



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS**

**SANDRA REBECA OLIVEIRA MARTINS**

**Caracterização e avaliação dos padrões de resistência antimicrobiana no  
bacterioma da bacia do Rio Jaguaribe (Ceará, Brasil)**

**FORTALEZA**

**2023**

SANDRA REBECA OLIVEIRA MARTINS

**Caracterização e avaliação dos padrões de resistência antimicrobiana no  
bacterioma da bacia do Rio Jaguaribe (Ceará, Brasil)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciências Marinhas Tropicais. Área de concentração: Ciência, Tecnologia e Gestão Costeira e Oceânica

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Oscarina Viana de Sousa

Coorientadora: Dr<sup>a</sup>. Fátima Cristiane Teles de Carvalho

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)

---

M346c Martins, Sandra Rebeca Oliveira.

Caracterização e avaliação dos padrões de resistência antimicrobiana no bacterioma da bacia do Rio Jaguaribe (Ceará, Brasil) / Sandra Rebeca Oliveira Martins. – 2023.  
71 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Fortaleza, 2023.

Orientação: Profa. Dra. Oscarina Viana de Sousa.

Coorientação: Profa. Dra. Fátima Cristiane Teles de Carvalho.

1. Resistoma. 2. Antimicrobianos. 3. Comunidade bacteriana. 4. Ambiente aquático. I. Título.

CDD 551.46

---

SANDRA REBECA OLIVEIRA MARTINS

**Caracterização e avaliação dos padrões de resistência antimicrobiana no  
bacterioma da bacia do Rio Jaguaribe (Ceará, Brasil)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciências Marinhas Tropicais. Área de concentração: Ciência, Tecnologia e Gestão Costeira e Oceânica

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Oscarina Viana de Sousa (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Renata Albuquerque Costa  
Centro Universitário INTA (UNINTA)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Rosa Helena Rebouças  
Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr)

Aos meus pais Sandra Oliveira da Silva  
Martins e José Airton Martins, minha  
fonte de amor e apoio incondicional.  
Sem eles, nada seria possível.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar forças e por me permitir mais essa conquista.

Aos meus pais, Sandra e Airton por me apoiarem em todos os momentos, por sempre acreditarem em mim e estarem ao meu lado me incentivando. O amor de vocês é fundamental na minha caminhada.

Aos meus familiares pelo incentivo e enorme torcida e por vibrarem comigo a cada conquista.

À Andressa Rodrigues, que além de prima-irmã, é minha psicóloga particular, por me ouvir, me aconselhar e pela parceria de sempre.

À minha prima Nara Roquelina por acreditar em mim, pelas conversas incentivadoras e por todas as orações.

Às minhas amigas Jorgiana Assis, Talita Rocha, Lorena Colares, Carine Borges e Thiara do Amaral por estarem sempre torcendo e me apoiando e por todos os bons momentos compartilhados.

À Professora Oscarina por, mais uma vez, me aceitar como sua orientanda, abrindo as portas do LAMAP, por acreditar em mim e no meu trabalho, pelos ricos ensinamentos ao longo dos anos e por todo cuidado e carinho.

À Cristiane Teles, que além de Coorientadora, é minha mãe de laboratório e minha amiga. Obrigada pela ajuda diária, pelos ensinamentos, por acreditar em mim, me incentivar e por todos os “vai dar certo” que você me disse nos momentos de desespero.

À Mariana Franco (Maricota) pela amizade e companhia, pela ajuda de sempre, pelos desabafos e fofuquinhas compartilhadas e pelas risadas e diversão garantida.

À Gleire Menezes pela amizade e troca de conhecimentos dentro e fora do laboratório.

À Prof<sup>a</sup>. Kamila Vieira pela disponibilidade e ajuda na análise estatística dos dados.

Aos meus companheiros de laboratório, em especial à Maria Tereza (Tetê), Vládila Oliveira, Raquel Cavalcante, Daniel Borges, Jéssica Lucinda, Jhones Lima, Junior Ferreira. Obrigada pelos momentos divertidos e pela ajuda quando precisei.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de pesquisa.

A cada um que, direta ou indiretamente, ajudou na concretização desse trabalho.

“Não há barreira, fechadura ou ferrolho  
que você possa impor à liberdade de  
minha mente.” (Virgínia Woolf)

## RESUMO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) considera a dispersão de genes de resistência entre bactérias como um dos principais e mais graves problemas de saúde pública global. É crescente o número de microrganismos nos ambientes aquáticos que carregam genes diretamente ligados à resistência a antimicrobianos resultantes da pressão exercida por atividades e ações antropogênicas. A ocorrência de resíduos de substâncias antibióticas no ambiente acaba por favorecer a seleção de linhagens bacterianas resistentes aos agentes antibióticos e maior circulação de genes de resistência nas matrizes ambientais. Além do uso não responsável de antimicrobianos, outros estressores antrópicos podem contaminar o solo e as águas superficiais e contribuir com perfis de resistência das comunidades bacterianas. Assim, o objetivo principal da pesquisa foi caracterizar os fenótipos de resistência bacteriana relacionados à água e sedimento ao longo da bacia do Rio Jaguaribe, no Ceará, correlacionando com as atividades antrópicas presentes em seu entorno. Foram realizadas coletas de água e de sedimento em seis pontos distintos ao longo do rio. Diluições das amostras foram inoculadas em meio de cultura convencional Ágar Padrão para Contagem (PCA) utilizando a técnica de *Pour Plate*. Em seguida, as unidades formadoras de colônias foram quantificadas, isoladas, identificadas e submetidas ao teste de antibiograma e cura de plasmídeo. Foram testados oito antibióticos: Tetraciclina, Doxiciclina, Sulfazotrim, Eritromicina, Azitromicina, Levofloxacina, Cloranfenicol e Ampicilina. A contagem de bactérias foi expressa em unidades formadoras de colônias (UFC) e variou de  $7,88 \times 10^6$  a  $1,67 \times 10^7$  UFC/ml para as amostras de água e de  $2,09 \times 10^4$  a  $1,96 \times 10^6$  UFC/g para as amostras de sedimento. Entre as culturas bacterianas, as bactérias Gram-positivas foram mais frequentemente isoladas do que as Gram-negativas. Do total de isolados, 82% apresentaram resistência a um ou mais antimicrobianos e 18% mostraram-se sensíveis a todos os antibióticos testados. Os fenótipos de resistência mais frequentes entre os isolados bacterianos foram frente às substâncias Ampicilina (54%), Doxiciclina (34%) e Tetraciclina (28%) e o maior número de isolados expressando resistência foi detectado nas amostras de água. A origem genética da resistência foi, em sua maioria, potencialmente cromossômica. Os percentuais de resistência antimicrobiana observados na bacteriota de trechos da bacia do Rio Jaguaribe indicam efeito da pressão seletiva relacionado às atividades do seu entorno.

**Palavras-Chave:** Resistoma. Antimicrobianos. Comunidade bacteriana. Ambiente aquático.

## ABSTRACT

The World Health Organization (WHO) considers the spread of resistance genes among bacteria to be one of the main and most serious global public health problems. The number of microorganisms in aquatic environments that carry genes directly linked to resistance to antimicrobials resulting from the pressure exerted by anthropogenic activities and actions is increasing. The occurrence of residues of antibiotic substances in the environment ends up favoring the selection of bacterial strains resistant to antibiotic agents and greater circulation of resistance genes in environmental matrices. In addition to the irresponsible use of antimicrobials, other anthropogenic stressors can contaminate soil and surface waters and contribute to resistance profiles of bacterial communities. Thus, the main objective of the research was to characterize the bacterial resistance phenotypes related to water and sediment along the Jaguaribe River basin, in Ceará, correlating with the anthropogenic activities present in its surroundings. Water and sediment were collected at six different points along the river. Dilutions of the samples were inoculated into conventional culture medium Standard Counting Agar (PCA) using the Pour Plate technique. Then, the colony-forming units were quantified, isolated, identified and subjected to antibiogram and plasmid cure tests. Eight antibiotics were tested: Tetracycline, Doxycycline, Sulfazotrim, Erythromycin, Azithromycin, Levofloxacin, Chloramphenicol and Ampicillin. Bacterial counts were expressed in colony forming units (CFU) and ranged from  $7.88 \times 10^6$  to  $1.67 \times 10^7$  CFU/ml for water samples and from  $2.09 \times 10^4$  to  $1.96 \times 10^6$  CFU /g for sediment samples. Among bacterial cultures, Gram-positive bacteria were more frequently isolated than Gram-negative bacteria. Of the total isolates, 82% were resistant to one or more antimicrobials and 18% were sensitive to all antibiotics tested. The most frequent resistance phenotypes among bacterial isolates were against the substances Ampicillin (54%), Doxycycline (34%) and Tetracycline (28%) and the largest number of isolates expressing resistance was detected in water samples. The genetic origin of resistance was, for the most part, potentially chromosomal. The percentages of antimicrobial resistance observed in the bacteriota of sections of the Jaguaribe River basin indicate the effect of selective pressure related to the activities in its surroundings.

**Keywords:** Resistome. Antimicrobials. Bacterial community. Aquatic environment.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma do processo de seleção das publicações sobre resistoma na base de dados Scopus.....	24
Figura 2 - Países que mais publicaram artigos sobre resistoma.....	25
Figura 3 - Nuvem com as palavras mais relacionadas ao tema resistoma.....	26
Figura 4 - Mapa de localização dos pontos de coleta das amostras de água e de sedimento ao longo da bacia do Rio Jaguaribe.....	29
Figura 5 - Fluxograma das diluições e processamento das amostras de água .....	31
Figura 6 - Fluxograma das diluições e processamento das amostras de sedimento.....	32
Figura 7 - Fluxograma da técnica de coloração de Gram.....	33
Figura 8 - Fluxograma do teste de antibiograma.....	35
Figura 9 - Fluxograma da técnica de cura de plasmídeo.....	37

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Número de artigos sobre resistoma publicados por ano, no período entre 2015 e 2023.....	25
Gráfico 2 - Percentual de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas do total de estirpes isoladas das amostras de água e de sedimento ao longo do trecho da bacia do Rio Jaguaribe.....	41
Gráfico 3 - Distribuição de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas isoladas das amostras de água e de sedimento e sua morfologia distribuídas por pontos de coleta, ao longo do trecho da bacia do Rio Jaguaribe.....	42
Gráfico 4 - Percentual de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas para as amostras de água e de sedimento ao longo do trecho da bacia do Rio Jaguaribe.....	43
Gráfico 5 - Perfil de suscetibilidade do total de estirpes isoladas das amostras de água e de sedimento ao longo do trecho da bacia do Rio Jaguaribe frente aos antimicrobianos testados.....	45
Gráfico 6 - Distribuição da frequência de resistência antimicrobiana entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas isoladas das amostras de água e de sedimento ao longo de um trecho da bacia do Rio Jaguaribe.....	47
Gráfico 7 - Percentual de resistência das estirpes isoladas de água e sedimento de um trecho da bacia do Rio Jaguaribe frente aos antimicrobianos testados, por pontos de coleta.....	49
Gráfico 8 - Percentual de resistência das estirpes isoladas de um trecho da bacia do Rio Jaguaribe por amostras e por pontos de coleta.....	52
Gráfico 9 - Frequência de resistência potencialmente cromossômica e plasmidial das estirpes isoladas de água e sedimento do trecho da bacia do Rio Jaguaribe, por pontos de coleta.....	59

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Antimicrobianos utilizados, suas classes e sítios de ação.....	34
Tabela 2	- Parâmetros físico-químicos da água ao longo do trecho da bacia do Rio Jaguaribe medidos durante a coleta.....	38
Tabela 3	- Média e desvio padrão das populações de bactérias heterotróficas cultiváveis (BHC) isoladas das amostras de água e de sedimento ao longo do trecho da bacia do Rio Jaguaribe.....	39
Tabela 4	- Testes estatísticos para os antibióticos testados entre as amostras de água e de sedimento isoladas do trecho da bacia do Rio Jaguaribe.....	54
Tabela 5	- Perfis de resistência e multirresistência das estirpes isoladas das amostras de água e de sedimento ao longo da bacia do Rio Jaguaribe e seus respectivos índices de resistência (IRA) e de múltipla resistência aos antimicrobianos (MRA).....	55 56 57
Tabela 6	- Quantidade de estirpes isoladas das amostras de água e de sedimento do trecho da bacia do Rio Jaguaribe resistentes aos antimicrobianos testados.....	57
Tabela 7	- Caracterização da origem da resistência dos isolados das amostras de água e de sedimento do trecho da bacia do Rio Jaguaribe.....	59

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AO	Acridine Orange
AZI	Azitromicina
AMP	Ampicilina
BHC	Bactérias Heterotróficas Cultiváveis
CLO	Cloranfenicol
CLSI	Clinical and Laboratory Standard Institute
DOX	Doxiciclina
ERI	Eritromicina
ESBL	$\beta$ -lactamases de espectro estendido
ETEs	Estações de tratamentos
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura
GPS	Global Positioning System
IRA	Índice de resistência
LABOMAR	Instituto de Ciências do Mar
LAMAP	Laboratório de Microbiologia Ambiental
LVX	Levofloxacina
MRA	Múltipla resistência
OMSA	Organização Mundial de Saúde Animal
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan Americana da Saúde
PCA	Ágar Padrão para Contagem
PCR	Reação em cadeia da polimerase
SPSS	Statistical Package for Social Science
SUT	Sulfazotrim
TET	Tetraciclina
TSA	Ágar Triptona Soja
VNC	Viáveis, mas não cultiváveis

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
G	Gramma
H	Hora
km <sup>2</sup>	Quilômetro quadrado
ml	Mililitro
Nm	Nanômetro
µg	Micrograma
Ppm	Partes por milhão
S	Sul
W	West
UFC/ml	Unidades formadoras de colônia por mililitro
UFC/g	Unidades formadoras de colônia por grama

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
2	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	18
2.1	<b>Bacia do Rio Jaguaribe</b> .....	18
2.2	<b>Atividades Antrópicas ao longo da Bacia do Rio Jaguaribe</b> .....	18
2.3	<b>Uso de Antibióticos e Resistência Antimicrobiana</b> .....	19
2.4	<b>Resistência Antimicrobiana, genes de resistência e o Meio Ambiente</b> .....	21
2.5	<b>Análise bibliométrica sobre o tema</b> .....	23
3	<b>OBJETIVOS</b> .....	27
3.1	<b>Objetivo Geral da dissertação</b> .....	27
3.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	27
4	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
4.1	<b>Georreferenciamento e descrição dos pontos de coleta</b> .....	28
4.2	<b>Procedimentos de Coleta</b> .....	29
4.2.1	<i>Coleta das Amostras</i> .....	29
4.2.2	<i>Determinação dos Parâmetros físico-químicos</i> .....	30
4.3	<b>Diluição e Processamento das Amostras</b> .....	30
4.3.1	<i>Amostras de Água</i> .....	30
4.3.2	<i>Amostras de Sedimento</i> .....	31
4.4	<b>Isolamento Bacteriano</b> .....	33
4.5	<b>Análise morfotintorial das estirpes isoladas</b> .....	33
4.6	<b>Teste de Antibiograma</b> .....	34
4.7	<b>Determinação dos índices de resistência (IRA) e de múltipla resistência (MRA) aos antimicrobianos</b> .....	36
4.8	<b>Técnica da cura de plasmídeo</b> .....	36
4.9	<b>Análise estatística</b> .....	37
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	38
5.1	<b>Parâmetros físico-químicos da água</b> .....	38
5.2	<b>Quantificação de bactérias heterotróficas cultiváveis</b> .....	39
5.3	<b>Características morfotintoriais das estirpes isoladas</b> .....	41
5.4	<b>Suscetibilidade das estirpes isoladas frente aos antimicrobianos</b> .....	44
5.5	<b>Origem genética da resistência</b> .....	58
6	<b>CONCLUSÕES</b> .....	61
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	62

## 1 INTRODUÇÃO

Os antimicrobianos são de grande importância para o tratamento de diversas infecções na medicina humana e veterinária, porém, seu uso abusivo e indiscriminado aumentou bastante nas últimas décadas, resultando na seleção de bactérias resistentes a esses fármacos (OLIVEIRA; PEREIRA; ZAMBERLAM, 2020).

O surgimento de resistência antimicrobiana entre patógenos humanos e animais é uma questão preocupante, sendo considerada pela OMS (Organização Mundial da Saúde) como um dos dez eventos mais ameaçadores à saúde pública global. O uso não responsável de fármacos, juntamente com outros fatores de pressão seletiva, implica na maior frequência e dispersão de genes de resistência no ambiente e em matrizes ambientais, como o solo e as águas superficiais (LAXMINARAYAN, 2014; GRENNI; ANCOVA; CARACCILO, 2018; SOUSA *et al.*, 2018; UNEP, 2022). Resultados de investigação preveem a ocorrência de *pools* de resistência antimicrobiana associados principalmente às atividades antrópicas, além de fatores ambientais (CZATZKOWSKA *et al.*, 2022).

O Microbioma bacteriano, ou bacterioma, pode ser entendido como o conjunto dos genomas presentes em determinado ambiente ou amostras, enquanto que o conjunto de todos os genes de resistência a antimicrobianos entre microrganismos patogênicos e comensais presentes na microbiota de variados ecossistemas é conhecido como resistoma e costuma ser impactado por atividades antrópicas. O microbioma ambiental tem como característica marcante uma alta variedade de genes de resistência. A água, o solo e outros nichos ecológicos fornecem um *pool* genético mais diverso que a microbiota humana e animal, contribuindo ativamente para a evolução da resistência antimicrobiana (NOWROTEK, *et al.*, 2019; SANTOS, 2019; LARSSON; FLACH, 2022).

A entrada de antimicrobianos e seus metabólitos no ambiente se dá por várias vias, principalmente, por meio de efluentes hospitalares e águas residuais não tratadas, lodos de esgoto, descarga de resíduos municipais, de agropecuária e aquicultura, além de efluentes dos fabricantes desses fármacos. Estações de tratamento (ETEs) não são projetadas para remover resíduos de antibióticos, portanto, não são capazes de eliminar completamente essas substâncias. Uma vez no ambiente, os antimicrobianos são capazes de alterar comunidades microbianas naturais responsáveis por desempenharem processos ecológicos fundamentais para manutenção da qualidade da água e do solo. Embora os antibióticos estejam presentes no meio ambiente, não há qualquer tipo de monitoramento por parte das autoridades nacionais ou internacionais que possa fornecer indicações úteis para futuras regulamentações e legislações

ambientais. Comparativamente, a resistência ambiental recebeu menos foco do que a resistência antimicrobiana na saúde de humanos e animais, mesmo que o ambiente natural seja um importante reservatório de resistência (UNEP, 2022; GRENNI, 2022).

A resistência antimicrobiana deve ser um assunto tratado com urgência na saúde pública, na produção animal, agrícola e no meio ambiente. Sua prevalência põe em risco o tratamento eficaz de infecções causadas por bactérias, fungos, vírus e parasitas, resultando em enfermidades mais prolongadas e com maior mortalidade, ao mesmo tempo em que põe em risco a sustentabilidade dos sistemas agroalimentares e, conseqüentemente, a segurança alimentar (OPAS, 2020).

O Rio Jaguaribe é o maior e mais importante curso hídrico do Ceará e exerce um papel de destaque no desenvolvimento socioeconômico do estado (PANTALENA; MAIA, 2014; CEARÁ, 2018). É comum a presença de atividades antropogênicas ao longo da bacia do Rio Jaguaribe, no entanto, não há registros de como a poluição causada por fatores antrópicos afeta a dinâmica do resistoma ambiental dessa região. Este é um trabalho pioneiro e por isso importante no combate à propagação da resistência antimicrobiana ao fornecer informações de como diferentes atividades antrópicas contribuem para o resistoma e microbioma do Rio Jaguaribe.

Diante do exposto, é importante o entendimento da evolução da resistência antimicrobiana e a disseminação de genes de resistência no ambiente e suas conseqüências ambientais. Desse modo, o objetivo principal da pesquisa foi caracterizar os fenótipos de resistência bacteriana relacionados à água e ao sedimento em pontos ao longo de um trecho da bacia do Rio Jaguaribe, no Ceará, correlacionando com as atividades antrópicas presentes em seu entorno.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Bacia do Rio Jaguaribe

Localizado na região leste do estado do Ceará, o Rio Jaguaribe é o maior e o mais importante curso hídrico do estado. Possui mais de 600 km de extensão e banha onze cidades, tendo sua foz desaguando no Oceano Atlântico, nas divisas dos municípios de Aracati e Fortim (CEARÁ, 2018; COSTA *et al.*, 2020).

A Bacia hidrográfica do Rio Jaguaribe abrange uma área de drenagem de cerca de 80.000 km<sup>2</sup> e ocupa mais da metade do território cearense. Juntamente com os rios Salgado e Banabuiú, formam as bacias do Alto, Médio e Baixo Jaguaribe (GODOY, 2011; PANTALENA; MAIA, 2014). Por estar localizado no semiárido do Nordeste, em que há predomínio de períodos de estiagem, o Rio Jaguaribe, por muito tempo, ficou conhecido como o maior rio seco do mundo (COSTA *et al.*, 2020).

Apesar da irregularidade hídrica do Ceará, o Rio Jaguaribe exerce um papel de destaque no desenvolvimento do estado. No entanto, atividades antrópicas mais intensas têm contribuído para a degradação ambiental, comprometendo a integridade funcional do ecossistema estuarino desse corpo hídrico (PANTALENA; MAIA, 2014).

### 2.2 Atividades antrópicas ao longo da bacia do Rio Jaguaribe

Desde o início do processo de colonização do estado do Ceará, as margens do Rio Jaguaribe foram palco de diferentes atividades econômicas e sociais. Porém, a falta de planejamento, o crescimento desordenado, juntamente com os vários ciclos econômicos e as ações antrópicas resultantes dessas atividades, implicaram em impactos ambientais na bacia do Jaguaribe (PANTALENA; MAIA, 2014).

O semiárido do Ceará, devido às suas particularidades, possui recursos naturais comumente mais frágeis às ações antrópicas. Na bacia do Jaguaribe, atividades como urbanização, construções civis, desmatamento, agropecuária, aquicultura, erosão e assoreamento de rios, mineração, turismo, dentre outras, estão relacionadas com a degradação dessa região (FREIRE *et al.*, 2013). Dos impactos comumente observados em bacias hidrográficas, a maioria está relacionada ao uso da água e poluição dos ecossistemas (PEÑAGUZMÁN *et al.*, 2019).

A agricultura responde pela maior ocupação do solo, a pecuária é uma atividade paralela à agricultura e possui uma distribuição difusa ao longo da bacia do Jaguaribe, enquanto que a aquicultura é uma atividade de destaque devido à sua importância econômica (PAULA; MORAIS; PINHEIRO, 2006).

O estuário do Rio Jaguaribe, situado no baixo curso da bacia, sofre intensa intervenção antropogênica e tem como atividade de destaque o extrativismo, com captura de crustáceos e moluscos. Por serem ecossistemas comuns ao redor do mundo e que apresentam condições favoráveis para a instalação de cidades, portos e indústrias, os estuários são, historicamente, ambientes bastante utilizados, sendo fundamentais para o desenvolvimento social, urbano e econômico das cidades que os cercam. Suas atividades econômicas, bem como sua diversidade biológica, representam quase 80% da valoração de ambientes costeiros (PAULA; MORAIS; PINHEIRO, 2006; DUAVÍ *et al.*, 2015; PEREIRA; GOMES, 2021). Porém, por desempenharem importante papel socioeconômico e ambiental, os ambientes estuarinos sofrem uma forte pressão antrópica, tendo como consequência uma mudança significativa na sua integridade ecológica e no seu equilíbrio natural (COSTA, 2013; PEREIRA; GOMES, 2021).

A poluição nessa área não muda do interior para a costa, mas pode variar com a mistura das marés e de acordo com as descargas pontuais de resíduos (HO *et al.*, 2021). Portanto, é comum que atividades antrópicas contribuam de maneira significativa para alterações da microbiota, promovendo, por exemplo, a propagação de genes de resistência entre as bactérias desses ambientes (MANJUSHA; SARITA, 2013). Uma vez que muitas atividades antrópicas fazem uso de antimicrobianos, agrotóxicos, detergentes e outras substâncias químicas, além dos insumos de efluentes de estações de tratamentos de esgoto (ETEs) e águas residuais, que também estão relacionados à prevalência e seleção de bactérias resistentes e à transmissão de seus genes de resistência no ambiente (AMOS *et al.*, 2015; CABELLO *et al.*, 2016).

### **2.3 Uso de Antibióticos e Resistência Antimicrobiana**

Os antimicrobianos são os principais fármacos utilizados no combate de doenças infecciosas, diminuindo, consideravelmente, a morbimortalidade de origem bacteriana. Porém, seu uso constante não afeta somente quem os utiliza, mas também altera, de forma expressiva, o ambiente ao interferir na ecologia microbiana (BRASIL 2007; DO PRADO SOUZA *et al.*, 2021). Dentre os antibióticos mais popularmente utilizados estão aqueles

pertencentes às classes dos  $\beta$ -Lactâmicos, Quinolonas, Macrolídeos, Tetraciclina, Aminoglicosídeos e Sulfonamida (CZATZKOWSKA *et al.*, 2022).

Além de serem usados como medicamento humano no tratamento e prevenção de doenças, os antibióticos são bastante utilizados na veterinária, em criações de animais, como promotores de crescimento pecuário, agricultura e também na aquicultura. Contudo, essas substâncias são descartadas de maneira inadequada no ambiente e sua remoção se dá de forma incompleta, causando danos à saúde humana e animal (LI, 2014).

A principal via de entrada dos antibióticos no meio ambiente se dá através de efluentes provenientes de atividades antrópicas, que trazem consigo diversos contaminantes orgânicos e inorgânicos que podem se associar às partículas de sedimento e interagir com a matéria orgânica, interferindo no transporte e na disponibilidade desses compostos de forma a persistirem no ambiente (HUGUET *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2021). O tratamento ineficiente desses efluentes faz com que eles atuem como uma fonte importante de genes de resistência (AL SALAH; LAFFITE; POTÉ, 2019).

O uso indiscriminado e excessivo de antimicrobianos e sua ocorrência no ambiente representa um fator significativo para o surgimento de bactérias resistentes, visto que essas substâncias tendem a favorecer o surgimento da resistência antimicrobiana (MAIA *et al.*, 2021). Vale ressaltar que os antibióticos não são capazes de induzir a resistência antimicrobiana, eles apenas selecionam indivíduos resistentes já presentes em uma população bacteriana (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015).

A presença de antibióticos age de maneira seletiva na evolução e disseminação de genes de resistência, alterando, significativamente, a microbiota natural. Embora o aumento da resistência esteja ligado ao uso de antibióticos, acredita-se também que essa resistência seja um fenômeno antigo, natural, geneticamente rico e que faz parte do genoma microbiano (BHULLAR *et al.*, 2012).

A resistência antimicrobiana pode ser intrínseca ou adquirida. O resistoma antibiótico intrínseco é considerado um fenômeno natural, podendo estar presente em todas as espécies bacterianas e que antecede a quimioterapia antibiótica (COX; WRIGHT, 2013). Configura-se como um caráter hereditário, transmitido verticalmente e comandado por genes cromossômicos que alteram a célula bacteriana, determinando a presença de mecanismos e estruturas que impedem a ação do antimicrobiano, a ausência de receptores para ação da droga ou a produção de enzimas que inibem o antibiótico (TAVARES, 2014).

A resistência adquirida acontece quando bactérias, originalmente sensíveis a determinados antibióticos, passam a apresentar resistência a esses mesmos antimicrobianos.

Isso ocorre devido a modificações na estrutura ou no funcionamento das células bacterianas, com o surgimento de uma nova característica expressa, muitas vezes devido às mutações e transferência de material genético e devido à exposição a antibióticos residuais (TAVARES, 2014; CULYBA; MO; KOHLI, 2015; LIMA; BENJAMIN; SANTOS, 2017).

Podemos definir a resistência antimicrobiana como a capacidade, herdada ou adquirida, que permite a sobrevivência, a evolução e multiplicação dos microrganismos na presença de antibióticos (UNEP, 2022). Quando uma bactéria desenvolve resistência a mais de um agente antimicrobiano, elas passam a ser conhecidas como superbactérias. Podem ser subdivididas em multirresistentes, quando possuem resistência a antibióticos de três ou mais classes distintas; em extensamente resistentes, quando apresentam resistência a uma ou duas classes; e bactérias pan-resistentes, quando são resistentes a todos os antimicrobianos, de todas as classes, não havendo mais fármacos eficientes (SILVA, 2017).

Embora o uso antrópico desses antimicrobianos exerça um papel relevante para a propagação da resistência antimicrobiana, há relatos de bactérias pertencendo a microbiomas isolados ou pouco afetados por ações humana que apresentaram multirresistência, provando que esse fenótipo pode ser um fator natural da bactéria (BHULLAR *et al.*, 2012).

#### **2.4 Resistência Antimicrobiana, genes de resistência e o Meio Ambiente**

O ambiente natural configura-se como um importante reservatório de resistência antimicrobiana. Microrganismos resistentes estão presentes em humanos, animais, em alimentos e nas matrizes ambientais, como água, solo e ar. Em locais em que o abastecimento de água, o saneamento e a higiene são inadequados, é comum que a água, e potencialmente o solo, atuem para o desenvolvimento e a disseminação da resistência antimicrobiana. A presença de compostos de antibióticos no meio ambiente, em contato com comunidades bacterianas naturais e bactérias resistentes, estimula a evolução bacteriana e o aparecimento de estirpes mais resistentes (UNEP, 2022).

A detecção de genes de resistência a antibióticos é frequente e constante em ecossistemas, constituindo um problema de saúde pública, mas também um problema ecológico. A presença de antimicrobianos e outros cofatores de resistência potencializa a ocorrência desses genes nos cromossomos e em elementos móveis de bactérias ambientais e a transferência para pessoas, animais e patógenos clinicamente importantes. O meio ambiente possui um reservatório genético consideravelmente maior e tem como principal fonte de novos genes de resistência bactérias ambientais capazes de carregar os genes e se mover

livremente do ambiente para outras microbiotas (HUIJBERS; FLACH; LARSSON, 2019; LARSSON; FLACH, 2022).

Bactérias ambientais possuem uma grande diversidade genética e capacidade metabólica, agindo na ciclagem biogeoquímica e na degradação de contaminantes orgânicos. Antimicrobianos no ambiente podem dificultar o funcionamento e a estrutura dessas comunidades bacterianas, causando efeitos diretos e indiretos a curto e a longo prazo, agindo como bactericidas ou bacteriostáticos e causando o desaparecimento de algumas populações microbianas e seu funcionamento ecológico (GRENNI, 2022).

A ocorrência de resistência antimicrobiana no ambiente também acontece devido a estressores não antibióticos, tais como biocidas, metais pesados, conservantes químicos, microplásticos e outros micropoluentes presentes no ambiente através da co-resistência, quando o microrganismo abriga dois genes de resistência diferentes, ou através da resistência cruzada que ocorre quando um gene é responsável pela resistência ao antibiótico e outra substância poluente. Ativação da bomba de efluxo, indução de mutações genéticas e inibição de poros da membrana são alguns dos mecanismos associados à co-seleção de bactérias resistentes a antibióticos (QIU *et al.*, 2022; CZATZKOWSKA *et al.*, 2022).

A ocorrência de genes de resistência também pode ser de maneira natural em microrganismos ambientais, é o chamado resistoma ambiental. Além da presença de plasmídeos e outros elementos que transportam a resistência entre bactérias (VAZ-MOREIRA; NUNES; MANAIA, 2014; GRENNI, 2022). O conceito de resistoma foi desenvolvido recentemente e pode ser definido como o conjunto de todos os genes, tanto os cromossômicos, responsáveis pela resistência inata, quanto os adquiridos através de alterações genômicas ou via transferência horizontal de genes e que contribuem para a propagação da resistência antimicrobiana entre bactérias ambientais e clinicamente importantes (BELLO-LÓPEZ *et al.*, 2019).

Genes de resistência podem ser transferidos de bactérias ambientais para vegetais e até para o intestino humano. Por ser mais rápida do que mutações espontâneas, a transferência horizontal de genes tornou-se um dos fatores mais importantes na propagação de resistência entre bactérias, mesmo as que são filogeneticamente distantes (LIM; CHO; RHO, 2018; BELLO-LÓPEZ *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2019; LERMINIAUX; CAMERON, 2019).

A resistência a antibióticos pode ser transmitida entre humanos e animais, direta ou indiretamente, através do meio ambiente. Sabe-se que a presença de bactérias resistentes influencia diretamente na prevalência da resistência em humanos, sendo o ambiente um

facilitador para essa transmissibilidade (LEPPER; WOOLHOUSE; VAN BUNNIK, 2022). A transferência de bactérias resistentes e de genes de resistência também pode ocorrer entre ambientes aquáticos e terrestres e resulta em efeitos negativos para a saúde humana, animal e para o ecossistema (SANTOS, 2019).

Fatores que melhorem ou promovam a presença de genes de resistência no ambiente ou em patógenos animais podem afetar a saúde humana, já que seres humanos vivem no ambiente e estão estritamente ligados a ele (WALTON 2017; HUIJBERS; FLACH; LARSSON, 2019).

A resistência antimicrobiana representa, portanto, uma grave ameaça global à saúde humana, animal e ambiental, despertando uma crescente preocupação por parte da OMS. Essa estreita ligação entre resistência antimicrobiana com a saúde humana, de animais e com o meio ambiente foi reconhecida como uma questão de *One Health*, que consiste em uma abordagem integrada e centralizadora, cujo objetivo é equilibrar a saúde de pessoas, animais e ecossistemas de forma sustentável, abordando o problema da resistência antimicrobiana de maneira multisetorial e multidisciplinar (UNEP, 2022).

Desde 2010, há um compromisso entre a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO), a Organização Mundial de Saúde Animal (OMSA) e a Organização Pan Americana da Saúde (OPAS) para o combate da resistência antimicrobiana, com a implementação de um projeto denominado “Trabalhando juntos para combater a resistência aos antimicrobianos” visando mitigar os riscos na saúde pública, animal e meio ambiente, sob o enfoque que reconheça a multidimensionalidade e a necessidade de uma resposta intersetorial que este problema exige (OPAS, 2020).

## **2.5 Análise bibliométrica sobre o tema**

Através da realização de uma pesquisa bibliométrica da literatura foi possível coletar, selecionar e analisar estudos que contribuíram para a construção de uma base teórica. De acordo com Quevedo-Silva *et al.* (2016), a pesquisa bibliométrica tem como objetivo principal apresentar e divulgar a produção e o conhecimento científico. Como estratégia para elaboração da revisão bibliométrica foram utilizadas algumas etapas, tais como: escolha do banco de dados, uso de palavras-chave e critérios de inclusão.

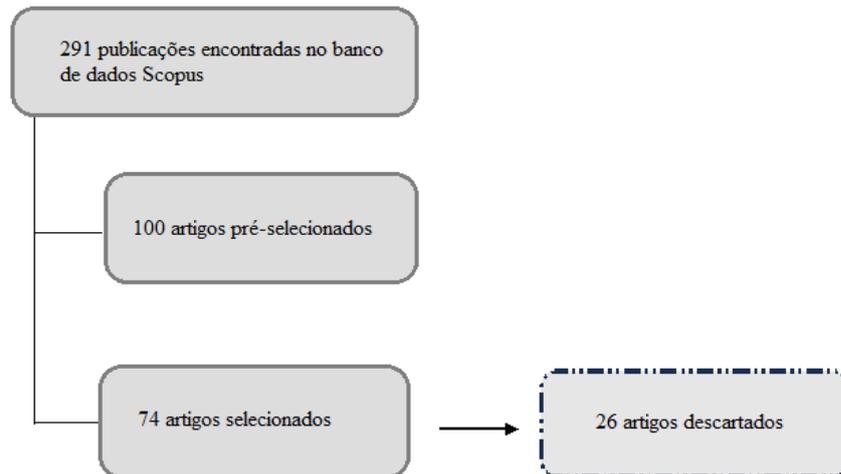
A busca dos estudos se deu na base de dados *Scopus*, considerando o título do artigo, o resumo e as palavras-chave. Foram escolhidos como palavras-chave os termos: *resistome*, *antimicrobials*, *resistance genes*, *environment* combinados com o termo booleano

AND, a fim de restringir a pesquisa. Adotaram-se como critérios de inclusão artigos originais e de revisão, publicados em periódicos, no período compreendido entre 2015 a 2023, tendo como idioma selecionado o inglês e estando na subárea de Ciência Ambiental.

Desta forma, inicialmente, foram encontrados um total de 291 publicações e, após a inclusão dos critérios de elegibilidade, foram então pré-selecionados 100 artigos. A partir da leitura de títulos e resumos, 74 artigos foram selecionados para leitura na íntegra, sendo descartados aqueles que não atenderam aos critérios pré-estabelecidos.

A Figura 1 representa o fluxograma correspondente ao processo de seleção das publicações.

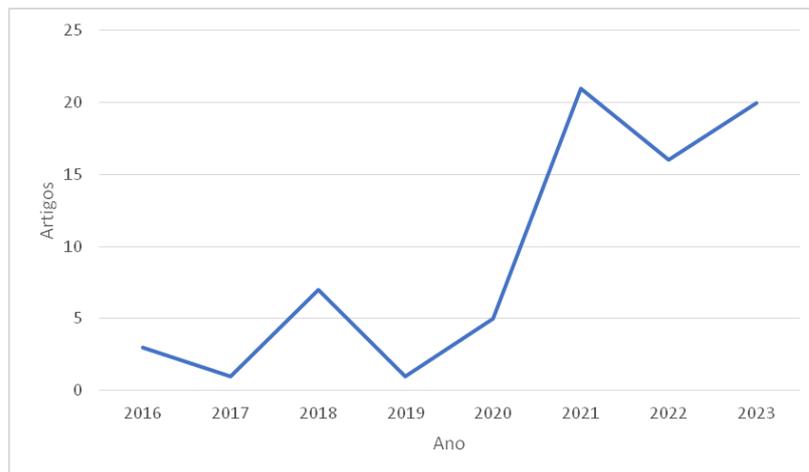
Figura 1 – Fluxograma do processo de seleção das publicações sobre resistoma na base de dados Scopus.



Fonte: Autora.

O Gráfico 1 apresenta o número de estudos publicados entre 2015 e 2023, com um aumento do número de publicações nos últimos três anos.

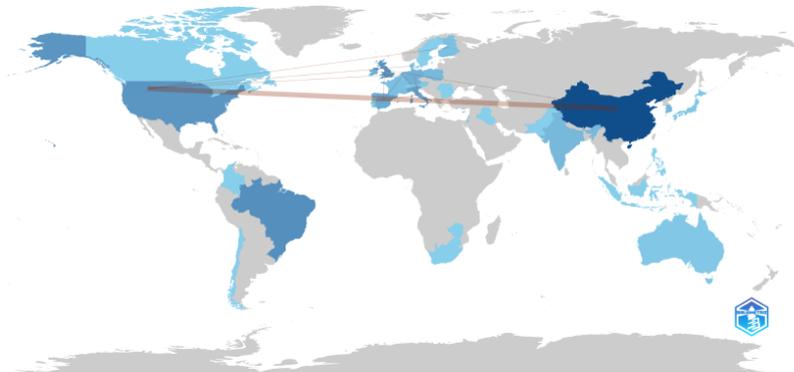
Gráfico 1 – Número de artigos sobre resistoma publicados por ano, no período entre 2015 e 2023.



Fonte: Autora, baseado em dados da base Scopus.

A figura 2 mostra os países que mais publicaram os artigos sobre o tema pesquisado. Quanto mais intensa a cor, maior o número de publicações. No caso, a maioria dos artigos selecionados é oriundo da China, Estados Unidos e Brasil. A linha avermelhada presente na Figura 2 mostra as colaborações feitas entre os países, com relação às publicações.

Figura 2 - Países que mais publicaram artigos sobre resistoma.



Fonte: Autora, baseado em dados da base Scopus.



### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral da dissertação**

Caracterizar os fenótipos de resistência bacteriana relacionados à água e sedimento ao longo da bacia do Rio Jaguaribe, no Ceará, correlacionando com as atividades antrópicas presentes em seu entorno.

#### **3.2 Objetivos específicos**

1. Determinar os parâmetros físico-químicos da água no momento da coleta;
2. Quantificar, isolar e identificar as características morfotintoriais das estirpes a partir da água e do sedimento da bacia do Rio Jaguaribe;
3. Determinar o perfil fenotípico de resistência a antibióticos entre os isolados bacterianos através de teste de antibiograma;
4. Estabelecer a potencial origem genética dos perfis de resistência;
5. Correlacionar os perfis de resistência na bacteriota com as atividades antrópicas no entorno.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Georreferenciamento e descrição dos pontos de coleta

Foi realizada uma coleta em novembro de 2021, em seis pontos distintos, previamente selecionados e distribuídos ao longo da bacia do Rio Jaguaribe, no litoral leste do estado do Ceará, mais especificamente nos municípios de Fortim, Aracati e Itaiçaba. Em cada ponto foram coletadas amostras de água e de sedimento.

As coordenadas referentes a cada um dos pontos de coleta foram obtidos através do uso do equipamento de geolocalização (GPS) da marca Garmin Colorado 400d e são elas: (P1) Fortim: 4° 48' 78" S; 37° 79' 08" W; (P2) Aracati: 4° 52' 94" S; 37° 78' 92" W; (P3) Aracati: 4° 56' 73.3" S; 37° 77' 74" W; (P4) Aracati: 4° 63' 07" S; 37° 81' 01" W; (P5) Itaiçaba: 4° 67' 13" S; 37° 81' 93" W; (P6) Itaiçaba: 4° 67' 15" S; 37° 81' 06" W.

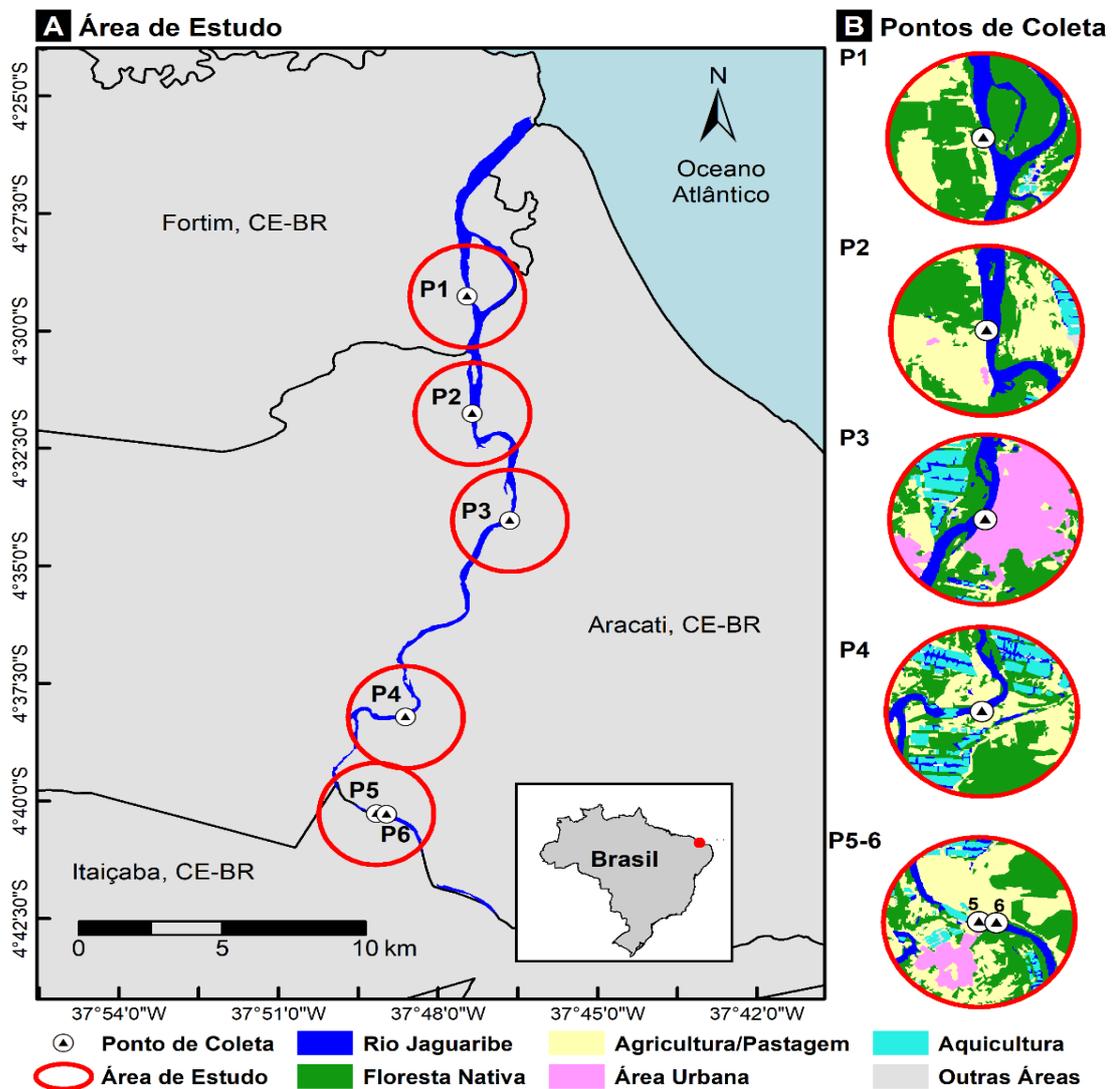
Os seis pontos foram escolhidos por possuírem distintas composições de áreas, tais como: infraestrutura urbana, vegetação nativa, agricultura, pastagem, aquicultura e barragens (MAPBIOMAS, 2021), como mostra a Figura 4.

Sendo P1 o ponto de coleta localizado mais próximo ao mar, na foz do rio, tendo seu entorno constituído principalmente por áreas de florestas e manguezais e utilizado para atividades de agricultura, pecuária e aquicultura. O P2 é formado por áreas de pastagem, agricultura e áreas de formação natural não florestal, como: apicum, salgado e afloramento rochoso.

O P3 tem como diferencial o maior aporte de nutrientes advindo de esgoto sanitário devido a sua localização está dentro da cidade de Aracati. O P4 está localizado principalmente próximo a fazendas de aquicultura, uma das atividades mais relacionadas com a degradação dos ecossistemas de manguezais.

Por fim, os pontos P5 e P6 estão inseridos em semelhantes áreas de infraestrutura urbana, vegetação, aquicultura, agricultura e pecuária, porém uma estrutura física (barragem) os separa, deste modo, em um lado do rio há água salgada (P5) e no outro há água doce (P6).

Figura 4 - Mapa de Localização dos pontos de coleta das amostras de água e de sedimento ao longo da bacia do Rio Jaguaribe.



Fonte: Lima, 2022 (Adaptado).

## 4.2 Procedimentos de Coleta

### 4.2.1 Coleta das Amostras

Em cada ponto foram coletados três litros de água em garrafas esterilizadas de vidro âmbar. O volume coletado foi então filtrado em um chumaço de gaze esterilizada de um metro de comprimento e embebido em água do mar diluída à concentração de 10ppm. O sedimento foi coletado com a ajuda de um coletor de sedimento, em profundidades que

variaram de acordo com os pontos de coleta, e foram guardados em sacos plásticos estéreis. Em seguida, as amostras foram armazenadas em caixa isotérmica e levadas ao Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP) no Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR/UFC) onde foram processadas.

#### ***4.2.2 Determinação dos Parâmetros físico-químicos***

No momento da coleta, foram medidas a temperatura e a salinidade da água, com ajuda de um termômetro da marca INCOTERM e de um refratômetro da marca ATAGO S/MILL, respectivamente.

### **4.3 Diluição e Processamento das Amostras**

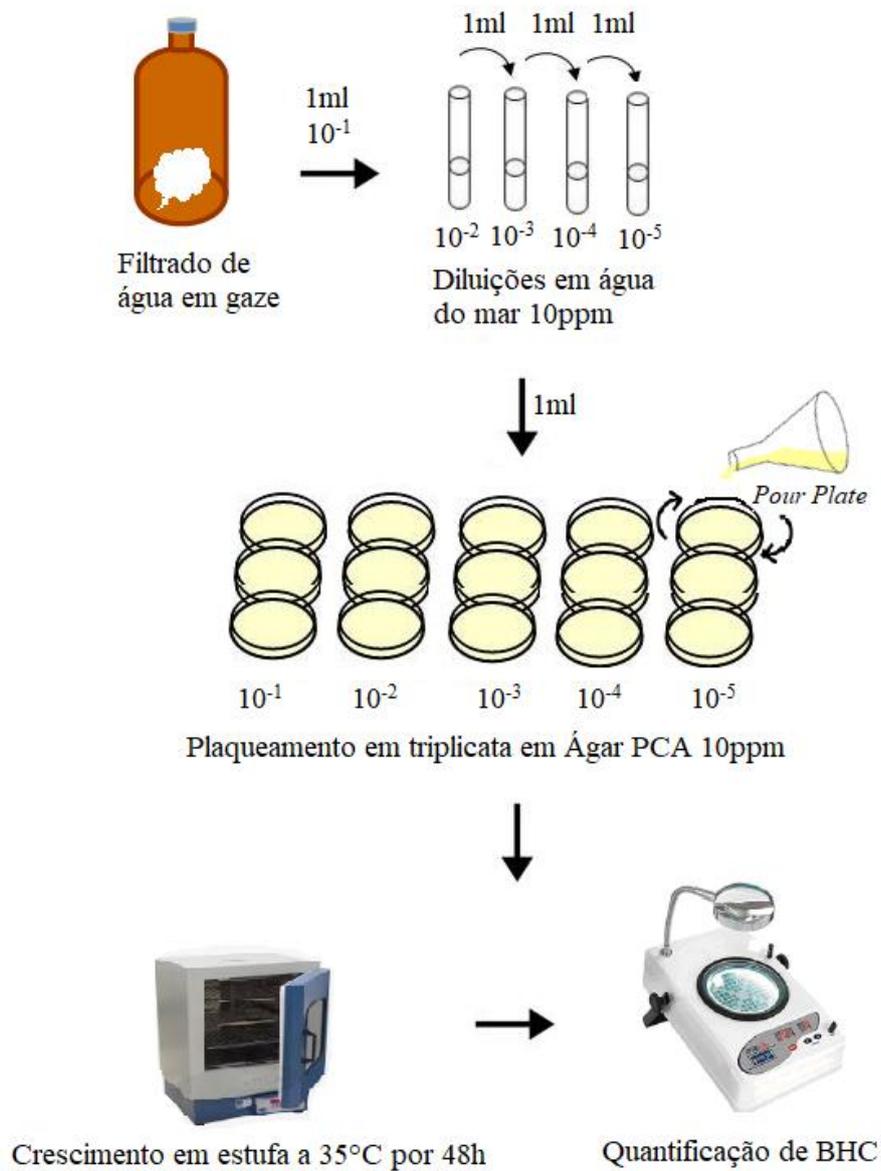
#### ***4.3.1 Amostras de Água***

O recipiente com água do mar a 10ppm, contendo o chumaço de gaze com a água filtrada, foi agitado em temperatura ambiente para promover a suspensão do material. Em seguida, foi retirada uma alíquota de 1ml da solução. Esta correspondeu à diluição  $10^{-1}$  e, a partir dela, foram feitas diluições decimais até a diluição  $10^{-5}$ , utilizando como diluente água do mar a 10ppm, em uma proporção de 1:9.

Em seguida, foi feito plaqueamento em Ágar PCA (Ágar Padrão para Contagem) com o intuito de quantificar as populações de bactérias heterotróficas cultiváveis (BHC). O procedimento foi realizado em triplicata e aplicada a técnica de *Pour Plate*.

As placas foram incubadas em estufa a 35°C por 48h (DOWNES; ITO, 2001) e, após esse período, foi realizada a contagem utilizando um contador de colônias da marca Phoenix e os resultados expressos em Unidades Formadoras de Colônias por mililitro da amostra (UFC/ml) (Figura 5).

Figura 5- Fluxograma das diluições e processamento das amostras de água.



Fonte: Autora.

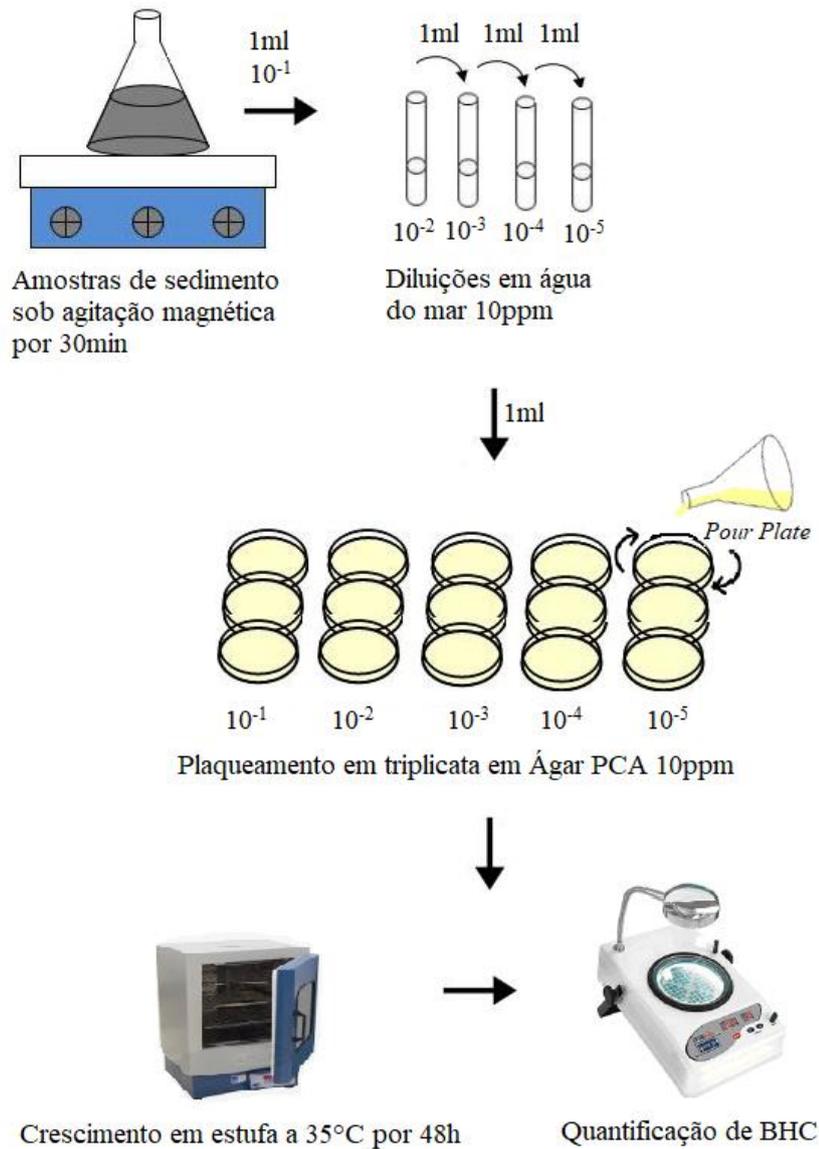
#### 4.3.2 Amostras de Sedimento

Foram pesadas 10g das amostras de sedimento e diluídas em 90ml de água do mar a 10ppm. A solução foi mantida em agitação magnética por 30 minutos e correspondeu à diluição 10<sup>-1</sup>. A partir dela, foram feitas diluições decimais até a diluição 10<sup>-5</sup>. Em seguida, alíquotas de 1ml foram inoculadas em meio Ágar PCA (Ágar Padrão para Contagens) para

quantificação das populações de bactérias heterotróficas cultiváveis (BHC) por meio da técnica de *Pour Plate*. O procedimento foi realizado em triplicata.

As placas foram incubadas em estufa a 35°C por 48h e após as contagens, os resultados foram expressos em UFC/g de sedimento (Figura 6).

Figura 6- Fluxograma das diluições e processamento das amostras de sedimento.



Fonte: Autora.

#### 4.4 Isolamento Bacteriano

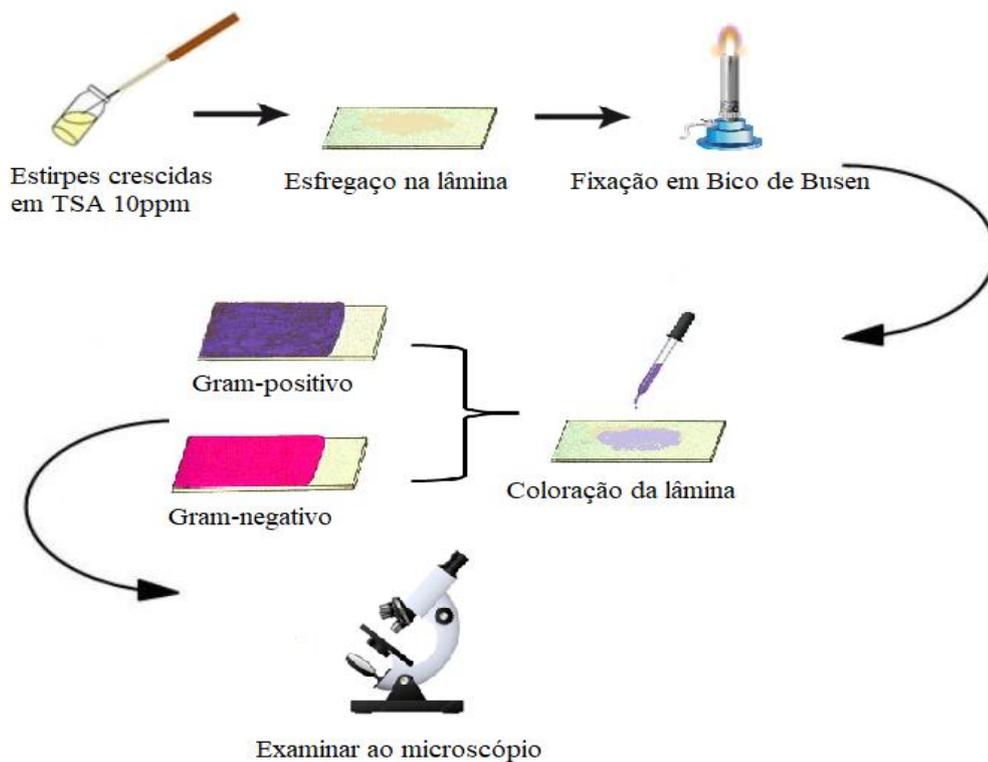
As colônias crescidas no meio de cultura Ágar PCA, foram analisadas quanto a sua morfologia, coloração e tamanho com objetivo de isolamento e purificação. As colônias selecionadas foram repicadas em meio de cultura Ágar Triptona Soja (TSA) e incubadas em estufa a 35°C por 24h.

Todos os meios de cultura utilizados foram preparados usando água do mar com salinidade ajustada a 10ppm como diluente, a fim de imitar as características do ambiente natural e favorecer o crescimento bacteriano.

#### 4.5 Análise morfotintorial das estirpes isoladas

A caracterização morfológica das células e a composição de parede das estirpes isoladas foram determinadas pela técnica de coloração de Gram, como descrito por Tortora, Case e Funke (2016) (Figura 7).

Figura 7- Fluxograma da técnica de coloração de Gram.



#### 4.6 Teste de antibiograma

As estirpes isoladas e divididas em Gram-positivas e Gram-negativas foram testadas frente a oito antimicrobianos pertencentes a seis diferentes classes, com diferentes sítios de ação e sendo todos os antimicrobianos de amplo espectro. São eles: Tetraciclina 30µg, Doxiciclina 30µg, Sulfazotrim 25µg, Eritromicina, 15µg, Azitromicina 15µg, Levofloxacina 5µg, Cloranfenicol 30µg e Ampicilina 2µg. Os antimicrobianos, suas respectivas classes, sítios de ação e concentração dos discos estão expostos na Tabela 1.

O antibiograma foi realizado pelo método de difusão em disco, de acordo com a metodologia proposta por Kirby-Bauer (BAUER; KIRBY; SHERRIN, 1966), e seguiu as recomendações estabelecidas pelo Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI, 2022) e os discos de antimicrobianos utilizados são da marca LABORCLIN.

Tabela 1- Antimicrobianos utilizados, suas classes e sítios de ação.

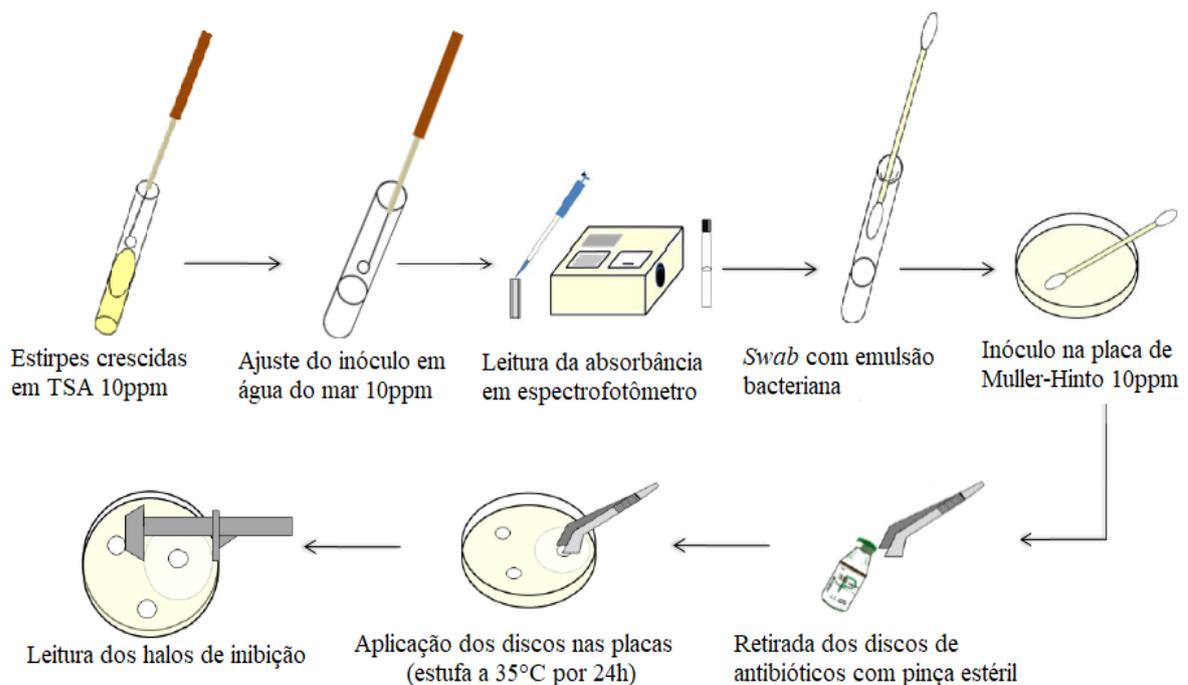
Classe	Antimicrobianos	Sítio de ação	Concentração dos discos
Tetraciclina	Tetraciclina (TET)	Inibição da síntese proteica	30µg
	Doxiciclina (DOX)		30µg
Sulfonamida	Sulfazotrim (SUT)	Inibição do metabolismo do ácido fólico	25µg
Macrolídeos	Eritromicina (ERI)	Inibição da síntese proteica	15µg
	Azitromicina (AZI)		15µg
Quinolonas	Levofloxacina (LVX)	Inibição da síntese de DNA	5µg
Cloranfenicol	Cloranfenicol (CLO)	Inibição da síntese proteica	30µg
β-Lactâmicos	Ampicilina (AMP)	Interferência na síntese do peptideoglicano	2µg

A partir das culturas crescidas em TSA a 35°C por 24h, parte do inóculo foi homogeneizada em água do mar 10ppm até conseguir uma turvação equivalente à turbidez padrão 0,5 da escala de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/ml). A absorbância foi aferida em um espectrofotômetro (Micronal B542), considerando o intervalo de 0,08 a 0,10, com comprimento de onda de 625nm.

Com a ajuda de um *swab* de algodão estéril, as culturas foram inoculadas em placas de Petri contendo Ágar *Muller-Hinton*. Os discos de antimicrobianos foram, individualmente, depositados na superfície do ágar com o auxílio de pinças esterilizadas. As placas foram invertidas e incubadas em estufa a 35°C por 24h. Após esse período, foi realizada a leitura do diâmetro dos halos de inibição.

De acordo com o resultado da medição dos halos, as estirpes foram classificadas em resistentes (R), Intermediárias (I) e Sensíveis (S), segundo as recomendações do Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI, 2022), do European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, 2022) e do Manual de Antibiograma do fabricante dos discos (LABORCLIN, 2019) (Figura 8).

Figura 8- Fluxograma do teste de antibiograma.



Fonte: Autora.

#### 4.7 Determinação dos índices de resistência (IRA) e de múltipla resistência (MRA) aos antimicrobianos

Os resultados do antibiograma foram utilizados para obtenção dos índices de resistência das cepas aos antimicrobianos testados (IRA) (JONES *et al.*, 1986) e o de múltipla resistência (MRA) (KRUMPERMAN, 1983).

$$\text{IRA} = \frac{y}{n \cdot x} \quad (1) \quad \text{onde:}$$

y= total do número de resistentes

n= número de isolados

x = número de antimicrobianos testados

$$\text{MRA} = \frac{a}{b} \quad (2) \quad \text{onde:}$$

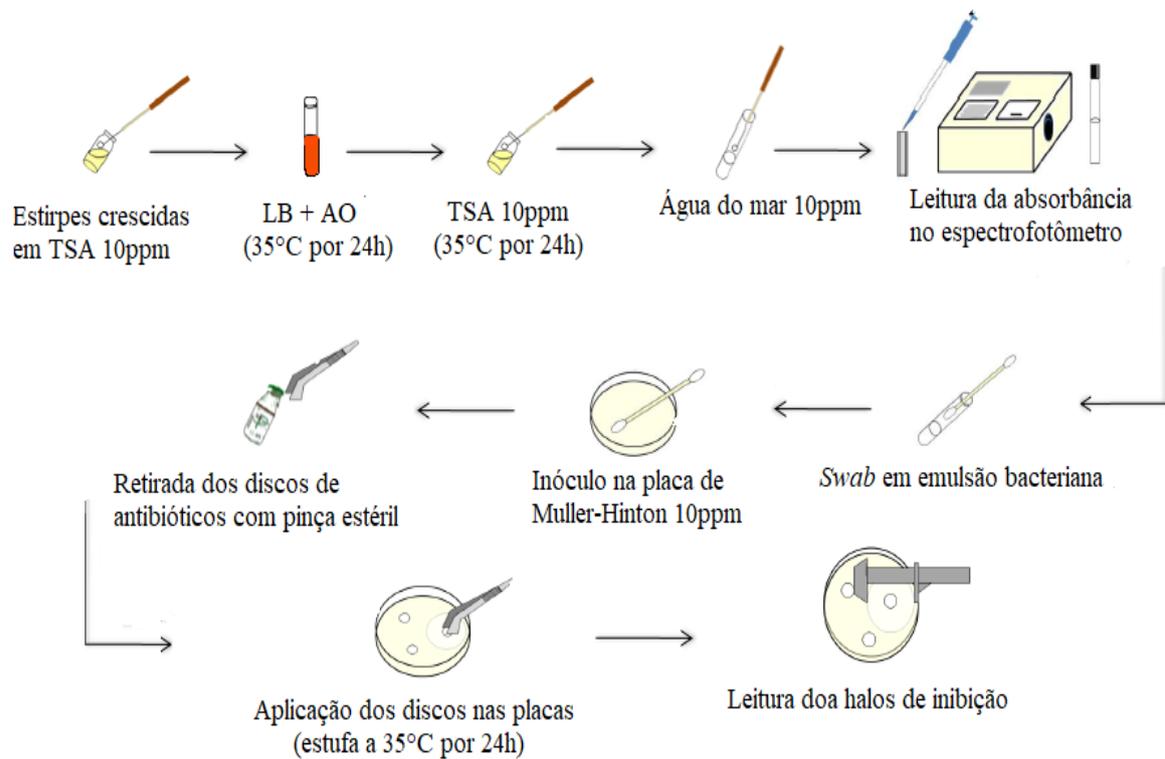
a= número de antimicrobianos aos quais o isolado foi resistente

b= número de antimicrobianos aos quais o isolado foi testado

#### 4.8 Técnica da cura de plasmídeo

As estirpes que apresentaram resistência a um ou mais antibióticos testados e aquelas classificadas como intermediárias foram submetidas à técnica de cura de plasmídeo, de acordo com Molina-Aja *et al.* 2002, a fim de determinar a origem da resistência, se plasmidial ou potencialmente cromossômica. Para isso, foi utilizado caldo LB (Luria-Bertani - Difco) acrescido de 50µg/ml do agente curagênico *acridine orange* (AO) (SIGMA- A 6014). As estirpes crescidas nesse meio, a 35°C por 24h, foram novamente submetidas ao teste de antibiograma descrito no item 4.6 frente aos antimicrobianos aos quais se mostraram resistentes (Figura 9).

Figura 9- Fluxograma da técnica de cura de plasmídeo.



Fonte: Autora.

#### 4.9 Análise estatística

Os dados de contagens das bactérias heterotróficas cultiváveis (BHC) e da resistência aos antimicrobianos foram submetidos à análise estatística descritiva e inferencial. Para realização dos testes não paramétricos, foi utilizado o programa Statistical Package for Social Science for Windows (SPSS). O teste de Kruskal-Wallis foi usado para verificar se houve diferença entre os pontos de coleta, no crescimento de BHC das amostras de água e de sedimento. O teste U de Mann-Whitney analisou a diferença de crescimento das BHC entre as amostras de água e de sedimento e a diferença nos perfis de resistência entre as mesmas amostras, para cada antibiótico (FAVERO; LUIZ P., 2017).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Parâmetros físico-químicos da água

Os resultados dos parâmetros físico-químicos da água nos pontos de coleta estão apresentados na Tabela 2. A temperatura variou entre 30°C e 31°C em todos os pontos. A pouca variabilidade na temperatura é um resultado esperado, visto que a área em estudo apresenta características de climas tropicais oceânicos. No Brasil, é comum que os corpos hídricos apresentem pouca variação de temperatura devido ao clima tropical da região, com valores entre 12°C e 30°C, fazendo com que as águas sejam permanentemente quentes (LIBÂNIO, 2010; COSTA *et al.*, 2017).

Tabela 2- Parâmetros físico-químicos da água ao longo do trecho da bacia do Rio Jaguaribe medidos durante a coleta.

Parâmetros físico-químicos	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Temperatura	31°C	30°C	30°C	31°C	30°C	31°C
Salinidade	42ppm	45ppm	52ppm	48ppm	48ppm	1ppm

A salinidade apresentou valores semelhantes, sendo a maior variação observada entre os pontos P3 e P6. A forte influência do mar faz com que as águas estuarinas mantenham um grau de salinidade praticamente constante. Além disso, é comum que estuários no Nordeste brasileiro apresentem características de hiper salinidade devido à alta taxa de evapotranspiração, principalmente no período seco (PEREIRA, 2018). Esperava-se que o P1, por se tratar do ponto referente à foz do Rio Jaguaribe, apresentasse o maior valor de salinidade. Os impactos da intensa atividade antrópica e da aquicultura presentes no P3 podem justificar a alta salinidade observada nesse ponto, visto que atividades desse tipo tendem a modificar a dinâmica do ambiente, intensificando a salinização. O fato de o P6 apresentar o menor valor de salinidade é devido à presença da barragem no rio, além de ser o ponto mais distante da foz e, conseqüentemente, não sofrer grande influência das águas oceânicas.

## 5.2 Quantificação de bactérias heterotróficas cultiváveis

A Tabela 3 apresenta a quantificação das bactérias heterotróficas cultiváveis (BHC) das amostras de água e de sedimento.

Tabela 3- Média e desvio padrão das populações de bactérias heterotróficas cultiváveis (BHC) isoladas das amostras de água e de sedimento ao longo do trecho da bacia do Rio Jaguaribe.

Amostras	Unidades Formadoras de Colônias (UFC)					
	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Água (ml)	$1,64 \times 10^7 \pm$	$1,18 \times 10^7 \pm$	$1,00 \times 10^7 \pm$	$9,80 \times 10^6 \pm$	$7,88 \times 10^6 \pm$	$9,00 \times 10^6 \pm$
	$1,06 \times 10^6$	$2,20 \times 10^6$	$1,13 \times 10^6$	$1,19 \times 10^6$	$9,23 \times 10^5$	$8,33 \times 10^5$
Sedimento (g)	$2,09 \times 10^4 \pm$	$2,40 \times 10^4 \pm$	$1,25 \times 10^5 \pm$	$6,60 \times 10^4 \pm$	$6,60 \times 10^4 \pm$	$1,96 \times 10^6 \pm$
	$5,00 \times 10^2$	$1,7 \times 10^3$	$6,03 \times 10^4$	$5,00 \times 10^3$	$7,02 \times 10^3$	$1,80 \times 10^5$

A contagem de BHC nas amostras de água variou de  $7,88 \times 10^6$  UFC/ml no P5 a  $1,64 \times 10^7$  UFC/ml no P1, enquanto que, nas amostras de sedimento, a variação foi de  $2,09 \times 10^4$  UFC/g no P1 a  $1,96 \times 10^6$  UFC/g no P6. As maiores contagens de BHC em amostras de água podem estar relacionadas às altas temperaturas e ao período seco, no qual a coleta foi realizada, já que as chuvas exercem um papel diluidor sobre a microbiota de corpos aquáticos, em estuários da costa cearense (PEIXOTO, 2012). Para Stabili e Cavallo (2011), existe uma influência positiva da temperatura sobre a quantificação de BHC em águas costeiras. De acordo com Hatha *et al.* (2013), as condições na coluna d'água são bastante dinâmicas, especialmente em ambientes quentes, podendo alterar a salinidade e estressar a comunidade microbiana.

Neste caso, as altas taxas de salinidade verificadas em, praticamente, todos os pontos, não interferiram no crescimento bacteriano. Carvalho (2013) encontrou correlação positiva entre a salinidade e a população de bactéria do gênero *Vibrio*, na região de Aracati, município referente ao P3 deste estudo e que apresentou a maior taxa de salinidade, provando que as populações de bactérias, tanto para as amostras de água quanto para as amostras de sedimento, não tiveram seu crescimento inibido.

O P1 foi o ponto que apresentou o maior índice de quantificação bacteriana para as amostras de água e o menor índice para as amostras de sedimento. Este resultado contraria o que foi encontrado por Martins (2015), em estudo semelhante realizado no estuário do Rio Jaguaribe, ao mostrar que a maior densidade de BHC para as amostras de água e menor densidade para as amostras de sedimento foram encontradas no ponto referente à barragem e não à foz do rio, como aconteceu no presente estudo. Oliveira *et al.* (2021) também

observaram maior quantidade de bactérias na região da foz do rio Coreaú, Ceará, mostrando que o estresse osmótico da salinidade na região de entre marés não limitou a abundância de bactérias.

A quantificação de BHC foi maior no P6, para as amostras de sedimento. Tal resultado é esperado, visto que esse é o ponto anterior à barragem, com intensa atividade urbana no seu entorno, capaz de alterar a comunidade microbiana, ao promover o alto teor de matéria orgânica total, resultando em uma maior abundância de BHC. Em ambientes marinhos, é comum que bactérias estejam aderidas às partículas de sedimento devido à grande quantidade de nutrientes orgânicos encontrados nessa matriz (ANDRADE, 2017).

Estatisticamente, a contagem de BHC apresentou diferença entre os pontos, para cada amostra. Como  $p < 0,05$ , rejeitamos a hipótese nula, o que nos permite concluir, ao nível de confiança de 95%, que há diferença em pelo menos um dos pontos de coleta, tanto para as amostras de água quanto para as amostras de sedimento. Também foi possível observar diferença na quantidade de BHC entre as amostras de água e de sedimento. Como  $p < 0,05$ , a hipótese nula é rejeitada, o que nos permite concluir, ao nível de confiança de 95%, que existem diferenças entre os resultados das amostras da água e de sedimento.

A diferença observada nas populações de BHC entre os pontos de coleta e entre as amostras pode ter a ver com a distância entre os pontos, as atividades variadas no entorno de cada um, além dos já mencionados fatores físico-químicos, que também interferem no crescimento bacteriano.

Para Gimenes, Da Cunha-Santino e Bianchini (2010), por serem parte importante da comunidade biótica de ecossistemas, as bactérias heterotróficas desempenham um papel necessário no estudo dos impactos ambientais.

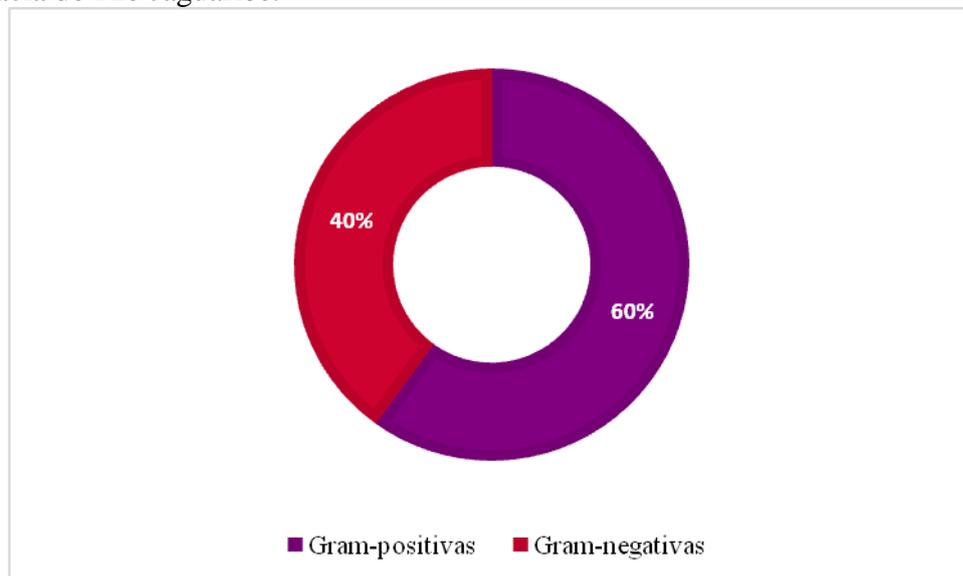
Um total de 240 estirpes foram isoladas, contudo, 25 foram consideradas como viáveis, mas não cultiváveis (VNC), não sendo possível manter sua culturabilidade após o isolamento. São bactérias incapazes de crescer em meio de cultura, embora permaneçam ativas metabolicamente. Alguns fatores ambientais adversos podem inibir o crescimento bacteriano e induzir o estado de VNC por longos períodos de tempo, podendo ser revertido quando em condições favoráveis de crescimento (FERNANDES, 2013; LUCENA, 2019).

Das 215 estirpes que permaneceram viáveis e cultiváveis, 114 são provenientes das amostras de água e 101 provenientes das amostras de sedimento.

### 5.3 Características morfotintoriais das estirpes isoladas

Do total de estirpes isoladas, 97% apresentaram morfologia de bastonetes e 3% morfologia de cocos. Com relação à coloração de Gram, 60% dos isolados foram classificados como Gram-positivos e 40% como Gram-negativos (Gráfico 2).

Gráfico 2- Percentual de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas do total de estirpes isoladas das amostras de água e de sedimento ao longo do trecho da bacia do Rio Jaguaribe.



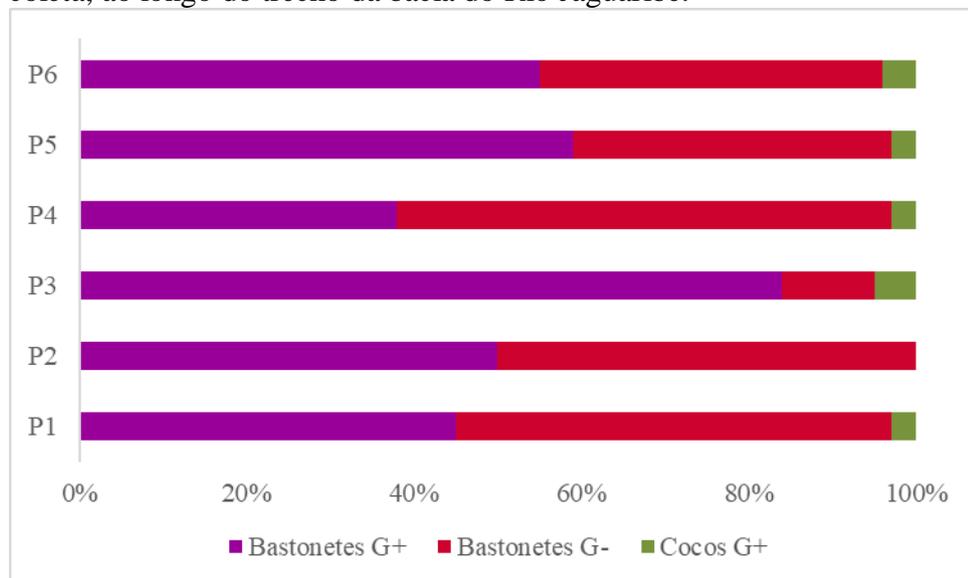
O predomínio de bactérias com características Gram-positivas se dá pelo fato de que essas bactérias possuem propriedades morfológicas, fisiológicas e metabólicas que permitem seu crescimento nos mais variados ambientes. Sua capacidade de produzir esporos lhes confere uma maior resistência diante de estresse ambiental (NARANCIC *et al.*, 2012).

De acordo com Stabilli e Cavallo (2011), a maior predominância de bactérias Gram-positivas é um fator comum em ambientes costeiros tropicais. Martins (2015), em estudo semelhante, também encontrou maior abundância de bactérias Gram-positivas no estuário do Rio Jaguaribe. Contrariando os resultados observados no presente estudo, Wu *et al.* (2014), ao analisarem sedimento do estuário do rio Pearl, na China, encontraram dominância de bactérias Gram-negativas. Montes Plascencia (2013), em outro estudo, afirma que em ambientes marinhos, a abundância de bactérias Gram-positivas é menos observada do que bactérias Gram-negativas.

A menor predominância de bactérias Gram-negativas pode ser devido à alta salinidade da área de estudo, que pode ter atuado como fator limitante para o crescimento dessas bactérias. Wahg e Wang (2018), em pesquisa realizada no rio Jiyun, no norte da Índia, constatou uma diminuição da proporção de bactérias Gram-negativas com o aumento da salinidade.

O Gráfico 3 apresenta a frequência das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e sua morfologia distribuídas por pontos de coleta, ao longo o trecho da bacia do Rio Jaguaribe.

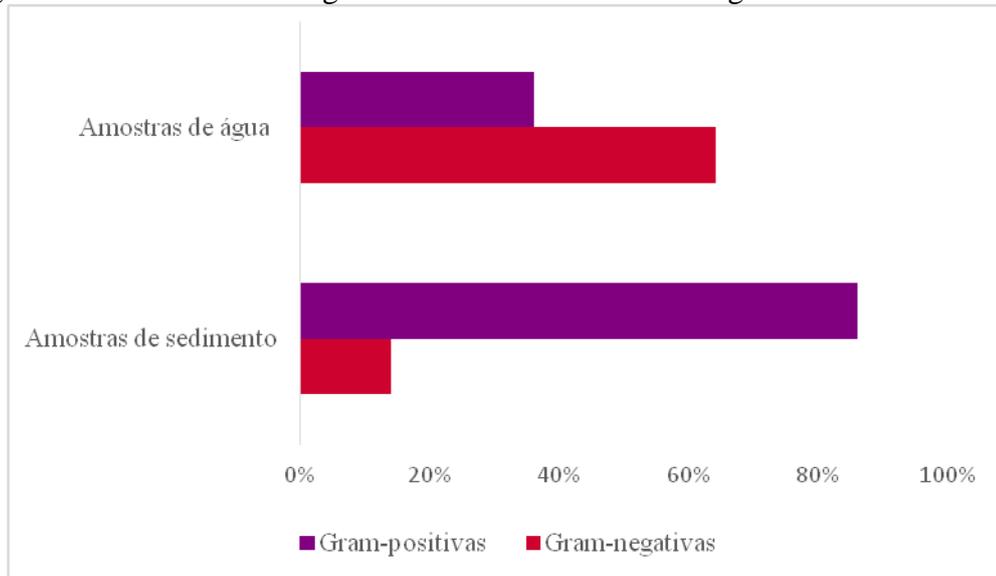
Gráfico 3 – Distribuição de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas isoladas das amostras de água e de sedimento e sua morfologia distribuídas por pontos de coleta, ao longo do trecho da bacia do Rio Jaguaribe.



Os pontos P1 e P4 apresentaram em sua maioria bactérias na forma de bastonetes Gram-negativos com 52% e 59%, respectivamente. A maior concentração de bactérias com características de bastonetes Gram-positivos foi observada nos pontos P3 (84%), seguido dos pontos P5 (59%) e P6 (55%). Já o P2 apresentou a mesma proporção (50%) para bastonetes Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos. Com exceção do P2, todos os outros pontos apresentaram bactérias com morfologia de cocos Gram-positivos, sendo a maior concentração observada no P3 (5%).

O Gráfico 4 apresenta a porcentagem de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas para as amostras de água e de sedimento. A maior concentração de bactérias Gram-positivas (86%) foi observada nas amostras de sedimento, enquanto que as amostras de água apresentaram maior concentração de bactérias Gram-negativas (64%).

Gráfico 4- Percentual de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas para as amostras de água e de sedimento ao longo do trecho da bacia do Rio Jaguaribe.



Alguns estudos relatam maior frequência de bactérias Gram-negativas em ambientes aquáticos. Dos Santos *et al.* (2016) encontraram maior número de bactérias Gram-negativas presentes em amostras de água no estuário do rio Pacoti, no Ceará. Nascimento e Araújo (2013) e Nascimento, Maia e Araújo (2016) também encontraram maior prevalência de bactérias Gram-negativas em amostras de água isoladas de duas bacias hidrográficas do nordeste brasileiro. No entanto, Ghaderpour *et al.* (2014) detectaram um maior número de bactérias Gram-positivas em sedimento estuarino do que nas águas superficiais. Os trabalhos supracitados corroboram os resultados encontrados nesse estudo.

Bactérias Gram-positivas estão presentes em ambientes aquáticos e podem compreender 14% do total de células bacterianas em água, enquanto que em amostras de sedimento, chegam até 25% (TANG *et al.*, 2020). Zampieri (2015) afirma que em sedimentos marinhos brasileiros há uma maior abundância e diversidade de bactérias Gram-positivas do que bactérias Gram-negativas.

#### 5.4 Suscetibilidade das estirpes isoladas frente aos antimicrobianos

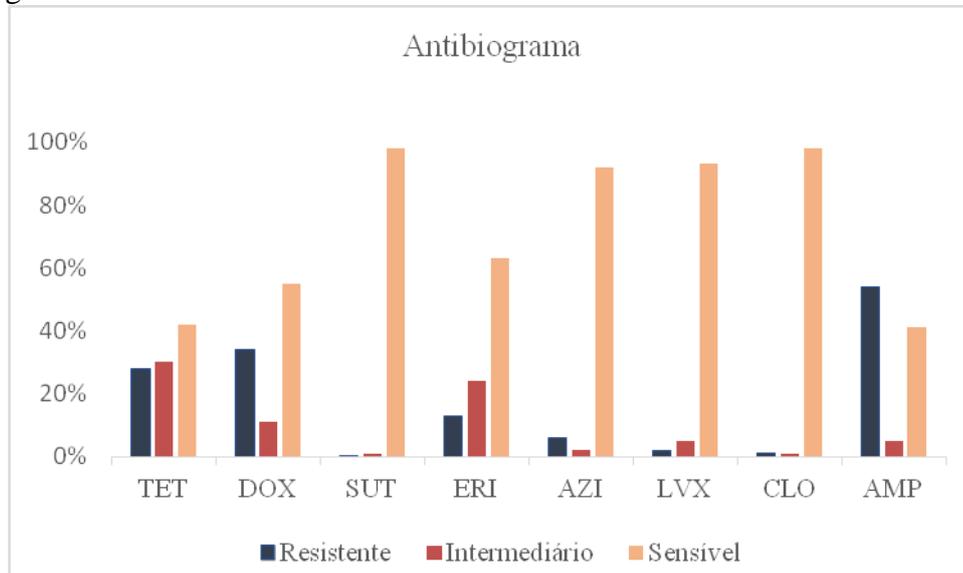
Do total de estirpes isoladas, 82% mostraram-se resistentes a um ou mais antimicrobianos e 18% mostraram-se sensíveis a todos os antibióticos testados.

A expressão da resistência bacteriana no ambiente é uma consequência do uso indiscriminado de antibióticos. Esses fármacos exercem uma pressão seletiva sobre a bactéria, promovendo uma evolução genética frente ao estresse ambiental (SCHIMIDT, 2017). Outra possibilidade que justifica a presença de bactérias resistentes é a existência de populações bacterianas possuidoras de resistência intrínseca.

Atividades antrópicas como as que estão presentes ao longo da bacia do Rio Jaguaribe, tais como aquicultura, agricultura e pecuária, e lançamento de efluentes contribuem para a contaminação do ambiente em questão com resíduos de antibióticos. Outros contaminantes, como pesticidas, resíduos industriais e de mineração e efluentes também atuam como fator de pressão seletiva sobre bactérias resistentes a antibióticos e auxiliam na propagação de genes de resistência, por isso a maior incidência de estirpes resistentes foi observada na microbiota do Rio Jaguaribe.

O perfil de suscetibilidade antimicrobiana das estirpes isoladas está disposto no Gráfico 5. O fenótipo de resistência mais frequente entre os isolados bacterianos foi frente aos antimicrobianos pertencentes à classe dos  $\beta$ -Lactâmicos: ampicilina (54%) e Tetraciclina: doxiciclina (34%) e tetraciclina (28%).

Gráfico 5- Perfil de suscetibilidade do total de estirpes isoladas das amostras de água e de sedimento ao longo do trecho da bacia do Rio Jaguaribe frente aos antimicrobianos testados.



TET- Tetraciclina; DOX- Doxíciclina; SUT- Sulfazotrim; ERI- Eritromicina; AZI- Azitromicina; CLO- Cloranfenicol; AMP- Ampicilina

Os  $\beta$ -Lactâmicos são a classe de antimicrobianos mais amplamente utilizada em tratamentos de infecções bacterianas. A resistência a esses antibióticos acontece, principalmente, devido à capacidade de algumas bactérias produzirem a enzima  $\beta$ -lactamase, que ao hidrolisar o anel  $\beta$ -lactâmico inativa a ação do fármaco (BUSH; BRADFORD, 2016). Algumas bactérias Gram-negativas possuem resistência intrínseca aos  $\beta$ -Lactâmicos, associada à bomba de efluxo, além da expressão cromossômica da  $\beta$ -lactamase (GASTALHO; SILVA; RAMOS, 2014). As  $\beta$ -lactamases que conferem resistência à ampicilina são comumente transportadas por plasmídeos e podem atribuir o fenótipo de  $\beta$ -lactamase de Espectro Estendido (ESBL). Essas enzimas propagaram-se em ambientes clínicos e ambientais dificultando a ação dos  $\beta$ -lactâmicos de espectro mais amplo (MORITZ *et al.*, 2020; CARCIONE *et al.*, 2021).

Martins (2015), ao analisar a suscetibilidade de BHC isoladas de água e sedimento do estuário do Rio Jaguaribe, também observou o maior perfil de resistência à ampicilina. Resultado semelhante foi apresentado por Menezes (2011), ao observar maior resistência à ampicilina em bactérias do gênero *Vibrio*, isoladas de quatro estuários do Ceará.

Antibióticos da classe das Tetraciclina são classificados como bacteriostáticos de amplo espectro e apresentam eficácia frente a diversas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO; 2010). Relatos de bactérias resistentes às Tetraciclina são cada vez mais frequentes, já que muitas bactérias apresentam mecanismos

de resistência a esses antimicrobianos ao inibirem a síntese proteica (FABIAN *et al.*, 2014; ROCHA, 2016). A tetraciclina é frequentemente utilizada em cultivos de organismos como promotores de crescimento e para tratamento de infecções de origem animal, porém sem o devido controle, já que no Brasil não há autorização para o uso deste antimicrobiano em cultivos de organismos aquáticos, embora seja um dos antibióticos mais utilizados mundialmente na aquicultura (GUIDI *et al.*, 2016; ROCHA, 2016).

A doxiciclina é também um dos compostos tetraciclínicos mais utilizados, sendo comum sua aplicação na saúde e na indústria agropecuária para o tratamento de diversas infecções bacterianas. É um antimicrobiano mais recente, apresenta maior biodisponibilidade oral e penetração tecidual, sendo considerada uma Tetraciclina de segunda geração (SILVA, 2015; EISEN, 2017). Ahmadi (2021), em um trabalho de revisão, aponta que a resistência às tetraciclinas é relativamente alta em todo o mundo, principalmente, entre bactérias de *V. cholerae*.

Carvalho (2012) e Carvalho (2013), ao testarem bactérias do gênero *E. coli* e *Vibrio*, respectivamente, provenientes de estuários no Ceará, encontraram maior percentual de resistência à ampicilina e tetraciclina. Tao *et al.* (2010), ao analisarem a resistência a antimicrobianos de bactérias isoladas do rio Pearl, no sul da China, também observaram maior resistência para os antimicrobianos das classes dos  $\beta$ -lactâmicos e Tetraciclinas.

Apesar do baixo percentual de resistência aos outros antimicrobianos testados, eritromicina (8%), azitromicina (6%) e levofloxacina (3%), sua presença indica a ocorrência desses antibióticos no ambiente.

A tetraciclina foi o antibiótico que apresentou o maior fenótipo de resistência intermediária seguido pela eritromicina. Grise (2016), em estirpes de *E. coli* isoladas de água estuarina, obteve apenas perfil intermediário. Rocha (2016), em estirpes isoladas de água e sedimento de ambiente de carcinicultura, também achou perfil intermediário para a tetraciclina. Peixoto (2012), em cepas isoladas de ambiente aquático, detectou o maior perfil de resistência intermediária para a eritromicina. De acordo com o autor, a presença da resistência intermediária em uma população bacteriana indica a diminuição da eficácia do antibiótico sobre a microbiota alvo, sendo necessária uma dose maior do fármaco para o combate de infecções. Parte da população bacteriana se mostra sensível ao antimicrobiano, ao mesmo tempo em que outra parte já não responde à ação do fármaco, prejudicando a profilaxia médica humana e veterinária (CARVALHO, 2012; CARVALHO, 2013).

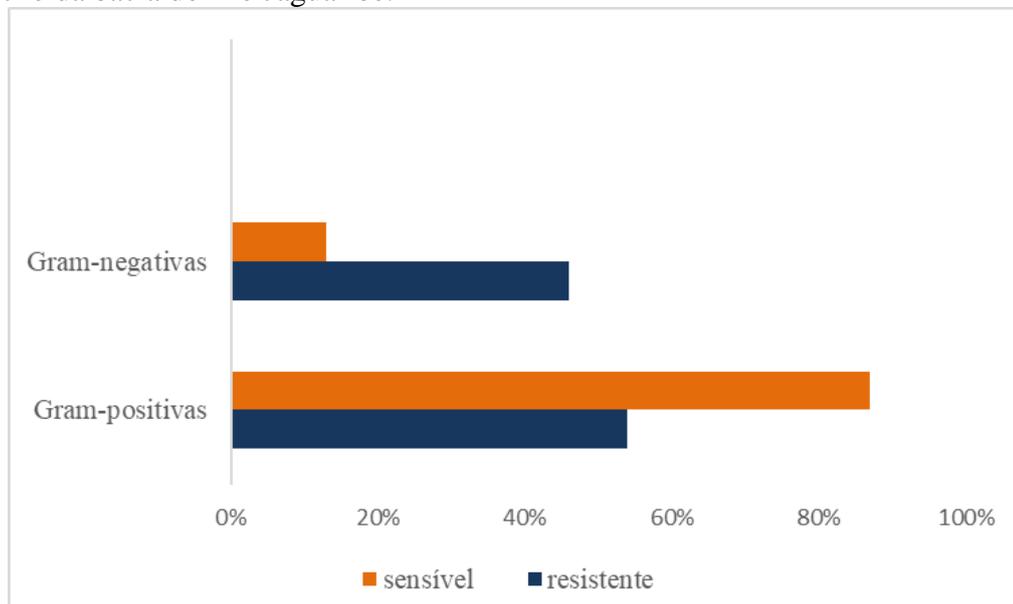
Os antimicrobianos sulfazotrim e cloranfenicol, pertencentes às classes Sulfonamida e Cloranfenicol, respectivamente, foram os que apresentaram a maior eficácia

contra os isolados. O sulfazotrim apresentou (99%) de eficácia e o cloranfenicol (98%). Este resultado é similar aos encontrados por Martins (2015) e Peixoto (2012), em que os dois antimicrobianos citados se mostraram 100% eficazes.

As Sulfonamida têm como ação a inibição da síntese de ácido fólico e o Cloranfenicol é responsável pela inibição da síntese de proteínas bacterianas, ao se ligar a subunidade 30S do ribossomo, impedindo a formação de ligações peptídicas (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). O cloranfenicol tem ampla distribuição, mas devido à sua alta toxicidade, tem uso limitado. Foi proibido em animais destinados ao consumo humano devido a evidências toxicológicas de efeitos adversos, o que pode justificar a pouca presença no ambiente estudado e, conseqüentemente, um perfil de resistência pouco expressivo.

A porcentagem da resistência antimicrobiana, de acordo com as características de parede dos isolados, está exposta no Gráfico 6. Do total de estirpes resistentes, 54% são bactérias Gram-positivas e 46% Gram-negativas.

Gráfico 6- Distribuição da frequência de resistência antimicrobiana entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas isoladas de amostras de água e sedimento ao longo de um trecho da bacia do Rio Jaguaribe.



Bactérias com características Gram-positivas apresentam alta capacidade genética de obter e desenvolver resistência a praticamente todos os antibióticos disponíveis. Sua espessa camada de peptidoglicano funciona como glicopolímeros aniônicos conhecidos como ácidos teicóicos de parede que desempenham papel importante na patogênese e na resistência aos antimicrobianos (BROWN; SANTA MARIA JR; WALKER, 2013).

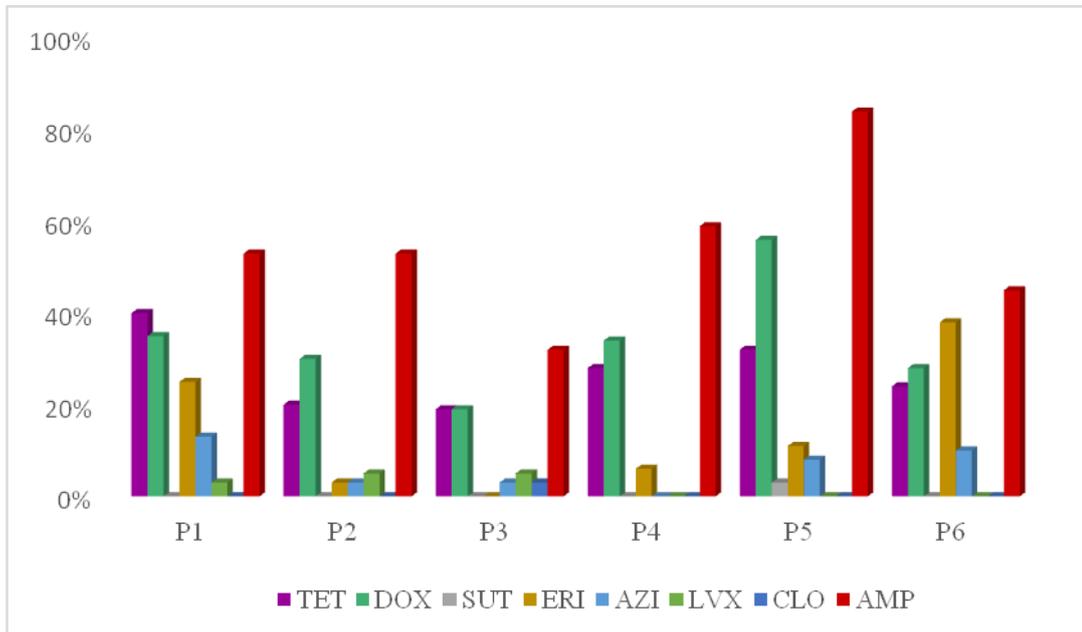
Em uma lista divulgada pela OMS, as bactérias Gram-positivas estão entre as bactérias mais perigosas resistentes aos tratamentos atuais e que requerem a descoberta de novos antibióticos para o combate de doenças. Seus mecanismos de resistência incluem a modificação do sítio ativo do antibiótico ao alterar as proteínas de ligação à penicilina, efluxo da droga por expressão de bombas de efluxo ou através de modificações de estruturas bacterianas, como alterações da estrutura ribossômica ou espessamento da parede de peptidoglicano, impedindo o fármaco de se ligar ao seu alvo (JUBEH; BREIJYEH; KARAMAN, 2020).

O surgimento de resistência em bactérias Gram-negativas tem sido uma preocupação crescente. São bactérias que evoluíram e passaram a desenvolver resistência aos  $\beta$ -lactâmicos ao produzirem enzimas  $\beta$ -lactamases e carbapenemases, tornando-se uma ameaça iminente à saúde pública (MORITZ *et al.*, 2020). Além disso, bactérias Gram-negativas possuem uma membrana externa à parede celular, agindo como mecanismo de resistência intrínseco, e por isso, apresentam permeabilidade limitada aos antibióticos (LAMEIRA, 2020).

Evidências genômicas e funcionais mostram que integrons, que antes eram considerados exclusivos de bactérias Gram-negativas, podem estar presentes em bactérias Gram-positivas. Embora não se saiba ao certo como esses elementos agem no desenvolvimento de resistência em bactérias Gram-positivas, sabe-se que há um favorecimento de transferência de genes de resistência de bactérias Gram-positivas para bactérias Gram-negativas, porém, essa troca não é recíproca (DAVIES; DAVIES, 2010).

No Gráfico 7 está representado os percentuais de resistência das estirpes isoladas, referente aos pontos de coleta.

Gráfico 7- Percentual de resistência das estirpes isoladas das amostras de água e de sedimento de um trecho da bacia do Rio Jaguaribe frente aos antimicrobianos testados, por ponto de coleta.



TET- Tetraciclina; DOX- Doxiciclina; SUT- Sulfazotrim; ERI- Eritromicina; AZI- Azitromicina; CLO- Cloranfenicol; AMP- Ampicilina

Em todos os pontos, foi possível observar maior frequência de fenótipos de resistência a antibióticos para a ampicilina. Embora não seja um antibiótico comumente utilizado em atividades de aquicultura, como as que estão presentes ao longo da bacia do Rio Jaguaribe, a disponibilidade e o baixo custo em países em desenvolvimento fazem com que seja bastante utilizada na terapêutica de humanos e animais e como consequência observa-se o aumento das taxas de resistência a esses antimicrobianos (BANERJEE *et al.*, 2012; KAUSHIK *et al.*, 2014).

A maior frequência de resistência para a tetraciclina (40%) foi encontrada no P1. Este é o ponto referente à foz do rio e tem como atividades principais em seu entorno a aquicultura e pecuária, atividades em que o uso de antimicrobianos para fins terapêuticos e de profilaxia é uma prática bastante comum. Antimicrobianos da classe das Tetraciclina tem sido bastante utilizado na aquicultura e a presença em ambientes marinhos e estuarinos de bactérias resistentes a esses antibióticos comprova o seu uso recente, o que justifica o maior índice de resistência observado (MACKIE, *et al.*, 2006; ROCHA, 2016). Além disso, de acordo com Gastalho, Silva e Ramos (2014), por ser um antimicrobiano não biodegradável em ambientes aquáticos, a tetraciclina pode permanecer nas matrizes ambientais por longos períodos de tempo.

O uso de antibióticos em produção animal, como promotor de crescimento, para prevenção e tratamento de infecções é bastante recorrente e sua administração impacta o meio ambiente ao favorecer o aparecimento de resistência antimicrobiana em bactérias comensais ou ambientais (GASTALHO; SILVA; RAMOS, 2014). Manivasagan *et al.* (2010), ao estudarem o ambiente de manguezal na costa sudeste da Índia, perceberam que *Vibrios* spp. resistentes eram mais comuns em área de descarga de carcinicultura. Pesquisas apontam que o uso de antibióticos em sistemas aquáticos de produção de pescados está relacionado com a disseminação de resistência antimicrobiana por organismos patogênicos (VIEIRA; PEREIRA, 2017).

O P3 e P4 foram os pontos que apresentaram o menor fenótipo de resistência para, praticamente, todos os antibióticos testados. Por ser o ponto com a maior área urbana e, conseqüentemente, o maior aporte de esgoto sanitário e contaminação por atividades antropogênicas, esperava-se que o P3 apresentasse uma maior porcentagem de resistência. Em estudo no Rio Code, na Indonésia, Muurinen *et al.* (2022) mostraram que as áreas de amostragem com perfil urbano apresentaram maior presença de genes de resistência como resposta às pressões de atividades humanas. O P4 mesmo sendo o ponto que, além de pastagem, possui a mais intensa área de aquicultura, não apresentou fenótipos de resistência tão significativos, embora atividades de produção de animais serem conhecidamente propagadoras da resistência antimicrobiana.

O P5 apresentou o maior fenótipo de resistência para a ampicilina (84%) e doxiciclina (56%), além de ser o único ponto que apresentou resistência para o sulfazotrim (3%). Este é o ponto à jusante da barragem e tem como atividade mais expressiva a agricultura e pastagem. A maior resistência à doxiciclina ser observada neste ponto pode estar relacionada ao fato de ser um antimicrobiano utilizado em medicina veterinária e selecionar genes de resistência em ambientes animais. Esses genes atingem compartimentos aquáticos através da contaminação de estrume e escoamento de atividades pecuárias e agrícolas (FIORITI *et al.*, 2021). A agropecuária é um dos maiores consumidores de antibióticos e por isso se torna um importante ponto de prevalência da resistência antimicrobiana (GAO *et al.*, 2023). Muurinen *et al.* (2022) encontraram maior abundância de genes de resistência em locais de amostragem rurais comparado com locais de amostragem de cidades.

A maior taxa de resistência para a eritromicina foi observada no P6 (38%). Esse resultado não era esperado já que, assim como o P5, o P6 tem maior presença de agricultura e pastagem e a eritromicina é um dos antibióticos mais utilizados na aquicultura (SERRANO, 2005). Além disso, desde 2012, teve seu uso proibido pelo Ministério da Agricultura e

Pecuária como promotor de crescimento animal (BRASIL, 2012). Alguns produtos estressores não antibióticos, como os pesticidas, bastantes utilizados na agricultura, quando lançados no ambiente auxiliam no desenvolvimento e dispersão da resistência antimicrobiana em bactérias através de mecanismos de co-seleção (QIU *et al.*, 2022). Podendo ser esse um dos motivos para a resistência da eritromicina no referido ponto.

O uso de poluentes ambientais em explorações agrícolas intensifica a abundância e diversidade dos resistomas e auxilia na propagação de agentes patógenos para o meio ambiente provocando prejuízos para a saúde de humanos e organismos aquáticos (SEONG, 2021).

No Gráfico 8 está representado o percentual de resistência aos antimicrobianos testados por pontos de coleta e por amostras.

Gráfico 8- Percentual de resistência das estirpes bacterianas isoladas de amostras de água de um trecho da bacia do Rio Jaguaribe, por amostras e por pontos de coleta.



De um modo geral, as estirpes isoladas das amostras de água apresentaram os maiores fenótipos de resistência, em todos os pontos, e para, praticamente, todos os antibióticos testados, especialmente para ampicilina (94%) no P5, tetraciclina (65%) no P1 e doxiciclina (61%) também no P5. He *et al.* (2023) também detectarem maior abundância de genes de resistência a  $\beta$ -lactâmicos e Tetraciclina em águas costeiras na China. Kitiyodom *et al.* (2010), em isolados de *Vibrio ssp.*, em área de carcinicultura também acharam resistência à ampicilina, eritromicina e tetraciclina. Para os autores, o uso de antibióticos em aquicultura

gera uma pressão seletiva em microrganismos da microbiota aquática, selecionando bactérias resistentes e promovendo a transferência lateral de genes de resistência.

A água funciona, não somente, como um meio de dispersão de bactérias resistentes a antibióticos, mas também a via pela qual genes de resistência são introduzidos nos ecossistemas naturais, possibilitando o surgimento de bactérias multirresistentes e alterando a microbiota ambiental (RESENDE; LÚCIA DA SILVA; DINIZ, 2020). De acordo com Moritz *et al.* (2020), as águas costeiras sobrecarregadas com presença de áreas povoadas, poluição ambiental urbana e limitada infraestrutura de água e saneamento tendem a apresentar altas taxas de bactérias resistentes.

Ecossistemas aquáticos impactados antropogenicamente recebem bactérias de diferentes fontes, como cidades, indústrias, agricultura, que se misturam com nutrientes e outros poluentes tais como metais, agroquímicos, resíduos de antibióticos e por isso os corpos hídricos podem ser dispersores de bactérias resistentes (MUURINEM *et al.*, 2022).

A microbiota das amostras de água em P5 e P6 apresentou notáveis fenótipos de resistência para os antimicrobianos: ampicilina, eritromicina, doxiciclina e tetraciclina. Áreas próximas de rios e que são utilizadas como terrenos agrícolas e para pastagem, como é o caso dos pontos citados, costumam contribuir para a disseminação da resistência no ambiente através das águas residuais de exploração pecuárias e escoamento de terras agrícolas (CZATZKOWSKA *et al.*, 2022).

Os isolados das amostras de sedimento apresentaram a maior frequência de resistência para a ampicilina em todos os pontos, com exceção do P6. No entanto, a microbiota das amostras de sedimento no P6, apresentou o único perfil de resistência ao sulfazotrim observado. Radu *et al.* (2021) mostraram que baixas concentrações de sulfazotrim apresentaram efeito limitado no resistoma apenas em amostras de água e nenhum impacto relevante em sedimento. Chen *et al.* (2019), ao analisarem sedimento de um rio urbano em Pequim, observaram que atividades antrópicas contribuíram de maneira intensa para a resistência à ampicilina. Bhattachryya *et al.* (2019), em estudo com bactérias resistentes à ampicilina e tetraciclina em estuário costeiro, na Índia, afirmaram que a distribuição de bactérias resistentes a antimicrobianos e genes de resistência em sedimentos estuarinos são fortemente influenciados pelos efeitos das intervenções humanas.

Martins (2015), ao analisar amostras de água e sedimento do estuário do Rio Jaguaribe, encontrou maior índice de resistência a antimicrobianos nos isolados das amostras de sedimento, diferindo do que foi encontrado neste estudo. Czatzkowska *et al.* (2022) afirmam que antibióticos, bactérias resistentes e genes de resistência podem acumular-se no

solo e a exposição do sedimento a substâncias antimicrobianas induz uma vantagem seletiva de bactérias resistentes no ambiente. Lu *et al.* (2021), ao analisarem áreas de carcinicultura, observaram alto gradiente de poluição por antibióticos em sedimentos, promovendo a diversidade de estruturas comunitárias de genes de resistência.

De um modo geral, sedimentos funcionam como um repositório de bactérias resistentes oferecendo muito mais estabilidade e um ambiente protegido para a sobrevivência dessas (HATHA *et al.*, 2013).

A Tabela 4 apresenta os testes estatísticos para os antibióticos testados entre as amostras de água e de sedimento e seus resultados.

Tabela 4 – Testes estatísticos para os antibióticos testados entre as amostras de água e sedimento isoladas do trecho da bacia do Rio Jaguaribe.

Test Statistics <sup>a</sup>	TET	DOX	SUT	ERI	AZI	LVX	CLO	AMP
Mann-Whitney U	,000	3,500	15,000	9,500	13,000	15,500	15,000	17,000
Wilcoxon W	21,000	24,500	36,000	30,500	34,000	36,500	36,000	38,000
Z	-2,939	-2,334	-1,000	-1,417	-,846	-,527	-1,000	-,162
Asymp. Sig. (2-tailed)	,003	,020	,317	,157	,397	,598	,317	,871
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,002 <sup>b</sup>	,015 <sup>b</sup>	,699 <sup>b</sup>	,180 <sup>b</sup>	,485 <sup>b</sup>	,699 <sup>b</sup>	,699 <sup>b</sup>	,937 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Tratamento; b. Not corrected for ties

A análise estatística revelou que existe diferença entre os resultados da resistência antimicrobiana das amostras de água e de sedimento para a tetraciclina e a doxiciclina ( $p < 0,05$ ). No entanto, não houve nenhuma diferença entre os resultados da resistência entre as bactérias presentes nas amostras de água e sedimento com relação aos outros antimicrobianos ( $p > 0,05$ ), inclusive a ampicilina, embora tenha sido o antimicrobiano com maior fenótipo de resistência observado na pesquisa.

Na Tabela 5 estão dispostos os perfis de resistência e multirresistência das estirpes isoladas das amostras de água e sedimento ao longo da bacia do Rio Jaguaribe e seus respectivos índices de resistência (IRA) e de múltipla resistência aos antimicrobianos (MRA).

Tabela 5 – Perfis de resistência e multirresistência das estirpes isoladas das amostras de água e de sedimento ao longo da bacia do Rio Jaguaribe e seus respectivos índices de resistência (IRA) e de múltipla resistência aos antimicrobianos (MRA). (Continua)

Amostras	Pontos	Nº de estirpes	Perfil de resistência	IRA	MRA
Água	P1	1	TET	0,007	-
		1	DOX	0,007	-
		2	AMP	0,007	-
		1	DOX, AMP	0,014	-
		1	TET, DOX	0,014	-
		1	TET, AZI	0,014	-
		1	TET, ERI	0,014	-
		2	TET, DOX, ERI	0,021	-
		1	TET, ERI, AZI	0,021	-
		2	TET, DOX, AMP	0,021	-
		1	TET, DOX, ERI, AZI	0,028	-
		3	TET, DOX, ERI, AMP	0,028	0,5
		1	TET, DOX, ERI, AZI, AMP	0,035	0,63
		P2	2	TET	0,007
	2		DOX	0,007	-
	1		LVX	0,007	-
	7		AMP	0,007	-
	5		TET, DOX	0,014	-
	1		DOX, AMP	0,014	-
	2		TET, DOX, AMP	0,021	-
	P3	1	TET	0,007	-
		2	DOX	0,007	-
		3	ERI	0,007	-
		1	LVX	0,007	-
		2	TET, DOX	0,014	-
		1	TET, ERI	0,014	-
		2	TET, DOX, AMP	0,021	-
		1	TET, DOX, ERI	0,021	-
		1	AZI, LVX, CLO, AMP	0,028	0,5
	P4	1	TET	0,007	-
		2	DOX	0,007	-
		7	AMP	0,007	-
		2	TET, DOX	0,014	-
		2	DOX, AMP	0,014	-
		1	TET, AMP	0,014	-
		2	TET, DOX, ERI	0,021	-
		1	TET, DOX, AMP	0,021	-
	P5	6	AMP	0,007	-
		1	TET, DOX	0,014	-
		1	TET, AMP	0,014	-
		2	DOX, AMP	0,014	-
		4	TET, DOX, AMP	0,021	-
		1	TET, DOX, ERI, AMP	0,028	0,5

Tabela 5 – Perfis de resistência e multirresistência das estirpes isoladas das amostras de água e de sedimento ao longo da bacia do Rio Jaguaribe e seus respectivos índices de resistência (IRA) e de múltipla resistência aos antimicrobianos (MRA). (Continuação)

Amostras	Pontos	Nº de estirpes	Perfil de resistência	IRA	MRA
		3	TET, DOX, ERI, AZI, AMP	0,035	0,63
Água	P6	1	ERI	0,007	-
		1	AMP	0,007	-
		5	ERI, AMP	0,014	-
		2	DOX, AMP	0,014	-
		2	TET, DOX, AMP	0,021	-
		2	TET, DOX, ERI	0,021	-
		1	TET, DOX, ERI, AMP	0,028	0,5
		1	DOX, ERI, AZI, AMP	0,028	0,5
Sedimento	P1	1	DOX	0,007	-
		7	AMP	0,007	-
		1	ERI, AMP	0,014	-
		1	TET, AMP	0,014	-
		1	AZI, LVX	0,014	-
		1	DOX, AMP	0,014	-
		1	TET, DOX, AMP	0,021	-
		1	TET, ERI, AMP	0,021	0,38
	P2	1	AZI	0,007	-
		1	LVX	0,007	-
		9	AMP	0,007	-
		2	DOX, AMP	0,014	-
		1	TET, ERI	0,014	-
		1	ERI, LVX	0,014	-
		1	DOX, ERI	0,014	-
	P3	1	TET	0,007	-
		1	ERI	0,007	-
		7	AMP	0,007	-
		1	DOX, AMP	0,014	-
		1	TET, AMP	0,014	-
	P4	6	AMP	0,007	-
		3	TET, AMP	0,014	-
		2	DOX, AMP	0,014	-
	P5	1	TET	0,007	-
		3	AMP	0,007	-
		1	SUT, AMP	0,014	-
		1	TET, LVX	0,014	-
		1	DOX, ERI	0,014	-
		8	DOX, AMP	0,014	-
		2	TET, DOX, AMP	0,021	-
1		TET, ERI, LVX, AMP	0,028	0,5	

Tabela 5 – Perfis de resistência e multirresistência das estirpes isoladas das amostras de água e de sedimento e seus respectivos índices de resistência (IRA) e de múltipla resistência aos antimicrobianos (MRA). (Conclusão)

Amostras	Pontos	Nº de estirpes	Perfil de resistência	IRA	MRA
Sedimento	P6	1	AMP	0,007	-
		1	TET, AZI	0,014	-
		1	TET, ERI, AZI	0,021	0,38

O índice de resistência a antimicrobianos (IRA) das amostras variou de 0,007 a 0,035. Tais valores sugerem que as estirpes bacterianas podem agir como veículos de propagação de resistência antimicrobiana no ambiente. O índice de múltipla resistência (MRA) das estirpes variou de 0,5 a 0,63. Os resultados mostraram que 8% das estirpes apresentaram multirresistência, com perfis variados, sendo o maior perfil de multirresistência (TET, DOX, ERI, AZI, AMP) observado nas bactérias isoladas das amostras de água, nos pontos P1 e P6. Resultados maiores ou iguais a 0,2 são um indicativo de múltipla resistência. A presença de bactérias multirresistentes no ambiente tornou-se um grande problema de saúde e está relacionado com a transferência de genes de resistência a outras bactérias, inclusive entre espécies (CAUMO *et al.*, 2010).

A distribuição das estirpes que apresentaram resistência aos antimicrobianos testados e referentes às amostras está descrita na Tabela 6.

Tabela 6 - Quantidade de estirpes isoladas de amostras de água e de sedimento do trecho da bacia do Rio Jaguaribe, resistentes aos antimicrobianos testados.

Antimicrobianos	Número de estirpes resistentes		
	Total	Por amostra	
		Água	Sedimento
Tetraciclina (TET)	59	48	11
Doxiciclina (DOX)	73	55	18
Sulfazotrim (SUT)	1	0	1
Eritromicina (ERI)	28	24	4
Azitromicina (AZI)	13	9	4
Levofloxacina (LVX)	5	2	3
Cloranfenicol (CLO)	1	1	0
Ampicilina (AMP)	117	60	57

É comum a presença de bactérias resistentes em água e sedimento, visto que resíduos de antibióticos podem persistir nessas matrizes ambientais por tempo considerável. Ambientes aquáticos atuam como reservatório de bactérias e como meio de dispersão de organismos resistentes a antibióticos. Há uma facilidade para a troca de material genético

entre bactérias ambientais e patogênicas, promovendo a disseminação de genes de resistência e mudanças no resistoma ambiental (DE CASTRO; DE CASTRO; LIMA, 2022).

Bactérias ambientais são importantes indicadores de resistência antimicrobiana, além de agirem como reservatórios dessa resistência podendo compartilhar patógenos bacterianos entre humanos e o meio ambiente (MORITZ, *et al.*, 2020).

### 5.5 Origem genética da resistência

Do total de estirpes classificadas como intermediárias ou resistentes e que foram submetidas à técnica de cura de plasmídeo, 65% apresentaram resistência de origem potencialmente cromossômica e 35% resistência de origem plasmidial frente aos antimicrobianos aos quais foram testadas.

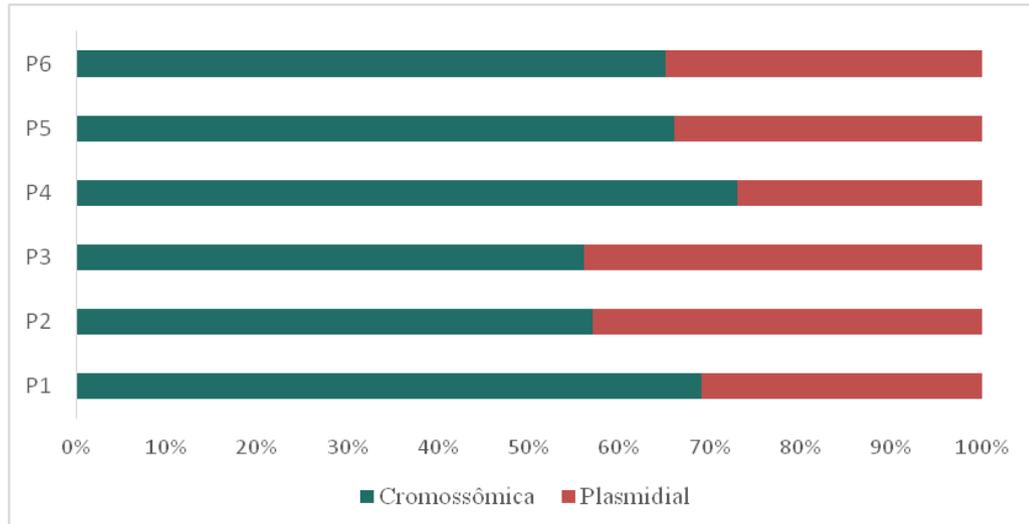
Vasconcelos *et al.* (2020) também encontraram maior porcentagem de resistência cromossômica em estirpes de *E. coli* isoladas de um corpo hídrico em Fortaleza, enquanto que Carvalho (2012), ao analisar estirpes de *E. coli* de estuário no Ceará, verificou que a maioria das estirpes apresentaram resistência plasmidial, mostrando que a resistência foi perdida após a exposição a um agente curagênico.

Genes que codificam resistência a antimicrobianos podem estar presentes tanto nos cromossomos, quanto nos plasmídeos das bactérias. O DNA cromossômico costuma ser mais estável que o DNA plasmidial, já que este é facilmente transportado por linhagens diferentes através de conjugação bacteriana, possibilitando a transferência de genes de resistência a antimicrobianos conhecidos como plasmídeos R (HOLMES; JOHNSON; HOWDEN, 2012; NEVES *et al.*, 2022;). Os plasmídeos podem estar integrados ao cromossomo da bactéria, transferindo genes cromossômicos ou podem ser considerados promíscuos, ou seja, são capazes de passar o gene de resistência para espécies bacterianas não aparentadas geneticamente (LODDER, 1996).

Enquanto a resistência cromossômica ou intrínseca é resultado de um processo evolutivo da bactéria e ocorre de maneira natural, com uma taxa relativamente baixa de transferência de genes, a resistência plasmidial ou adquirida é resultado da pressão seletiva exercida pelo uso indiscriminado de antimicrobianos, com ocorrência de mutações genéticas que originam genes de resistência que são transferidos entre espécies bacterianas (MOTA; OLIVEIRA; SOUTO, 2018).

O maior índice de estirpes com resistência cromossômica foi observado nos pontos P1 (69%) e P4 (73%), enquanto os pontos P2 (43%) e P3 (44%) apresentaram maior frequência de estirpes com resistência plasmidial (Gráfico 9).

Gráfico 9 – Frequência de resistência potencialmente cromossômica e plasmidial das estirpes isoladas de água e sedimento do trecho da bacia do Rio Jaguaribe, por pontos de coleta.



Na Tabela 7 estão dispostos os resultados do procedimento de cura de plasmídeo de acordo com o número de estirpes, os antimicrobianos testados e as amostras.

Tabela 7- Caracterização da origem da resistência dos isolados das amostras de água e de sedimento do trecho da bacia do Rio Jaguaribe.

Antimicrobianos	Total de estirpes (R+I)	Caracterização da resistência			
		Cromossômica		Plasmidial	
		Água	Sedimento	Água	Sedimento
Tetraciclina (TET)	125	61	26	17	21
Doxiciclina (DOX)	96	41	9	25	21
Sulfazotrim (SUT)	3	1	0	0	2
Eritromicina (ERI)	80	25	21	25	9
Azitromicina (AZI)	17	4	2	6	5
Levofloxacina (LVX)	15	1	3	7	4
Cloranfenicol (CLO)	4	2	0	2	0
Ampicilina (AMP)	127	54	52	13	8

R – Resistentes; I- Intermediárias

Os antimicrobianos que apresentaram maior frequência de resistência de origem potencialmente cromossômica foram ampicilina (83%), tetraciclina (70%), eritromicina (58%) e Doxiciclina (52%). Enquanto que a levofloxacina (73%), o sulfazotrim (67%), a

azitromicina (65%) e o cloranfenicol (50%) foram os antimicrobianos que apresentaram a maior frequência de resistência plasmidial. Peixoto (2012) e Carvalho (2013), em estirpes de *Vibrio* e BHC isoladas de estuário e ambiente aquático no Ceará, também encontraram maior frequência de resistência cromossômica à ampicilina, concordando com os resultados encontrados neste estudo. As amostras de água apresentaram a maior frequência de bactérias com resistência potencialmente cromossômica e plasmidial para, praticamente, todos os antimicrobianos testados. Contrariando os resultados desta pesquisa, Rocha (2016) encontrou resistência plasmidial para os isolados de amostras de água e resistência exclusivamente cromossômica para os isolados de sedimentos.

A presença de resistência plasmidial em isolados de amostras de água é um fator preocupante, devido a facilidade de disseminação de elementos de resistência (ROCHA, 2016). No entanto, alguns estudos relatam que a microbiota de corpos aquáticos possui um grande número de bactérias com fenótipos de resistência intrínsecos, podendo essa resistência natural ocorrer em ambientes com impactos antrópicos reduzidos ou nulos. Porém, ainda não se sabe em que circunstâncias as bactérias da água atuam como fontes de novos mecanismos de resistência a antibióticos ou como auxiliam na propagação dessa resistência (VAZ-MOREIRA; NUNES; MANAIA, 2014).

## 6. CONCLUSÕES

- Bactérias Gram-positivas foram mais frequentemente isoladas do que as Gram-negativas e a maioria apresentou morfologia de bastonetes.
- Um alto índice de resistência bacteriana foi observado entre os isolados, mostrando que a microbiota da bacia do Rio Jaguaribe sofre pressão seletiva por parte dos antimicrobianos utilizados nas atividades do entorno.
- Os perfis de resistência mais frequentes entre os isolados foram frente aos antimicrobianos: ampicilina (54%), doxiciclina (34%) e tetraciclina (28%) e o maior número de isolados com fenótipo de resistência foi detectado nas amostras de água.
- A predominância de genes de origem potencialmente cromossômica que codificam resistência aos antimicrobianos mostra uma estabilidade desses elementos genéticos dentro da bacterioma ambiental no trecho da bacia do Rio Jaguaribe.
- Perfis de resistência a antibióticos da classe das Tetraciclina (tetraciclina e a doxiciclina) foram mais frequentes em bactérias isoladas da água do que aquelas agregadas ao sedimento.

## REFERÊNCIAS

- AHMADI, M. H. Status global da resistência à tetraciclina entre isolados clínicos de *Vibrio cholerae*: uma revisão sistemática e meta-análise. **Resistência Antimicrobiana e Controle de Infecções**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2021.
- AL SALAH, D. M. M.; LAFFITE, A.; POTÉ, J. Occurrence of bacterial markers and antibiotic resistance genes in sub-Saharan rivers receiving animal farm wastewaters. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1-10, 2019.
- AMOS, CA. *et al.* Validated predictive modelling of the environmental resistome. **The ISME journal**, v. 9, n. 6, p. 1467-1476, 2015.
- ANDRADE, L. C. **Bioprospecção de microrganismos marinhos isolados na Baía de Todos os Santos com atividade antagonista a bactérias patogênicas**. 2017. 50 f. Dissertação. (Mestrado em biotecnologia) – Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, 2017.
- BHATTACHARYYA, A. *et al.* Anthropogenic influence shapes the distribution of antibiotic resistant bacteria (ARB) in the sediment of Sundarban estuary in India. **Science of the Total Environment**, v. 647, p. 1626-1639, 2019.
- BANERJEE, S. *et al.* Antibiotic resistant Salmonella and Vibrio associated with farmed Litopenaeus vannamei. **The Scientific World Journal**, v. 2012, 2012.
- BAUER, A. W.; KIRBY, M. M.; SHERRIN, J. D. Antibiotics susceptibility testing by standardized single disk method. **Am. J. Clin. Pathol**, Chicago, v. 45, n. 4, p. 493-496, Apr. 1966.
- BELLO-LÓPEZ, J. M. *et al.* Horizontal gene transfer and its association with antibiotic resistance in the genus Aeromonas spp. **Microorganisms**, v. 7, n. 9, p. 363, 2019.
- BHULLAR, K. *et al.* Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiome. **PLoS one**, v. 7, n. 4, p. e34953, 2012.
- BRASIL – Instrução Normativa nº 14, de 17 de maio de 2012. Proíbe em todo o território nacional a importação, fabricação e o uso das substâncias antimicrobianas espiramicina e eritromicina com finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 18 de maio de 2012. Seção 1.
- BRASIL - ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Antimicrobianos – Bases teóricas e Uso clínico**. Brasília, 2007. Disponível em: [https://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede\\_rm/cursos/rm\\_controle/opas\\_web/modulo1/propriedades.htm](https://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo1/propriedades.htm). Acesso em: 28 nov. 2022.
- BROWN, S.; SANTA MARIA JR, J. P.; WALKER, S. Wall teichoic acids of gram-positive bacteria. **Annual review of microbiology**, v. 67, p. 313-336, 2013.

BUSH, K.; BRADFORD, P. A.  $\beta$ -Lactams and  $\beta$ -lactamase inhibitors: an overview. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 6, n. 8, p. a025247, 2016.

CABELLO, F. C. *et al.* Aquaculture as yet another environmental gateway to the development and globalisation of antimicrobial resistance. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 7, p. e127-e133, 2016.

CARCIONE, D. *et al.* old and new beta-lactamase inhibitors: Molecular structure, mechanism of action, and clinical use. **Antibiotics**, v. 10, n. 8, p. 995, 2021.

CARVALHO, F. C. T. **Salmonella spp. e Escherichia coli em ambientes de cultivo de camarão (*Litopenaeus vannamei*) no Estado do Ceará.** 2012. 82 f. Tese (Doutorado em Ciências Marinhas Tropicais), Universidade Federal do Ceará - Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR), Fortaleza, 2012.

CARVALHO, E. M. R. de. **Deteção de integrons e genes cassetes relacionados com a resistência a antimicrobianos em Vibrio spp. isolados de hemolinfa de camarões Litopenaeus vannamei (BONNE, 1931).** 2013. 136 f. Tese (Doutorado em Ciências Marinhas Tropicais) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR), Fortaleza, 2013.

CAUMO, K. S. *et al.* Resistência bacteriana no meio ambiente e implicações na clínica hospitalar. **Revista Liberato: revista de divulgação de educação, ciência e tecnologia.** Novo Hamburgo, RS. v. 11, n. 16 (jul./dez. 2010), p. 89-188, 2010.

CEARÁ. Governo Municipal de Fortim. **O Rio Jaguaribe.** Disponível em: <https://www.fortim.ce.gov.br/informa.php?id=13/>. Acesso em: 22 nov. 2022.

CHEN, H. *et al.* Characterization of antibiotic resistance genes in the sediments of an urban river revealed by comparative metagenomics analysis. **Science of The Total Environment**. v. 653, p. 1513-1521, 2019.

CLSI/NCCLS - **Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: nineteenth informational supplement.** 19th ed. M100-S19. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2022. v.29, n.3, p.149.

COSTA, A. *et al.* Expedição científica ao alto curso do Rio Jaguaribe, Estado do Ceará: identificação da exata nascente do possivelmente maior rio efêmero do mundo. **Caderno de Geografia**, v. 30, n. 63, p. 956-956, 2020.

COSTA, C. G. F. Estudo da ecologia da paisagem no estuário do Rio Jaguaribe no litoral do Ceará (Brasil) numa perspectiva geoambiental. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 7, p. 24-32, 2013.

COSTA, C. R. *et al.* Interannual water quality changes at the head of a tropical estuary. **Environmental monitoring and assessment**, v. 189, n. 12, p. 1-13, 2017.

COX, G.; WRIGHT, G. D. Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 303, n. 6-7, p. 287-292, 2013.

CULYBA, M. J.; MO, C. Y.; KOHLI, R. M. Targets for combating the evolution of acquired antibiotic resistance. **Biochemistry**, v. 54, n. 23, p. 3573-3582, 2015.

CZATZKOWSKA, M. *et al.* Impact of anthropogenic activities on the dissemination of ARGs in the environment—A review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 19, p. 12853, 2022.

DAVIES, J.; DAVIES, D. Origins and evolution of antibiotic resistance. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 74, n. 3, p. 417-433, 2010.

DE CASTRO, Í. R. R.; DE CASTRO, L. R.; LIMA, A. C. S. Bactérias resistentes a antibióticos em ambiente aquático: efeito na produção animal. **Ciência Animal**, v. 32, n. 1, p. 84-99, 2022.

DO PRADO SOUZA, R. *et al.* A atenção farmacêutica no uso racional de antibióticos: uma revisão narrativa. **Revista Artigos. Com**, v. 26, p. e6112-e6112, 2021.

DOS SANTOS, D. R. *et al.* Pesticide degrading bacteria in aquatic environment: bioprospecting and evaluation of biotechnological potential. **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**. V. 8, n. 4, p. 250-256, 2016.

DOWNES, F. P.; ITO, K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods—APHA. **Washington, DC. Ed**, v. 4, 2001.

DUAVÍ, W. C. *et al.* Contamination of aquatic environments by "Urban Pesticides": The case of Cocó and Ceará rivers, Fortaleza-Ceará, Brazil. **Química Nova**, v. 38, p. 622-630, 2015.

EISEN, D. P. Doxycycline. **Kucers' the use of antibiotics**. CRC Press, 2017. p. 1204-1229.

EUCAST - **The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters**. Version 12.0, 2022. <http://www.eucast.org>. Acesso em: 06 jan. 2023.

FABIAN, N. *et al.* Tetracycline antibiotics and resistance mechanisms. **Biological Chemistry**, Berlin, v. 395, p. 559-575. May 2014.

FAVERO, undefined LUIZ P. Manual de Análise de Dados - Estatística e Modelagem Multivariada com Excel®, SPSS® e Stata®. Disponível em: Minha Biblioteca, Grupo GEN, 2017.

FERNANDES, E. R. **Development of a phage-based biosensor to detect *Salmonella* in food stuff**. 2013. Tese de doutoramento Programa Doutoral em Engenharia Química e Biológica. Universidade do Minho. 2013.

FREIRE, F. G. C. *et al.* Indicadores de qualidade da água no rio Jaguaribe em São João do Jaguaribe-CE, Brasil. **Irriga**, v. 18, n. 4, p. 700-707, 2013.

FIORITI, S. *et al.* Linezolid resistance genes in enterococci isolated from sediment and zooplankton in two Italian coastal areas. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 87, n. 9, p. e02958-20, 2021.

GAO, F. *et al.* Airborne bacterial community and antibiotic resistome in the swine farming environment: metagenomic insights into livestock relevance, pathogen hosts and public risks. **Environment International**, v. 172, p. 107751, 2023.

GASTALHO, S.; SILVA, G.; RAMOS, F. Uso de antibióticos em aquacultura e resistência bacteriana: impacto em saúde pública. **Acta Farmacêutica Portuguesa**, v. 3, n. 1, p. 29-45, 2014.

GHADERPOUR, A. *et al.* Detection of multiple potential lyathogenic bacteria in *Matang mangrove* estuaries, Malaysia. **Marine pollution bulletin**, v. 83, n. 1, p. 324-330, 2014.

GIMENES, K. Z.; DA CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JR, I. Decomposição de matéria orgânica alóctone e autóctone em ecossistemas aquáticos. **Oecologia australis**, v. 14, n. 4, p. 1036-1073, 2010.

GODOY, M. D. P. **Mudanças na sedimentação no estuário do rio Jaguaribe (CE) devido a mudanças nos usos do solo.** 2011. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) - Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

GUIDI, L. R. *et al.* **Desenvolvimento de métodos por CL-EM/Em e ocorrência de antimicrobianos em peixes de aquicultura.** 2016. 174 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2016.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. da S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química nova**, v. 33, p. 667-679, 2010.

GRENNI, P.; ANCONA, V.; CARACCILO, A. B. Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: A review. **Microchemical Journal**, v. 136, p. 25-39, 2018.

GRENNI, P. Antimicrobial resistance in rivers: a review of the genes detected and new challenges. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 41, n. 3, p. 687-714, 2022.

GRISE, N. M. F. **Identificação e perfil de resistência antimicrobiana de enterobactérias isoladas de moluscos bivalves e água em dois estuários da Região do Baixo Sul, Bahia.** 2016. 74 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2016.

HATHA, A. A. M. *et al.* Impact of climate change on heterotrophic bacterial communities in the water and sediment of Kongsfjord in Norwegian arctic. **Climate Change & Himalayan Informatics**, p. 170, 2013.

HE, L. *et al.* Mariculture affects antibiotic resistome and microbiome in the coastal environment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 452, p. 131208, 2023.

HOLMES, N. E.; JOHNSON, P. D. R.; HOWDEN, B. P. Relationship between vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-intermediate *S. aureus*, high

vancomycin MIC, and outcome in serious *S. aureus* infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, n. 8, p. 2548-2552, 2012.

HO, J. Y. *et al.* Multidrug-resistant bacteria and microbial communities in a river estuary with fragmented suburban waste management. **Journal of hazardous materials**, v. 405, p. 124687, 2021.

HUGUET, A. *et al.* Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. **Organic Geochemistry**, v. 40, n. 6, p. 706-719, 2009.

HUIJBERS, P. MC; FLACH, C. F.; LARSSON, DG J. A conceptual framework for the environmental surveillance of antibiotics and antibiotic resistance. **Environment international**, v. 130, p. 104880, 2019.

JONES, J. G.; GARDENER, S.; SIMON, B. M.; PICKUP, R. W. Factors affecting the measurement of antibiotic resistance in bacteria isolated from lake water. **J. Appl. Microbiol.**, Oxford, v.60, n.5, p.455-462, may 1986.

JUBEH, B.; BREIJYEH, Z.; KARAMAN, R. Resistance of gram-positive bacteria to current antibacterial agents and overcoming approaches. **Molecules**, v. 25, n. 12, p. 2888, 2020.

KAUSHIK, D. *et al.* Ampicillin: rise fall and resurgence. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 8, n. 5, p. ME01, 2014.

KITIYODOM, S. *et al.* Characterization of antibiotic resistance in *Vibrio* spp. isolated from farmed marine shrimps (*Penaeus monodon*). **FEMS Microbiology Ecology**, Malden, v. 72, n. 2, p. 219-227, 2010.

KRUMPERMAN, P. H. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v.46, n.1, p.165-170, jul. 1983.

LABORCLIN. **Manual de Antibiograma**. Pinhais: Laborclin Produtos Para Laboratórios Ltda., 2019. 54 p.

LAMEIRA, R. de S. **Identificação de bactérias gram-negativas isoladas do Rio dos Sinos**. 2020. Salão de Iniciação Científica, 2020, UFRGS, Porto Alegre, RS.

LARSSON, DG J.; FLACH, C. F. Antibiotic resistance in the environment. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 5, p. 257-269, 2022.

LAXMINARAYAN, R. Antibiotic effectiveness: balancing conservation against innovation. **Science**, v. 345, n. 6202, p. 1299-1301, 2014.

LEPPER, H. C.; WOOLHOUSE, M. E. J.; VAN BUNNIK, B. A. D. The role of the environment in dynamics of antibiotic resistance in humans and animals: a modelling study. **Antibiotics**, v. 11, n. 10, p. 1361, 2022.

LERMINIAUX, N. A.; CAMERON, A. D. S. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. **Canadian journal of microbiology**, v. 65, n. 1, p. 34-44, 2019.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de Qualidade e Tratamento de Água**. 2. ed. Campinas: Editora Átomo, 2010.

LI, W. C. Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. **Environmental pollution**, v. 187, p. 193-201, 2014.

LIMA, C. C.; BENJAMIM, S. C. C.; SANTOS, R. F. S. Mecanismo de resistência bacteriana frente aos fármacos: uma revisão. **CuidArte, Enferm**, p. 105-113, 2017.

LIM, M. Y.; CHO, Y.; RHO, M. Diverse distribution of resistomes in the human and environmental microbiomes. **Current Genomics**, v. 19, n. 8, p. 701-711, 2018.

LODDER, G. *et al.* Tandem duplication in erm C translational attenuator of the macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance plasmid pSES6 from *Staphylococcus equorum*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 40, n. 1, p. 215-217, 1996.

LU, J. *et al.* Responses of sediment resistome, virulence factors and potential pathogens to decades of antibiotics pollution in a shrimp aquafarm. **Science of The Total Environment**. v. 794, p. 148760, 2021.

LUCENA, L. P. de. **Caracterização de células viáveis e não cultiváveis em *Xanthomonas citri* pv. *anacardii***. 2019. 49 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2019.

MAIA, P. L. C. *et al.* Atenção farmacêutica: uma abordagem sobre a resistência antimicrobiana e o uso inadequado na vida cotidiana. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 43347-43362, 2021.

MACKIE, R. I. *et al.* Tetracycline residues and tetracycline resistance genes in groundwater impacted by swine production facilities. **Animal Biotechnology**, v. 17, n. 2, p. 157-176, 2006.

MANIVASAGAN, P. *et al.* Antibiotic resistance and plasmid profiles of *Vibrio* isolates from Muthupettai mangrove environment, south east coast of India. **Journal of International Dental and Medical Research**, Worthing, v. 3, n. 1, p. 38-44, Feb. 2010.

MANJUSHA, S.; SARITA, G. B. Characterization of plasmids from multiple antibiotic resistant *Vibrios* isolated from molluscan and crustacean of Kerala. **International Food Research Journal**, v. 20, n. 1, 2013.

MAPBIOMAS - Projeto MapBiomass – Coleção 7 da Série Anual de Mapas de Cobertura e Uso da Terra do Brasil. Disponível em: <http://brasil.mapbiomas.org>. Acesso em: 20 de nov. 2021.

MARTINS, S. R. O. **Bioprospecção de bactérias degradadoras de agrotóxicos em estuário do Rio Jaguaribe (Ceará, Brasil)**. 2015. 60f. Monografia (Graduação em Ciências

Ambientais) - Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

MENEZES, F. G. R. **Caracterização fenotípica e genotípica de bactérias do gênero *Vibrio* isoladas em alguns estuários do Estado do Ceará.** 2011. 93 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Pesca) – Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

MOLINA-AJA, A. *et al.* Plasmid profiling and antibiotic resistance of *Vibrio* strains isolated from cultured penaeid shrimp. **FEMS Microbiol. Lett.**, Malden, v. 213, n. 1, p. 7-12, 2002.

MONTES PLASCENCIA, C. I. **Aislamiento, identificación molecular y bioactividad de bacterias gram positivas asociadas a la esponja *Aplysinaclathrata*,** 2013. 108f. Tese (Doctoral dissertation, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas). Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, 2013.

MORITZ, C. F. *et al.* Antimicrobial drug-resistant gram-negative saprophytic bacteria isolated from ambient, near-shore sediments of an urbanized estuary: Absence of  $\beta$ -lactamase drug-resistance genes. **Antibiotics**, v. 9, n. 7, p. 400, 2020.

MOTA, F. S.; OLIVEIRA, H. A. de; SOUTO, R. C. F. Perfil e prevalência de resistência aos antimicrobianos de bactérias Gram-negativas isoladas de pacientes de uma unidade de terapia intensiva. **RBAC**, v. 50, n. 3, p. 270-277, 2018.

MUURINEN, J. *et al.* Antibiotic resistomes and microbiomes in the surface water along the Code River in Indonesia reflect drainage basin anthropogenic activities. **Environmental Science & Technology**, v. 56, n. 21, p. 14994-15006, 2022.

NARANCIC, T. *et al.* Metabolic versatility of Gram-positive microbial isolates from contaminated river sediments. **Journal of Hazardous Materials**, v. 215, p. 243-251, 2012.

NASCIMENTO, V. F. S.; ARAÚJO, M. F. F. de. Ocorrência de bactérias patogênicas oportunistas em um reservatório do semiárido do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 7, n. 1, p. 91-104, 2013.

NASCIMENTO, E. D. do; MAIA, C. M. de M.; ARAÚJO, M. F. F. de. Contaminação da água de reservatórios do semiárido potiguar por bactérias de importância médica. **Revista Ambiente & Água**, v. 11, p. 414-427, 2016.

NEVES, M. C. *et al.* DETECÇÃO DE GENES DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA EM CROMOSSOMOS E PLASMÍDEOS DE STAPHYLOCOCCUS SPP. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, p. 207-213, 2022.

NOWROTEK, M. *et al.* Culturomics and metagenomics: In understanding of environmental resistome. **Frontiers of Environmental Science & Engineering**, v. 13, p. 1-12, 2019.

OLIVEIRA, M.; PEREIRA, K. D. S. P. S.; ZAMBERLAM, C. R. Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado de antibióticos: uma questão de saúde pública. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 6, n. 11, p. 18-18, 2020.

OLIVEIRA, A. S. *et al.* Microrganismos no sedimento de margens opostas do estuário do Rio Coreaú em Camocim/CE. **Revista Acta Ambiental Catarinense**, v. 18, n. 1, p. 216-238, 2021.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde: Trabalhando juntos para combater a resistência aos antimicrobianos. <https://www.paho.org/pt/juntos-combater-resistencia-antimicrobianos>. Acesso em: 7 jan. 2023.

PANTALENA, A. F.; MAIA, L. P. Marcas da ação antrópica na história ambiental do Rio Jaguaribe, Ceará, Brasil. **RGCI**, v. 14, n. 3, p. 459-470, 2014.

PAULA, D. P.; MORAIS, J. O.; PINHEIRO, L. S. Análise geoambiental do estuário do rio Jaguaribe-CE: tensores naturais e antrópicos. **Anais do 6º Simpósio Nacional de Geomorfologia**, p. 1-11, 2006.

PEIXOTO, J. R. O. **Diversidade e padrões de susceptibilidade a antimicrobianos em bactérias isoladas de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) e do ambiente aquático**, 2012. 161 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) – Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

PEÑA-GUZMÁN, C. *et al.* Emerging pollutants in the urban water cycle in Latin America: a review of the current literature. **Journal of environmental management**, v. 237, p. 408-423, 2019.

PEREIRA, F. B. **Modelagem trófica de um estuário hipersalino com intervenção antrópica (Ceará, Brasil)**. 2018. 43 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) – Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

PEREIRA, R. C.; GOMES, A. S. **Ecologia Marinha**. 1 ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2021.

QIU, D. *et al.* Resposta da resistência microbiana aos antibióticos aos pesticidas: uma ameaça emergente à saúde. **Ciência do Meio Ambiente Total**, v. 850, p. 158057, 2022.

QUEVEDO-SILVA, F. *et al.* Estudo bibliométrico: orientações sobre sua aplicação. **Revista Brasileira de Marketing**, v. 15, n. 2, p. 246-262, 2016.

RADU, E. *et al.* Resilience of agricultural soils to antibiotic resistance genes introduced by agricultural management practices. **Science of The Total Environment**, v. 756, p. 143699, 2021.

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

ROCHA, R. S. **Caracterização polifásica da comunidade bacteriana heterotrófica de ambiente de carcinicultura frente às tetraciclinas**. 2016. 105 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Pesca) – Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

- SANTOS, L. A contribuição da aquacultura para a emergência, disseminação e transferência de resistência bacteriana aos antibióticos: origem, potenciadores e soluções. **Acta Farmacêutica Portuguesa**, v. 8, n. 1, p. 69-80, 2019.
- SANTOS, B. C. dos. **Identificação e caracterização do bacterioma de arroz vermelho**. 2020. 46 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2020.
- SCHIMIDT, D. B. Pressão seletiva antimicrobiana e a expressão da resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus*. 2017. 93 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia e Parasitologia Aplicadas), Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2017.
- SERRANO, P. H. **Responsible use of antibiotics in aquaculture**. FAO Fisheries Technical Paper. No.469. Rome, FAO. 2005. 97p
- SEONG, H. J. *et al.* A case study on the distribution of the environmental resistome in Korean shrimp farms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 227, p. 112858, 2021.
- SILVA, H. F. O. da. **Nanopartículas de prata conjugadas com hclato de doxiciclina: síntese, caracterização e avaliação da atividade antimicrobiana contra Escherichia coli**. 2015. 90 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.
- SILVA, I. M. **Antibióticos beta-lactâmicos e as 'superbactérias'**. 2017. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2017.
- SOUSA, J. C. G. *et al.* A review on environmental monitoring of water organic pollutants identified by EU guidelines. **Journal of hazardous materials**, v. 344, p. 146-162, 2018.
- STABILI, L.; CAVALLO, R. A. Microbial pollution indicators and culturable heterotrophic bacteria in a Mediterranean area (Southern Adriatic Sea Italian coasts). **Journal of Sea Research**, Amsterdam, v. 65, p. 461-469, 2011.
- TANG, B. *et al.* A predator-prey interaction between a marine *Pseudoalteromonas* sp. and Gram-positive bacteria. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 285, 2020.
- TAVARES, W. **Antibióticos e quimioterápicos para o clínico**. 3 ed. rev. e atual. São Paulo: Editora Atheneu, 2014.
- TAO, R. *et al.* Detection of antibiotic resistance and tetracycline resistance genes in Enterobacteriaceae isolated from the Pearl rivers in South China. **Environ. Pollut.**, Oxford, v.158, v.6, p.2101-2109, jun. 2010.
- TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; FUNKE, B. R. **Microbiologia**-12 ed. Artmed Editora, 2016.
- TRABULSI, L.R; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 6 ed. São Paulo: Atheneu, 2015. 912 p.

UNEP. United Nations Environment Programme. Antimicrobial resistance: a global threat. Disponível em: <https://www.unep.org/explore-topics/chemicals-waste/what-we-do/emerging-issues/antimicrobial-resistance-global-threat#:~:text=The%20key%20reasons%20contributing%20to,human%20and%20veterinary%20healthcare%20settings>. Acesso em: 06 jan. 2023.

VASCONCELOS, F. R. *et al.* Perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas do açude Santo Anastácio, Ceará, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, p. 405-410, 2020.

VAZ-MOREIRA, I.; NUNES, O. C.; MANAIA, C. M. Bacterial diversity and antibiotic resistance in water habitats: searching the links with the human microbiome. **FEMS microbiology reviews**, v. 38, n. 4, p. 761-778, 2014.

VIEIRA, B. B.; PEREIRA, E. L. Potencial dos probióticos para o uso na aquicultura. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 14, n. 2, p. 1223-1241, 2017.

WALTON, M. **One planet, one health**. Sydney University Press, 2017.

WANG, Y.; WANG, Z. L. Shifts of sediment microbial community structure along a salinized and degraded river continuum. **Journal of Coastal Research**, v. 34, n. 2, p. 443-450, 2018.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION) *et al.* **Report on surveillance of antibiotic consumption: 2016-2018 Early Implementation**. 2018. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241514880>. Acesso em: 06 jan. 2023.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Global action plan on antimicrobial resistance**. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241509763>. Acesso em: 06 jan. 2023.

WU, P. *et al.* Bacterial polycyclic aromatic hydrocarbon ring-hydroxylating dioxygenases in the sediments from the Pearl River estuary, China. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 98, n. 2, p. 875-884, 2014.

ZAMPIERI, B. D. B. **Ocorrências e distribuição de bactérias resistentes a metais pesados em sedimentos da Baía do Araçá, São Sebastião (SP)**. 2015. 79 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2015.

ZHANG, Y. J. *et al.* Transfer of antibiotic resistance from manure-amended soils to vegetable microbiomes. **Environment international**, v. 130, p. 104912, 2019.