT apresentou 14 resistentes, 1 intermediária e 38 sensíveis; AMC apresentou 34 resistentes, 0 intermediárias e 19 sensíveis (Tabela 6).

Tabela 6 - Susceptibilidade de estirpes bacterianas isoladas de microplásticos (água e areia) frente aos antibióticos testados

ANTIBIÓTICOS	RESISTENTE	INTERMEDIÁRIA	SENSÍVEL
<b>NAL</b>	4	1	48
<b>CAZ</b>	12	14	27
<b>NIT</b>	14	1	38
<b>AMC</b>	34	0	19

NAL: Ácido nalidíxico; CAZ: Ceftazidima; NIT: Nitrofurantoína e AMC: Amoxicilina + ácido clavulânico.

Fonte: Autora, 2023

As Tabelas 7 e 8 apresentam os perfis de suscetibilidade aos antibióticos pelas estirpes testadas, tanto para água quanto para areia, assim como, relaciona a identificação dessas estirpes pelos testes bioquímicos.

Tabela 7 - Perfis de suscetibilidade a antibióticos das estirpes bacterianas isoladas a partir de material agregado a partículas de microplástico presentes em água na saída de galerias pluviais na orla de Fortaleza, Ceará

GALERIA	ESTIRPES	IDENTIFICAÇÃO	NAL	CAZ	NIT	AMC
P 1	1	<i>Pseudomonas</i> sp	R	R	R	R
	2	<i>Enterobacter</i> sp	S	I	S	R
	3	<i>Enterobacter</i> sp	S	S	R	R
	4	<i>Enterobacter</i> sp	S	I	S	S
	5	<i>Enterobacter</i> sp	S	S	S	S
	6	<i>Enterobacter</i> sp	I	R	S	R
	7	<i>Enterobacter</i> sp	S	I	I	R
	8	<i>Pantoea</i> sp	S	S	S	S
	9	<i>Enterobacter</i> sp	S	S	S	R
	10	<i>Enterobacter</i> sp	S	I	S	R
P 2	11	<i>Pantoea</i> sp	S	S	S	S
	12	<i>Enterobacter</i> sp	R	S	S	R
	14	<i>Enterobacter</i> sp	S	I	S	R
	15	<i>Enterobacter</i> sp	S	S	S	S
	16	<i>Enterobacter</i> sp	S	S	S	R
	17	<i>Enterobacter</i> sp	S	S	S	R
	18	<i>Enterobacter</i> sp	S	I	S	S
	19	<i>Enterobacter</i> sp	R	I	S	S
	20	<i>Enterobacter</i> sp	S	S	S	R
	21	<i>Enterobacter</i> sp	S	I	R	R
P 3	22	<i>Citrobacter freundii</i>	S	S	S	S
	23	<i>Pantoea</i> sp	S	I	S	R
	25	<i>Citrobacter freundii</i>	S	S	S	S
	26	<i>Pantoea</i> sp	S	I	R	R
	27	<i>Pantoea</i> sp	S	I	S	R
	28	<i>Pantoea</i> sp	S	I	S	S
	29	<i>Hafnia alvei</i>	S	S	S	S
	30	<i>Pantoea</i> sp	S	S	S	R

Legendas: NAL: Ácido Nalidíxico; CAZ; Cefotaxima; NIT; Nitrofurantoína; AMC: Amoxicilina + Ácido Clavulânico; S: Sensível; R: Resistente; I; Intermediário

Fonte: Autora, 2023

Tabela 8 - Perfis de suscetibilidade a antibióticos das estirpes bacterianas isoladas a partir de material agregado a partículas de microplástico presentes em areia molhada na saída de galerias pluviais na orla de Fortaleza, Ceará

GALERIA	ESTIRPES	IDENTIFICAÇÃO	NAL	CAZ	NIT	AMC
P1	31	<i>Citrobacter freundii</i>	S	S	S	R
	32	<i>Enterobacter sp</i>	R	I	S	R
	33	<i>Enterobacter sp</i>	S	S	S	S
	34	Enterobacteriaceae	S	S	S	S
	35	<i>Enterobacter sp</i>	S	S	S	R
	36	<i>Pantoea sp</i>	S	S	S	R
	40	<i>Citrobacter freundii</i>	S	S	S	S
P2	41	Enterobacteriaceae	S	R	R	R
	42	<i>Escherichia coli II</i>	S	R	R	R
	43	Enterobacteriaceae	S	R	R	R
	44	Enterobacteriaceae	S	R	R	R
	45	Enterobacteriaceae	S	R	R	R
	47	Enterobacteriaceae	S	R	R	R
	48	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	S	I	S	R
	49	Enterobacteriaceae	S	R	R	R
	50	Enterobacteriaceae	S	S	S	S
	51	<i>Escherichia coli I</i>	S	S	S	S
P3	53	<i>Pantoea sp</i>	S	S	S	S
	54	<i>Escherichia coli II</i>	S	R	R	R
	55	<i>Yersinia sp</i>	S	S	S	S
	56	<i>Enterobacter sp</i>	S	S	S	R
	57	<i>Enterobacter sp</i>	S	S	S	S
	58	<i>Enterobacter sp</i>	S	S	S	R
	59	Enterobacteriaceae	S	R	R	R
	60	Enterobacteriaceae	S	R	R	R

Legendas: NAL: Ácido Nalidíxico; CAZ; Ceftazidima; NIT; Nitrofurantoína; AMC: Amoxicilina + Ácido Clavulânico; S: Sensível; R: Resistente; I; Intermediário.

Fonte: Autora, 2023

O elevado percentual de bactérias resistentes a antibióticos encontrados na presente pesquisa corrobora com Guyomard-Rabenirina et al. (2017) que relaciona água e sedimentos marinhos como reservatórios de estirpes resistentes aos antimicrobianos.

Do total das estirpes analisadas, 28 foram isoladas dos microplásticos retirados da água e a maioria (64,3%) apresentou resistência a, pelo menos, um dos antibióticos testados. Dessa totalidade, seis (21,45%) estirpes apresentaram multirresistência antibiótica. Essas foram identificadas como: *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp. e *Pantoea* sp. (Tabela 9).

Entre os isolados bacterianos das partículas plásticas retiradas da areia molhada (25 estirpes) um grande percentual (60%) também se mostraram resistentes a, pelo menos, um dos antibióticos testados. Entre elas, 11 (39,3%) estirpes apresentaram multirresistência. Essas foram identificadas como: *E. coli*, *Enterobacter* sp. e como pertencentes à família enterobacteriaceae (Tabela 9).

Tabela 9: Multirresistência de estirpes bacterianas quanto à sua origem (água ou areia) aos antibióticos testados.

ORIGEM	RESISTÊNCIA A PELO MENOS UM ANTIBIÓTICO	MULTIRRESISTENTE
ÁGUA	64,3%	21,45%
AREIA	60%	39,3%

Fonte: Autora, 2023

Resultados encontrados por Gharpure et al., (2022) e Vornhagen et al., (2022) mostraram que estirpes de Enterobacteriaceae resistentes a antibióticos são frequentemente encontradas em estações de tratamento de esgoto, incluindo patógenos, como: *E. coli* e *K. pneumoniae*. Os resultados estão coerentes com a detecção de contaminação por esgotos nas águas das galerias por meio da análise de colimetria indicando a existência de esgotos clandestinos ligados às galerias pluviais e no corpo hídrico do riacho Maceió.

Além disso, Makkaew et al. (2021) também correlacionam impactos de efluentes de estação de tratamentos de águas residuais a uma maior concentração de genes relacionados à resistência a antimicrobianos em sedimentos e à águas costeiras.

#### 4.6 Identificação de microplásticos

Os microplásticos foram caracterizados em primário (*pellets*) e secundário (fragmentos de resíduos plásticos e fibras sintéticas). Dentre os micro resíduos, foram obtidas fibras de diferentes cores e materiais, também fragmentos microplásticos e apenas um *pellet* como mostra a Tabela 10. A ocorrência dos tipos de microplásticos nas três galerias está apresentada na Tabela 11, onde é possível observar que o tipo fibra sintética foi encontrado nas três galerias, o tipo fragmento em P2 e P3 e o tipo *Pellet* somente em P3.

Tabela 10 - Caracterização de microplásticos de águas provenientes de galerias pluviais da orla de Fortaleza/Ceará

Galeria	Caracterização
P1	1.Fibra sintética, desgastada, preta
P2	1.Fibra transparente 2.Fragmento angular, desgastado, amarelo 3.Fragmento angular, desgastado, vermelho 4.Fibra sintética transparente 5.Fibra sintética transparente
P3	1.Fibra sintética azul 2.Fibra sintética amarela 3. <i>Pellet</i> esféricos, transparente 4.Fragmento angular, desgastado, plano, branco, rosa, amarelo e verde 5. Fragmento cilíndrico, desgastado, plano, verde

Fonte: Autora, 2023

Tabela 11 - Tipos de microplásticos por ocorrência nas galerias pluviais da orla de Fortaleza-Ceará

Tipo	Galerias
Fibra sintética	P1, P2 e P3
Fragmento	P2 e P3
<i>Pellet</i>	P3

Fonte: Autora, 2023

Segundo Lima et al. (2014), a sazonalidade das zonas costeiras interfere na distribuição espacial dos MPs por influência de galerias pluviais. Também, estações de tratamento de esgoto são uma fonte de microplásticos, devido a localização dos emissários de esgoto (Horton et al. 2017). Os microplásticos menos densos que a água do mar podem flutuar na superfície e percorrer distâncias continentais levados pelas correntes oceânicas e pelo vento (Maximenko et al., 2012).

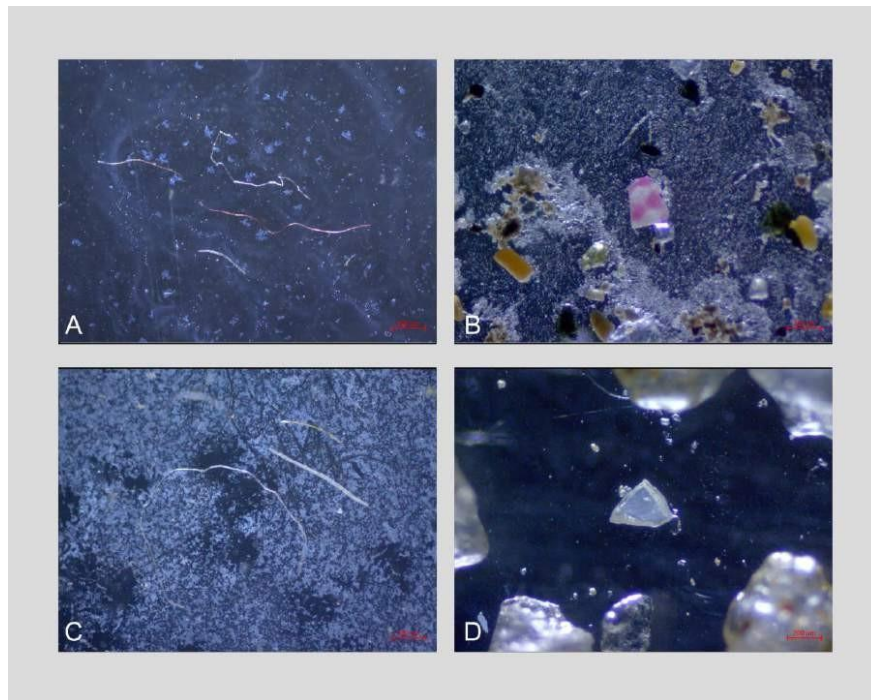
A distribuição horizontal na água e sedimento é movida por diversos fatores ambientais e antrópicos, sendo o vento e as correntes os primordiais condutores de microplásticos em águas superficiais e sua deposição na praia (Law et al., 2010; Baztan et al., 2014; Kim et al., 2015). Esses estudos consolidam a influência da poluição de microplásticos através das galerias pluviais e a sua distribuição no ambiente marinho, que varia de acordo com a sua densidade, a qual contribui para a dispersão dessas partículas colonizadas por bactérias. Nas Figuras 10, 11 e 12 estão as imagens dos fragmentos plásticos identificados nas amostras.

Figura 10 - Identificação de microplásticos em microscópio óptico por galeria pluvial: A.Fibra sintética azul (P3); B.Fibra sintética amarela (P3); C.Pellet transparente (P3); D.Fragmento plástico branco, rosa, azul, amarelo e verde (P3).



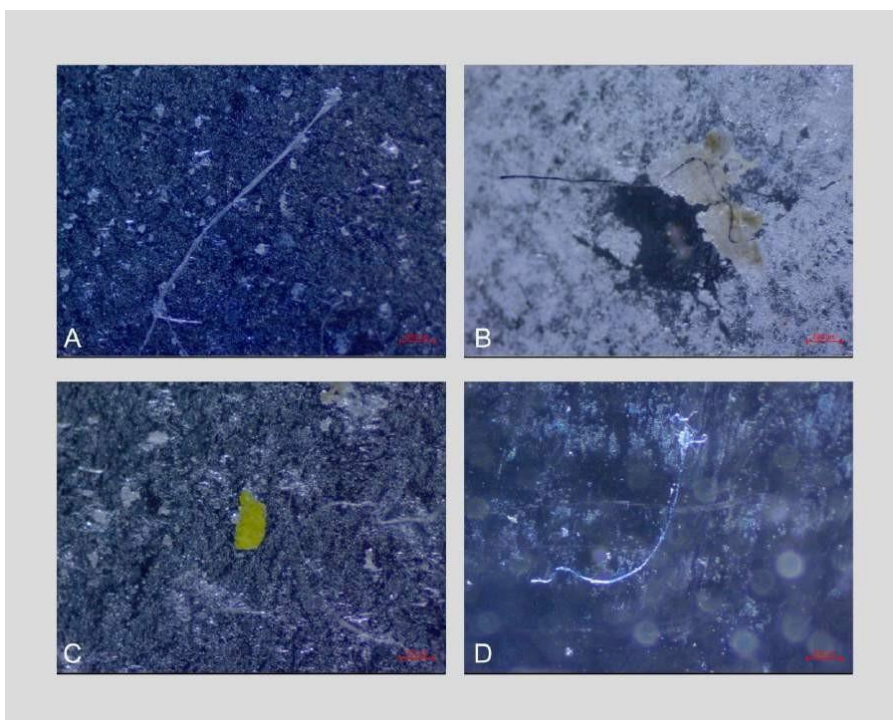
Fonte: Autora, 2023

Figura 11 - Identificação de microplásticos em microscópio óptico por galeria pluvial: A.Fibras sintéticas transparentes e vermelha (P3); B.Fragmento plástico rosa e branco (P3); C.Fibras sintéticas transparentes e amarela (P3); D.Fragmento plásticos transparente (P3).



Fonte: Autora, 2023

Figura 12 - Identificação de microplásticos em microscópio óptico por galeria pluvial: A.Fibra sintética azul (P2); B.Fibra sintética preta (P1); C.Fragmento verde (P2); D.Fibra sintética transparente (P2).



Fonte: Autora, 2023

## 5 CONCLUSÃO

As galerias pluviais P1, P2 e P3 são canais de transferência de microplásticos, resultado da presença de esgotos domésticos em seus cursos.

Ademais, as partículas plásticas, como veículo de patógenos, chegam à orla com uma carga significativa de bactérias, em especial, Enterobactérias com perfis de resistência a diversos antibióticos.

Os resultados do estudo chamam atenção para a problemática relacionada a essa dinâmica de microrganismos aderidos a fragmentos plásticos sendo carregados por galerias e corpos hídricos para o ambiente costeiro. É evidente a necessidade de monitoramento e mais pesquisas para desenvolvimento de tecnologias que minimizem esses riscos para a saúde humana, animal e ambiental.

## REFERÊNCIAS

AMBROZEVICIUS, A. P.; ABESSA, D. M. S. Acute toxicity of waters from the urban drainage channels of Santos (São Paulo, Brazil). **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 3, p. 108-115, 2008.

ANTIMICROBIAL RESISTANCE COLLABORATORS. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, v. 399(10325), p. 629-655, 2022.

ARIAS-ANDRES, M., ROJAS-JIMENEZ, K., GROSSART, H.P. Collateral effects of microplastic pollution on aquatic microorganisms: an ecological perspective. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 112, p. 234-240, 2018.

BARCELOS DHF, KNIDEL C, MATTOS RO, CASTRO APF AND KAISER TDL. Pesquisa de enterobactérias resistentes a antimicrobianos isoladas em poços tubulares na região serrana do Espírito Santo (Brasil). **Águas Subterrâneas**, v. 30, n. 1, p. 53-61, 2016.

BAZTAN J, CARRASCO A, CHOUINARD O, CLEAUD M, GABALDON JE, Huck T, Jaffrès L, Jorgensen B, Miguelez A, Paillard C, Vanderlinden JP. Protected areas in the Atlantic facing the hazards of micro-plastic pollution: first diagnosis of three islands in the Canary Current. **Marine Pollution Bulletin**, v. 80, n. (1-2), p. 302-311, 2014.

BLODGETT, R. **Bacteriological Analytical Manual**. Most Probable Number from Serial Dilutions, apêndice 2, 2020.

BORRELLE, S.B., RINGMA, J., LAW, K.L., MONNAHAN, C.C., LEBRETON, L., MCGIVERN, A., MURPHY, E., JAMBECK, J., HILLEARY, M., ERIKSEN, M., FROND, H., GERBER, L.R., POLIDORO, B., TAHIR, A., BERNARD, M., MALLOS, M., ROCHMAN, C.M., 2020. Predicted growth in plastic waste exceeds efforts to mitigate plastic pollution. **Science**, v. 369, p. 1515-1518, 2020.

BRANDÃO, R. Enterobactérias. **Medicina NET**, 2019. Disponível em: <<https://www.medicinanet.com.br/conteudos/revisoes/7722/enterobacterias.htm>>. Acesso em: 12, julho e 2023.

BRASIL. **Lei nº 11.445, de 5 de Janeiro de 2007**. Estabelece as diretrizes nacionais para o saneamento básico; cria o Comitê Interministerial de Saneamento Básico; altera as Leis nºs 6.766, de 19 de dezembro de 1979, 8.666, de 21 de junho de 1993, e 8.987, de 13 de fevereiro de 1995; e revoga a Lei nº 6.528, de 11 de maio de 1978. Disponível em: [https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2007-2010/2007/lei/l11445.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/lei/l11445.htm). Acesso em: 11 jul. 2023.

BRASIL. **Ministério do Desenvolvimento Regional Secretaria Nacional de Saneamento; Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento - SNIS**. Diagnóstico Temático Serviços de Água e Esgoto - Gestão Técnica de Esgoto. Brasília: SNIS, 2022.

CARDONHA, A.M.S.; VIEIRA, R.H.S.F.; RODRIGUES, D.P.; MACRAE, A.; PEIRANO, G.; THEOPHILO, G.N.D. Fecal pollution in water from storm sewers and adjacent seashores in Natal, Rio Grande do Norte, Brazil. **International Microbiology**, v. 7, p. 213-218, 2004.

CLSI– Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30st Ed. M100. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, Wayne, PA. v. 40, n. 1, 2020.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA nº 274, de 29 de novembro de 2000. Brasília, DF: **CONAMA**, 2000. Disponível em: [http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/Resolu%C3%A7%C3%A3o\\_Conama\\_274\\_Balnea\\_bilidade.pdf](http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/Resolu%C3%A7%C3%A3o_Conama_274_Balnea_bilidade.pdf). Acesso em: 13 jul. 2023.

DANTAS, I. C. D. **AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE BACTÉRIAS DO GÊNERO Enterococcus spp. EM GALERIAS PLUVIAIS DE FORTALEZA**. TCC (Engenharia de Pesca) - Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, p. 51. 2022.

DERRAIK, J. G. B. The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 44, n. 9, p. 842-852, 2002.

DONIA M AND HAMANN MT. Marine natural products and their potential applications as antiinfective agents. **The Lancet**, v. 3, n. 6, p. 338-348, 2003.

FENG, P. WEAGANT, S. GRANT, M, BURKHARDT W. **Bacteriological Analytical Manual**. *Enumeration of Escherichia coli and the Coliform Bacteria*, capítulo 4, 2020.

FRIAS, J.P., NASH, R., 2019. Microplastics: finding a consensus on the definition. **Marine Pollution Bulletin**, v.138, p. 145-147, 2019.

GHARPURE R, FRIEDMAN CR, FIALKOWSKI V, COLLINS JP, STRYSKO J, MARSH ZA, CHEN JC, MESERVEY EH, ADEDIRAN AA, SCHROEDER MN, WADHWA A, FULLERTON KE, FRANCOIS WATKINS L. Azithromycin and Ciprofloxacin Treatment Outcomes During an Outbreak of Multidrug-Resistant *Shigella sonnei* Infections in a Retirement Community-Vermont, 2018. **Clinical Infectious Diseases**, v. 74, n. 3, p. 455-460, 2022.

GIMILIANI, G. T. . *Caracterização de microplásticos em amostras marinhas e estuarinas*. 2021. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear), **Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN**, São Paulo, p. 167, 2021.

GUYOMARD-RABENIRINA S, DARTRON C, FALORD M, SADIKALAY S, DUCAT C, RICHARD V, BREUREC S, GROS O AND TALARMIN A. Resistance to antimicrobial drugs in different surface waters and wastewaters of Guadeloupe. **PLoS One**, v. 12, n. 3, e0173155, 2017.

GORRASI, S.; PASQUALETTI, M.; FRANZETTI, A.; GONZALEZ-MARTINEZ, A.; GONZALEZ-LOPEZ, J.; MUÑOZ-PALAZON, B.; FENICE, M. Persistence of Enterobacteriaceae Drawn into a Marine Saltern (Saline di Tarquinia, Italy) from the Adjacent Coastal Zone. **Water**, v. 13, n. 11, 2021.

HATOSY SM AND MARTINY AC. The ocean as a global reservoir of antibiotic resistance genes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 21, p. 7593-7599, 2015.

HIDAYATURRAHMAN, H., LEE, T.G. A study on characteristics of microplastic in wastewater of South Korea: identification, quantification, and fate of microplastics during treatment process. **Marine Pollution Bulletin**, v. 146, p. 696-702, 2019.

HORTON, A.A., SVENDSEN, C., WILLIAMS, R.J., SURGEON, D.J., LAHIVE, E. Large microplastic particles in sediments of tributaries of the River Thames, UK-abundance, sources and methods for effective quantification. **Marine Pollution Bulletin**, v. 114, p. 218-226, 2017.

HUDZICKI, J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. **American Society for Microbiology**, p. 1-23, 2009.

LEITÃO, M. F. F., ROMEU, A. P., CRUZ, R. R. - Coliformes totais e fecais como indicadores de contaminação. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 4, p. 1-12, 1971, 1972.

KASVI. **Coloração de Gram – O que é bactéria Gram-positiva e Gram-negativa?** 2023. Disponível em: <https://kasvi.com.br/bacteria-gram-positiva-gram-negativa/>. Acesso em: 28 jul. 2023.

KATAKY, RITU, AND EMMA KNOWLES. Biofilm formation on abiotic surfaces and their redox activity. **Current Opinion in Electrochemistry**, v. 12, p. 121-128, 2018.

KATAOKA T, NIHEI Y, KUDOU K, HINATA H. Assessment of the sources and inflow processes of microplastics in the river environments of Japan. **Environmental Pollution**, v. 244, p. 958-965, 2019.

KAUR K, REDDY S, BARATHE P, OAK U, SHRIRAM V, KHARAT SS, GOVARTHANAN M, KUMAR V. Microplastic-associated pathogens and antimicrobial resistance in environment. **Chemosphere**, v. 291(Pt 2):133005, 2022.

KIM, I.-S., CHASE, D.-H., KIM, S.-K., CHOI, S., WOO, S.B. Factors influencing the spatial variation of micro-plastics on high-tidal coastal beaches in Korean. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 69, n. 3, p. 299-309, 2015.

KIRSTEIN, I. V., KIRMIZI, S., WICHELS, A., GARIN-FERNANDEZ, A., ERLER, R., LÖDER, M., & GERDTS, G. Dangerous hitchhikers? Evidence for potentially pathogenic *Vibrio* spp. on microplastic particles. **Marine environmental research**, v. 120, p. 1-8, 2016.

KOHANSKI MA, DWYER DJ, COLLINS JJ. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 6, p. 423-35, 2010.

LAMPARELLI, C.C.2007 “Emissários submarinos: Desafios para o licenciamento e monitoramento ambiental” In Emissários submarinos: projeto, avaliação de impacto ambiental e monitoramento. Editado por Lamparelli, C.C.; Ortiz, J.P. ed 1, 12-23. São

Paulo: **Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo** ORTIZ, J.P. São Paulo: SMA, 2006. 240 p.

LAW, K.L., MORET-FERGUSON, S., MAXIMENKO, N.A., PROSKUROWSKI, G., PEACOCK, E.E., HAFNER, J., REDDY, C.M., 2010. Plastic accumulation in the north Atlantic subtropical gyre. **Science**, v. 329-5996, p. 1185-1188, 2010.

LEVY, C. E. Manual de Microbiologia Clínica para controle de infecções em serviços de saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, DF, 2004.

LIMA, A.R.A., COSTA, M.F., BARLETTA, M., Distribution patterns of microplastics with in the plankton of a tropical estuary. *Environmental Research*, v. 132, p. 146-155, 2014.

LU J, ZHANG Y, WU J, LUO Y. Effects of microplastics on distribution of antibiotic resistance genes in recirculating aquaculture system. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 184, p. 109631, 2019.

MADHAIYAN, M.; SARAVANAN, V.S.; BLOM, J.; SMITS, T.H.; REZZONICO, F.; KIM, S.J.; WEON, H.Y.; KWON, S.W.; WHITMAN, W.B.; JI, L. *Phytobacter palmae* sp. nov., a novel endophytic, N<sub>2</sub> fixing, plant growth promoting Gammaproteobacterium isolated from oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 2, p. 841-848, 2020.

MAKKAEW P, KONGPRAJUG A, CHYERROCHANA N, SRESUNG M, PRECHA N, MONGKOLSUK S, SIRIKANACHANA K. Persisting antibiotic resistance gene pollution and its association with human sewage sources in tropical marine beach waters. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 238, p. 113859, 2021.

MARTINS, ANDRÉ ET AL. Resistência a antimicrobianos de enterobactérias isoladas de águas destinadas ao abastecimento público na região centro-oeste do estado de São Paulo, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeua, v. 10, e201900065, 2019.

MAXIMENKO N, HAFNER J, NIILER P. Pathways of marine debris derived from trajectories of Lagrangian drifters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 65, n. (1-3), p. 51-62, 2012.

MONTAGNER, C. C., DIAS, M. A., PAIVA, E. M., & VIDAL, C. Microplásticos: Ocorrência Ambiental e Desafios Analíticos. **Química Nova**, v. 44, n. 10, p. 1328-1352, 2021.

NAIK, R. K., NAIK, M. M., D'COSTA, P. M., & SHAIKH, F. Microplastics in ballast water as an emerging source and vector for harmful chemicals, antibiotics, metals, bacterial pathogens and HAB species: A potential risk to the marine environment and human health. **Marine Pollution Bulletin**, v. 149-110525, 2019.

NGUYEN, B., CLAVEAU-MALLET, D., HERNANDEZ, L.M., XU, E.G., FARNER, J.M., TUFENKJI, N. Separation and analysis of microplastics and nanoplastics in complex

environmental samples. **Accounts of Chemical Research**, v. 52, n. 4, p. 858-866, 2019.

OMS publica lista de bactérias para as quais se necessitam novos antibióticos urgentemente. **OPAS**, 2017. Disponível em:

<<https://www.paho.org/pt/noticias/27-2-2017-oms-publica-lista-bacterias-para-quais-se-necessitam-novos-antibioticos#:~:text=27%20de%20fevereiro%20de%202017,ameaça%20para%20a%20saúde%20humana.>>. Acesso em: 13 jul. 2023.

PALMER J, FLINT S, BROOKS J. Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 34, n. 9, p. 577-588, 2007.

PARK, H.J., OH, M.J., KIM, P.G., KIM, G., JEONG, D.H., JU, B.K., LEE, W.S., CHUNG, H.M., KANG, H.J., KWON, J.H., 2020. National reconnaissance survey of microplastics in municipal wastewater treatment plants in Korea. **Environmental Science & Technology**, v. 54, n. 3, p. 1503–1512, 2020.

PARTE AC, SARDÀ CARBASSE J, MEIER-KOLTHOFF JP, REIMER LC, GÖKER M. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 11, p. 5607-5612, 2020.

PHAM, D. N., CLARK, L., & LI, M. Microplastics as hubs enriching antibiotic-resistant bacteria and pathogens in municipal activated sludge. **Journal of Hazardous Materials Letters**, v. 2, p. 100014, 2021.

PRATA, J. C., DA COSTA, J. P., LOPES, I., ANDRADY, A. L., DUARTE, A. C., & ROCHA-SANTOS, T. A One Health perspective of the impacts of microplastics on animal, human and environmental health. **Science of the Total Environment**, v. 777, p. 146094, 2021.

ROSATO, A.; BARONE, M.; NEGRONI, A.; BRIGIDI, P.; FAVA, F.; XU, P.; CANDELA, M.; ZANAROLI, G. Microbial colonization of different microplastic types and biotransformation of sorbed PCBs by a marine anaerobic bacterial community. **The Science of the total environment**, v. 705, p. 135790, 2020.

RUMMEL, C. D., JAHNKE, A., GOROKHOVA, E., KÜHNEL, D., & SCHMITT-JANSEN, M. Impacts of Biofilm Formation on the Fate and Potential Effects of Microplastic in the Aquatic Environment. **Environmental Science & Technology Letters**, v. 4, n. 7, p. 258-267, 2017.

RUZ, H., V., GUTOW, L., THOMPSON, R. C., & THIEL, M. Microplastics in the Marine Environment: A Review of the Methods Used for Identification and Quantification. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 6, p. 3060-3075, 2012.

SALTA, M., WHARTON, J. A., BLACHE, Y., STOKES, K. R., & BRIAND, J.-F. Marine biofilms on artificial surfaces: structure and dynamics. **Environmental Microbiology**, v. 15, n. 11, p. 2879-2893, 2013.

SILVA, I., TACÃO, M., & HENRIQUES, I. Selection of antibiotic resistance by metals in a riverine bacterial community. **Chemosphere**, v. 263, p. 127936, 2021.

SHARMA, R. Kirby Bauer Disc Diffusion Method For Antibiotic Susceptibility Testing. **Microbe Notes**, 2022. Disponível em: <https://microbenotes.com/kirby-bauer-disc-diffusion/>. Acesso em: 31 jul. 2023.

SOL, D., LACA, A., LACA, A., DÍAZ, M. Approaching the environmental problem of microplastics: importance of WWTP treatments. **The Science of the total environment**, v. 740, p. 140016, 2020.

SOUSA, J. V. B., SANTOS, Y. D., BRANDÃO, R. S. Análise preliminar microbiológica, física e química da eficiência de uma estação de tratamento de esgoto de uma instituição de ensino superior. **Revista da FAESF**, vol. 6, n.1, p. 36-43, 2022.

THATCHER, F. C & CLARK, D. C. **Análisis microbiológico de los alimentos**. Zaragoza, Acríbia, 1973, 271 p.

THOMPSON, R. C., MOORE, C. J., VOM SAAL, F. S., & SWAN, S. H. Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v 364, n. 1526, p. 2153-2166, 2009.

TU, C.; CHEN, T.; ZHOU, Q.; LIU, Y.; WEI, J.; WANIEK, J. J.; LUO, Y. Biofilm formation and its influences on the properties of microplastics as affected by exposure time and depth in the seawater. **The Science of the total environment**, v. 734, p. 139237, 2020.

VIEIRA, R.H.S.F. *Microbiologia, higiene e qualidade do pescado*. São Paulo: Livraria Varela, 2004

VIEIRA, R.H.S.F.; MENEZES, F.G.R.; COSTA, R.A. MARINS, R.V.; ABREU, I.M.; FONTELES-FILHO, A.A.; SOUSA, O.V. Galerias pluviais como fonte de poluição de origem fecal para as praias de Fortaleza-Ceará. **Arquivo de Ciências do Mar**, v. 44, p. 5-12, 2011.

VIEIRA, R.H.S.F.; ROCHA, C.A.S.; MENEZES, F.G.R.; ARAGÃO, J.S.; RODRIGUES, D.P.; THEOPHILO, G.N.D.; REIS, E.M.F. Poluição da água do mar e da areia de três praias de Fortaleza, Ceará, Brasil. **Arquivo de Ciências do Mar**, v. 35, p. 113-118, 2002.

VIEIRA, R.H.S.F.; SILVA, P.R.F.G.; SOUSA, O.V.; LEUHUGEUR, L.O.G.O. Balneabilidade das águas da praia do Futuro, Fortaleza-Ceará. **Arquivo de Ciências do Mar**, v. 34, p. 39-42, 2001.

VORNHAGEN, J., ROBERTS, E.K., UNVERDORBEN, L. *ET AL*. Combined comparative genomics and clinical modeling reveals plasmid-encoded genes are independently associated with *Klebsiella* infection. **Nature Communications**, v 13, n. 4459, 2022.

WAGNER, M.; LAMBERT, S. IN. **The Handbook of Environmental Chemistry**. Springer International Publishing, New York, v. 58, p. 303, 2018.

WANG Y.; WANG, X.; LI, Y.; LI, J.; WANG, F.; XIA, X.; ZHAO, J. Biofilm alters tetracycline and copper adsorption behaviors onto polyethylene microplastics. **Chemical Engineering Journal**, v 392, p. 123808, 2020.

WANG, JIANLONG; GUO, XUAN; XUE, JIANMING. Biofilm-developed microplastics as vectors of pollutants in aquatic environments. **Environmental Science & Technology**, v. 55, n. 19, p. 12780-12790, 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017. Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria to Guide Research, Discovery, and Development of New Antibiotics. Geneva: **WHO**, 2017. Disponível em: <<https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>>. Acesso em: 13 jul. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Antimicrobial resistance. **WHO**, 2021 Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>>. Acesso em: 13 jul.2023.

WRIGHT, S. L., & KELLY, F. J. Plastic and Human Health: A Micro Issue? **Environmental Science & Technology**, Estados Unidos da América, v 51, n. 12, p. 6634-6647, 2017.

WU, X., PAN, J., LI, M., LI, Y., BARTLAM, M., WANG, Y., 2019. Selective enrichment of bacterial pathogens by microplastic biofilm. **Water Research**, Reino Unido, v. 165, p. 114979, 2019.

ZETTLER, E. R., MINCER, T. J., & AMARAL-ZETTLER, L. A. Life in the "Plastisphere": Microbial Communities on Plastic Marine Debris. **Environmental Science & Technology**, Estados Unidos da América, v 47, n. 13, p. 7137-7146, 2013.