

Avaliação da resistência bacteriana em locais recreacionais para atividades de pesca de subsistência e esportiva em pontos de Santos, São Vicente e Praia Grande.

Geovanna Silva de Freitas

**São Vicente
2023**

Avaliação da resistência bacteriana em locais recreacionais para atividades de pesca de subsistência e esportiva em pontos de Santos, São Vicente e Praia Grande.

Geovanna Silva de Freitas

Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Júlia Fernandes
Coorientador: MSc. José Augusto de Souza

Trabalho de conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de Biociências
Campus do Litoral Paulista UNESP,
como requisito parcial para a obtenção
do título de bacharel em Ciências
Biológicas, habilitação em Biologia
Marinha.

São Vicente
2023

F866a

Freitas, Geovanna Silva de

Avaliação da resistência bacteriana em locais recreacionais para atividades de pesca de subsistência e esportiva em pontos de Santos, São Vicente e Praia Grande. / Geovanna Silva de Freitas. -- São Vicente, 2023

44 p. : tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, São Vicente

Orientadora: Ana Julia Fernandes

Coorientadora: José Augusto de Souza

1. Bioindicadores fecais. 2. Bactérias resistentes. 3. Legislação. I. Título.

AGRADECIMENTOS

Escrever sobre os agradecimentos talvez seja a parte mais difícil.

Não por não saber a quem agradecer, e sim por reconhecer que todas as pessoas que passaram pela minha vida ao longo desses quatro anos fizeram a diferença de alguma forma, mesmo que por um único dia.

Ainda assim, preciso iniciar agradecendo a Jesus, que fez todo esse sonho se tornar realidade, e que ao longo dos quatro anos esteve em todos os dias comigo, me consolando e guardando em todos os momentos.

À minha família, em especial minha mãe, Alessandra e meu irmão, Guilherme, que foram mais do que eu poderia sonhar ou pedir. Vocês me deram todo o suporte que precisei, fizeram sacrifícios e não soltaram minha mão nem por um segundo. À minha avó, Lidia, por ser a melhor avó do mundo, e me trazer o aconchego em seus abraços e nas suas comidinhas quando eu mais precisava me sentir em casa. Obrigada por todo o amor que me proporcionaram, eu os amo incondicionalmente, e a conclusão de mais uma etapa, é dedicada a vocês.

Agradeço imensamente ao Laboratório Micromar e equipe, à Prof^a Dr^a Ana Júlia Fernandes por ter me acolhido e permitido que eu trabalhasse na área desejada desde que entrei na Universidade. Obrigada pelas experiências compartilhadas e todo o suporte. Augusto (Wifive), não sei até hoje o que teria sido sem você ao longo desses anos, você me ensinou tudo o que sei, esteve comigo em todos os momentos, coletas, análises, e me ajudou em todas as etapas - além de um excelente coorientador, te levarei sempre como um amigo querido, muitíssimo obrigada. E Roberta, muito obrigada por ter me socorrido quando mais precisei, sou eternamente grata por toda a ajuda e por compartilhar conhecimentos tão necessários. Admiro demais todos vocês.

Quero agradecer à UNESP - Campus do Litoral Paulista por esses anos que, apesar de terem sido atrapalhados pelo período de pandemia, me fizeram ter experiências que corroboraram para meu crescimento pessoal e profissional, e me fizeram conhecer pessoas excepcionais.

Às minhas amigas, Ana Fortes e Agatha Kyara, vocês estarão para sempre em meu coração, obrigada por tudo que não me atreverei a listar, por ser uma infinidade de coisas. Foi incrível poder compartilhar meus dias em saídas de campo, salas de aula, eventos, choros, sorrisos e praias com vocês. Obrigada Mayshinha, que além de companheira de laboratório se tornou uma amiga essencial. À Zuzu (Gabrielle) por toda a ajuda ao longo da graduação e

pela amizade leve que temos, e à Geovanna Marinho pelos poucos, porém ótimos dias juntas. Vocês são incríveis, e espero ter vocês em minha vida por longos anos.

Não poderia deixar de citar a mulher que me acompanhou por quase toda a graduação, me aturou nos meus dias mais difíceis com todas as minhas chatices e crises. Nayara você foi uma das que, apesar dos pesares, permaneceu. E eu jamais poderei retribuir tudo e muito menos expressar o tanto que sou grata. Obrigada pela compreensão e por todo o carinho e cuidado que tivemos ao longo desses anos.

À Júlia Carvalho, pela reaproximação, e por ser, em todos esses 13 anos, a melhor amiga que eu poderia sonhar em ter.

Ao pessoal das repúblicas, SOS, Woodstock e Ilusão. À Livia, e demais amigos que fiz na graduação e me acompanharam em diversos momentos, Airam, Alan, vocês estarão para sempre em meu coração. Muito obrigada, principalmente por me acolherem quando mais precisei.

Um agradecimento simbólico aos meus filhos, que não possuem habilidades para leitura, mas possuíram habilidades de me acalmar, acompanhar e me amar durante a graduação, que são meus pets, Mellissa, Ló, Eva, Pantera, Ayla e Neno.

Aos que me esqueci de citar, porém fizeram parte dos meus dias bons, muito obrigada por terem feito parte deste ciclo.

RESUMO

As zonas litorâneas localizadas na Região Metropolitana da Baixada Santista (RMBS) são alvos de diversas fontes de poluentes, podendo tornar suas águas impróprias para atividades de contato primário devido à alta densidade bacteriana encontrada nela, principalmente por bactérias consideradas bioindicadores fecais, como *Escherichia coli* e *Enterococcus*, que quando presentes evidenciam o descarte de efluentes domésticos sem o tratamento adequado, e podem indicar a presença de diversos outros microrganismos patogênicos devido à contaminação. Dentre os poluentes possíveis, temos os antibióticos, que são um dos compostos não removidos totalmente no serviço oferecido pela Sabesp para as águas lançadas por emissários, e, portanto, sua presença no ambiente é inevitável, aumentando os riscos de transmissão do plasmídeo de resistência para outras bactérias. A resistência bacteriana tem se tornado um grande problema da atualidade e da saúde pública. Além de trazer riscos diretos à saúde, a água contaminada com microrganismos patogênicos também contamina a sua fauna associada, como os peixes, que abrigam esses microrganismos em seus órgãos e tecidos, podendo prejudicar a saúde daqueles que os consomem. Nos municípios que fazem parte da RMBS como Praia Grande, Santos e São Vicente, é possível observar pontos muito comuns para a pesca de subsistência e esportiva. Foram realizadas duas coletas nesses pontos, no verão e inverno, e verificado que, em ambas estações, as densidades bacterianas estavam acima dos limites estabelecidos pela Resolução CONAMA 274 de 2000 para águas balneares, exceto para dois pontos. Além disso, foi possível observar resistências múltiplas para diversos antibióticos testados, sendo que em *E. coli*, para Tetraciclina (TET.) e Sulfazotrim (SUT.) tivemos resistência apontada em todos os 9 pontos coletados, indicando a possível ineficiência daqueles antibióticos. Enquanto que para *Enterococcus*, encontram-se mais cepas sensíveis aos antibióticos. Ainda assim, tivemos cepas resistentes. Na campanha de inverno, foi possível identificar resistência em um dos pontos para Imipenem (IPM), representante do grupo de antibióticos denominados de Carbapenêmicos, o que é extremamente problemático, vendo-se que essa classe de antibióticos é utilizada como último recurso para tratar de bactérias multirresistentes.

Palavras chave: Bioindicadores fecais; Bactérias resistentes; Legislação.

ABSTRACT

The coastal areas located in the Metropolitan Region of Baixada Santista (RMBS) are targets of several sources of pollutants, which may make their waters unsuitable for primary contact activities due to the high bacterial density found there, mainly by bacteria considered fecal bioindicators, such as *Escherichia coli* and *Enterococcus*, which, when present, evidence the disposal of domestic effluents without proper treatment, and may indicate the presence of several other pathogenic microorganisms due to contamination. Among the possible pollutants, we have antibiotics, which are one of the compounds that the primary treatment offered by Sabesp is not able to completely eliminate from treated effluents, and, therefore, their presence in the environment is inevitable, increasing the risks of plasmid transmission resistance to other bacteria. Bacterial resistance has become a major current and public health problem. In addition to bringing direct health risks, water contaminated with pathogenic microorganisms also contaminates its associated fauna, such as fish, which harbor these microorganisms in their organs and tissues, and may harm the health of those who consume them. In the municipalities that are part of the RMBS, such as Praia Grande, Santos and São Vicente, it is possible to observe very common spots for subsistence and sport fishing. Two collections were carried out at these points, in summer and winter, and it was verified that, in both seasons, bacterial densities were, except for two points in summer, above the limits established by CONAMA Resolution 274 of 2000 for bathing water. In addition, it was possible to observe multiple resistances for several tested antibiotics, and in *E. coli*, for Tetracycline (TET.) and Sulfazotrim (SUT.) we had resistance indicated in all 9 points collected, indicating the possible inefficiency of those antibiotics. While for *Enterococcus*, there are more strains sensitive to antibiotics. Still, we had resistant strains. In the winter campaign, it was possible to identify resistance at one of the points for Imipenem (IPM), representative of the group of antibiotics called Carbapenems, which is extremely problematic, considering that this class of antibiotics is used as a last resort to treat multiresistant bacteria.

Key words: Fecal bioindicators; Resistant bacteria; Legislation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema de sistema de disposição oceânica.....	13
Figura 2 - Classificação das praias segundo a Resolução CONAMA 274 de 2000.....	15
Figura 3 - Disposição dos municípios de Santos, São Vicente e Praia Grande.....	16
Figura 4 - Registros de um pescador no Portinho, ponto de pesca na região da Praia Grande.....	17
Figura 5 - Pescadores no ponto 2, região de São Vicente, ao lado da Ponte Pênsil, durante coleta.....	20
Figura 6 - Deck dos pescadores em São Vicente, ponto 4, durante coleta.....	22
Figura 7 - Densidade de <i>E. coli</i> em membrana filtrante - Teste confirmatório para <i>E. coli</i> com Ureia com vermelho de fenol.....	22
Figura 8 - Teste confirmatório de <i>Enterococcus</i> spp em caldo nutritivo enterococcosel.....	23
Figura 9 - Placa do teste de sensibilidade <i>Enterococcus</i> com os seguintes antibióticos: Imipenem, Gentamicina, Norfloxacin, Levofloxacin, Cloranfenicol, Vancomicina, Ciprofloxacina, Ampicilina e Teicoplanina.....	23
Figura 10 - Densidade média de bactérias <i>E. coli</i> no mês de março em gráfico de barras representado em números logaritmos. Números representados por 10.000 são meramente ilustrativos, devido ao fato de que estes valores nos respectivos pontos de coleta possuem alta concentração de colônias nas placas, impossibilitando a sua contagem. Em vermelho temos altas densidades encontradas (impróprias) e em verde, densidades dentro do indicado pelo CONAMA para águas balneares, ou seja, uma densidade aceitável (própria).....	25
Figura 11 - Densidade média de bactérias <i>Enterococcus</i> no mês de março em gráfico de barras representado em números logaritmos. Números representados por 10.000 são meramente ilustrativos, devido ao fato de que estes valores nos respectivos	

pontos de coleta possuem alta concentração de colônias nas placas, impossibilitando a sua contagem. Em vermelho temos altas densidades encontradas (impróprias) e em verde, densidades dentro do indicado pelo CONAMA para águas balneares, ou seja, uma densidade aceitável (própria).....26

Figura 12 - Densidade média de bactérias *E. coli* no mês de julho em gráfico de barras representado em números logaritmos. Números representados por 10.000 são meramente ilustrativos, devido ao fato de que estes valores nos respectivos pontos de coleta possuem alta concentração de colônias nas placas, impossibilitando a sua contagem. Em vermelho temos altas densidades encontradas (impróprias) e em verde, densidades dentro do indicado pelo CONAMA para águas balneares, ou seja, uma densidade aceitável (própria).....27

Figura 13 - Densidade média de bactérias *Enterococcus* no mês de julho em gráfico de barras representado em números logaritmos. Números representados por 10.000 são meramente ilustrativos, devido ao fato de que estes valores nos respectivos pontos de coleta possuem alta concentração de colônias nas placas, impossibilitando a sua contagem. Em vermelho temos altas densidades bacterianas encontradas (impróprias).....30

Figura 14 - Duto de descarte de efluentes em ponto de pesca (ponto 2) na região de São Vicente.....31

Figura 15 - Infográfico com informações inerentes à pesca encontrados no Portinho- PG.....32

Figura 16 - Produto de pesca no ponto 4, no deck dos pescadores em São Vicente, que posteriormente, viria a ser consumido pelo pescador.....33

Figura 17: Duto de descarte de efluentes em ponto de pesca (ponto 2) na região de São Vicente.....34

Figura 18: Infográfico com informações inerentes à pesca encontrados no Portinho- PG.....34

Figura 19: Produto de pesca no ponto 4, no deck dos pescadores em São Vicente, que posteriormente, viria a ser consumido pelo pescador.....36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Fatores abióticos - março/2022 - Verão.....	28
Tabela 2 - Fatores abióticos - julho/2022 - Inverno.....	29
Tabela 3 - Índice pluviométrico nos cinco dias que antecederam as coletas de março e julho.....	29
Tabela 4 - Valores dos halos de resistências com indicação de resistente (vermelho) ou sensível (verde) - <i>E.coli</i> - dados referentes a março/2022.....	36
Tabela 5 - Valores dos halos de resistências com indicação de resistente (vermelho) ou sensível (verde) - <i>Enterococcus</i> - dados de março/2022.....	37
Tabela 6 - Valores dos halos de resistências com indicação de resistente (vermelho) ou sensível (verde) - <i>E.coli</i> - dados referentes a julho/2022.....	38
Tabela 7 - Valores dos halos de resistências com indicação de resistente (vermelho) ou sensível (verde) - <i>Enterococcus</i> - julho/2022.....	38

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS	
2.1. Objetivos Gerais.....	19
2.2. Objetivos Específicos.....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS	
3.1. Áreas de Estudo.....	20
3.2 Pontos de coleta.....	21
3.3 Coleta de amostras.....	24
3.4 Fatores abióticos.....	24
3.5 Determinação da densidade de <i>E. coli</i>	24
3.6 Determinação da densidade de <i>Enterococcus</i>	25
3.7 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos.....	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	
4.1 Fatores abióticos.....	28
4.2 Densidades microbiológicas.....	30
4.3 Resistência a antibióticos- Teste de sensibilidade.....	36
5. CONCLUSÃO.....	40
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
7. ANEXO I.....	44
8. ANEXO II.....	44

INTRODUÇÃO

A população caiçara é determinada por povos tradicionais que vivem em cidades litorâneas dos estados de São Paulo, Paraná e Rio de Janeiro, e que surgiram originalmente com a miscigenação de povos originários, negros e europeus (CLAUZET, *et al.*, 2005). Seus membros viviam no período do séc. XVIII à XX principalmente das atividades pesqueiras realizadas, tanto para comércio quanto para própria subsistência (CLAUZET, *et al.*, 2005; FAGUNDES, *et al.*, 2004).

Devido ao aumento populacional em áreas costeiras, por conta da grande expansão imobiliária ocasionada principalmente pelas atividades portuárias (FAGUNDES, *et al.*, 2004), a extração dos recursos pesqueiros vem sendo cada vez maior e rotineira, pois além de uma atividade de subsistência, a pesca se tornou um trabalho para complementação de renda, onde os produtos dessas atividades também são comercializados (FAGUNDES, *et al.*, 2004; PENA & GOMEZ, 2014). Porém, devido aos fatores citados anteriormente e outros como contaminação das águas, e mudanças climáticas emergentes, os recursos dos quais esses pescadores dependem para sua sobrevivência vem sendo ameaçados (PENA; GOMEZ, 2014).

A Região Metropolitana da Baixada Santista (RMBS), compreende 9 municípios do litoral sudeste do Estado de São Paulo (Bertioga, Guarujá, Santos, São Vicente, Praia Grande, Mongaguá, Itanhaém, Cubatão e Peruíbe), e é caracterizada por suas belezas naturais, suas praias e por sua proximidade à capital São Paulo. Uma região em constante expansão, e devido às suas características, a RMBS é uma região turística que, no período de verão, recebe turistas de todo o estado para lazer e/ou a prática de esportes em suas praias.

Segundo o IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), os municípios da RMBS, podem apresentar uma população flutuante de 20 a 25% maior em épocas sazonais (períodos de verão, férias ou feriados prolongados) ou seja, aqueles que não possuem residências fixas no município. Este número significativo impacta as orlas do município, que ficam ainda mais sobrecarregadas, assim como o aumento de despejo de efluentes domésticos (CETESB 2020).

Outra grande problemática da Baixada Santista, é o descarte de efluentes domésticos de forma inadequada na região, assim como por meio de emissários, o que faz com que grande parte do seu aporte hídrico, esteja em condições de poluição, principalmente pela presença de material de origem fecal (SOUTO *et al.*, 2015).

O tratamento dos efluentes antes de serem lançados ao mar por meio de emissários é realizado pela Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP), numa fase de pré-condicionamento dos esgotos, que consiste em gradeamento, peneiramento e, frequentemente, na desinfecção por meio de cloração, e que é reconhecido como pouco eficiente por alguns pesquisadores por não eliminar todos os contaminantes dos efluentes, podendo causar diversas alterações ambientais (ABESSA *et al.*, 2012).

O Emissário Submarino de Santos (Figura 1), influência de forma negativa a qualidade das águas da Baía de Santos, estudos demonstraram que há um aumento das densidades de indicadores de contaminação fecal, apresentando uma qualidade de água ruim (ABESSA *et al.*, 2012).

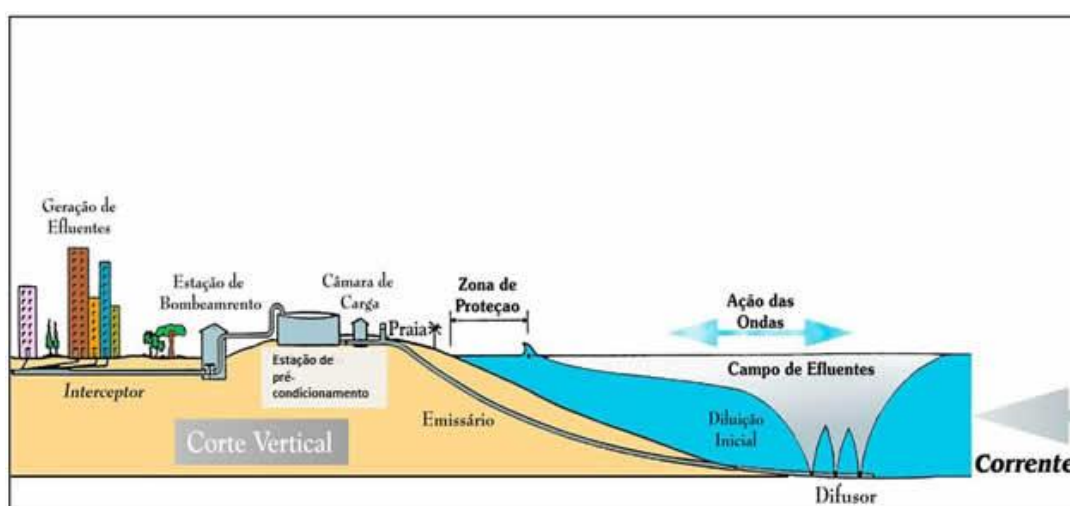


Figura 1: Esquema de sistema de disposição oceânica. Fonte: CETESB.

Diversas são as origens dos contaminantes da água, como efluentes domésticos, hospitalares, industriais, carga difusa das áreas urbanas e agrícolas, que traz consigo uma diversidade de microrganismos (HORTELLANI *et al.*, 2008; ABESSA *et al.*, 2012; SOUTO *et al.*, 2015).

Essa presença em demasiada quantidade inviabiliza o uso da água para atividades de contato primário e secundário, como a pesca e a aquicultura (ABESSA, *et al.*, 2012).

De acordo com estudos e dados do Saneamento Instituto Trata Brasil (2021), o município de Santos, apresenta a universalização de coleta e tratamento de esgoto, porém este número desconsidera as ocupações irregulares, canais, morros e encostas (MASSONETTO, 2020; YOUNG & FUSCO, 2006), o que acarreta na poluição de mares e águas interiores.

A contaminação das praias por microrganismos e suas consequências relacionadas, está bastante referenciada por diversos pesquisadores (OLIVEIRA & PINHATA, 2010; CÍCERO *et al.*, 2011; DA SILVA *et al.*, 2008; ABESSA *et al.*, 2012; VIEIRA, 2000) que

avaliam o nível de contaminação da água a partir dos parâmetros estabelecidos pela resolução CONAMA nº 274, de 29 de novembro de 2000, que define os critérios de balneabilidade das águas brasileiras, como própria e imprópria, a partir da presença e quantidade de agentes indicadores microbiológicos, tais como bactérias do grupo *Enterococcus* e *Escherichia coli* (CONAMA nº 274, de 29 de novembro de 2000).

Os *Enterococcus* pertencentes ao gênero *Enterococcus* são compostos por 38 espécies em forma de cocos, Gram-positivas, sem esporulação, se caracterizam por serem altamente tolerantes a situações diversas, como níveis diferentes de níveis de pH, em amplas faixas de temperatura, variando de 10°C à 45°C, assim como podem crescer em atmosferas com ou sem oxigênio, pois são anaeróbios facultativos e grande parte de suas espécies se originam de fezes humanas (CETESB, 2020).

Os *Enterococcus* são patógenos oportunistas, podendo causar infecções via água e alimentos contaminados e também podendo ser transmitida de pessoa para pessoa. São responsáveis por inúmeras doenças como endocardites, infecções urinárias, intra-abdominais, em feridas, meningites, entre muitas outras. Está presente na biota intestinal normal humana e seu desequilíbrio também pode gerar infecções. (JOHN e CARVALHO, 2011; OLIVEIRA, 2017).

Enquanto que, *E.coli* são bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae* é uma bactéria flagelada em forma de bacilo, Gram-negativa, sem esporulação, anaeróbia facultativa, constituinte convencional da biota intestinal de outros animais homeotermos, crescem em meio complexo, com temperatura ideal de 44°C à 45°C, tendo sido encontradas no meio, exclusivamente em esgotos, efluentes e locais em que tenham recebido contaminação fecal recente (CETESB, 2020; OLIVEIRA 2017).

De acordo com a Resolução CONAMA nº 274 de 2000, as águas doces, salobras e salinas são classificadas como próprias ou impróprias, de acordo com sua qualidade, para fins de atividades de contato primário. São tidas como impróprias as águas quando o “valor obtido na última amostragem for superior a 2500 coliformes fecais (termotolerantes) ou 2000 *Escherichia coli* ou 400 *Enterococos* por 100 mililitros”, sendo que os valores para *E. coli* são apenas para águas marinhas (Figura 2).

CATEGORIA		Coliforme Termotolerante (UFC/100 mL)	<i>Escherichia coli</i> (UFC/100 mL)	Enterococos (UFC/100 mL)
PRÓPRIA	EXCELENTE	Máximo de 250 em 80% ou mais tempo	Máximo de 200 em 80% ou mais tempo	Máximo de 25 em 80% ou mais tempo
	MUITO BOA	Máximo de 500 em 80% ou mais tempo	Máximo de 400 em 80% ou mais tempo	Máximo de 50 em 80% ou mais tempo
	SATISFATÓRIA	Máximo de 1.000 em 80% ou mais tempo	Máximo de 800 em 80% ou mais tempo	Máximo de 100 em 80% ou mais tempo
IMPRÓPRIA		Superior a 1.000 em mais de 20% do tempo	Superior a 800 em mais de 20% do tempo	Superior a 100 em mais de 20% do tempo
		Maior que 2.500 na última medição	Maior que 2.000 na última medição	Maior que 400 na última medição

Figura 2: Classificação das praias segundo a Resolução CONAMA 274 de 2000. Fonte: CETESB.

Vale ressaltar que os serviços de monitoramento da qualidade das águas doces superficiais, e praias recreacionais é realizado pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), de acordo com a resolução n. 274 do CONAMA.

O monitoramento dos locais de banhos e pontos de pesca utilizados por moradores e turistas é importante para a classificação de balneabilidade, já que a presença de microrganismos patogênicos pode ser encontrada, fazendo com que a água e sedimentos associados e que sejam para fins de contato primário, juntamente com os animais que ali vivem, que muitas das vezes são consumidos e comercializados para o consumo humano podem ser afetados e seu consumo pode gerar risco à saúde humana (MELO, 2015; OLIVEIRA, 2016).

Sabe-se que os animais aquáticos, como os pescados, acabam sendo diretamente influenciados fisiologicamente a partir do local onde vivem. Estudos como MELO (2015) e PAIVA (2016) têm comprovado que a microbiota presente nos tecidos e órgãos de peixes, como brânquias, rim, e no trato gastrointestinal, está quantitativamente e qualitativamente relacionada com a microbiota do ambiente aquífero no qual o animal está inserido. Porém, mesmo com os fatos citados, ainda não se tem conhecimento de uma legislação específica que determine o valor limite de algumas bactérias que demonstram contaminação fecal nas águas e são responsáveis por diversas doenças, como a bactéria fecal *E. coli* e as pertencentes ao grupo *Enterococcus*, nos pescados (MELO, 2015).

A água é uma das principais fontes de transmissão de patógenos, e sua contaminação se dá principalmente pelos dejetos do ser humano, animais e solo (MACEDO, 2001), já que a partir deles, ocorre o favorecimento do crescimento de microrganismos patogênicos, como as bactérias. Isso acarreta em diversas doenças na população, como diarreias, gastroenterites,

cólera, febre tifóide, e outras doenças relacionadas a outros microrganismos, como as parasitoses e hepatite A, o que evidencia um grave problema de saúde pública (SOUTO *et al.*, 2015; ABESSA, *et al.*, 2012; PAIVA, 2016).

O tratamento por gradeamento, peneiramento e cloração, utilizado nas Estações de Tratamento não removem totalmente os fármacos das águas, os mesmos são persistentes no meio ambiente, o que faz com que eles estejam presentes em águas superficiais e de subsolo, que foram contaminadas por esgotos domésticos (BILA & DEZOTTI, 2003).

Os antibióticos são facilmente encontrados como contaminante em solos, águas superficiais e de subsolo, e até mesmo em sedimento marinho, isso devido ao seu uso recorrente na agropecuária, como aditivo na alimentação de peixes, e por se tratar de um dos fármacos mais presentes em esgotos domésticos (BILA & DEZOTTI, 2003), o que pode acarretar a efeitos adversos em diferentes organismos, incluindo bactérias, que podem adquirir resistência a antibióticos quando encontrados no meio (BILA & DEZOTTI, 2003; OLIVEIRA & PINHATA, 2010; PINTO & OLIVEIRA, 2011; OLIVEIRA, 2017; PEREIRA, *et al.*, 2020).

Essa resistência pode ser intrínseca ou adquirida, sendo que a primeira trata-se de uma resistência apresentada de forma natural pela bactéria, por características estruturais ou enzimáticas que levam a ineficiência de alguns fármacos quando entram em contato com essas células bacterianas (Figura 3).

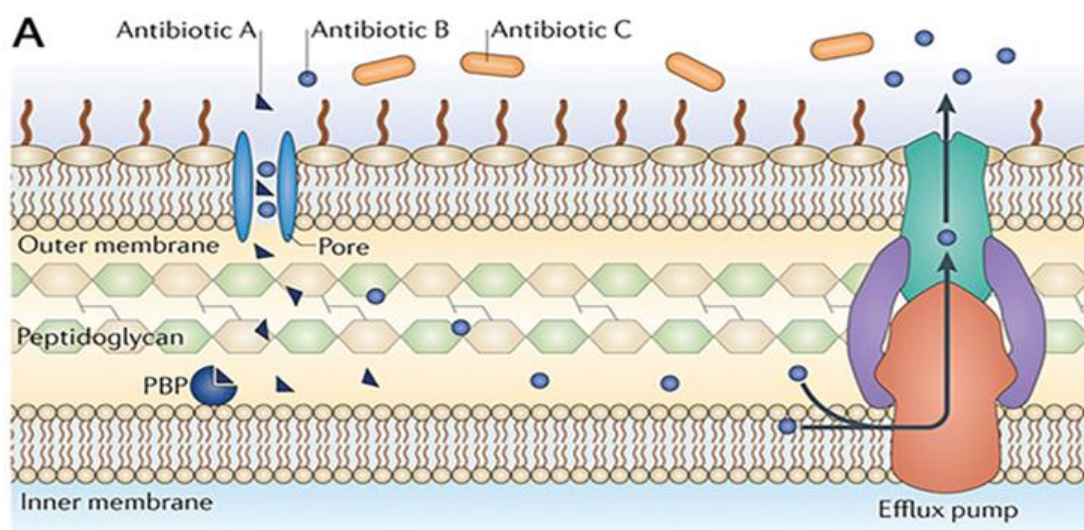


Figura 3: Resistência inata evidenciada pelo esquema dos antibióticos B e C, e a não resistência evidenciada pelo antibiótico A, que se liga no sítio-ativo da célula. Fonte: Google.

De forma geral, a resistência bacteriana é um fenômeno onde as bactérias modificam seu material genético, estrutura ou metabolismo de forma a não apresentar mais sensibilidade quando expostas a determinados fármacos (OLIVEIRA & PINHATA, 2008).

Os mecanismos de resistência microbiana aos agentes antimicrobianos são: o bloqueio da entrada do fármaco na célula, a inativação do fármaco por enzimas, alteração do sítio-alvo do fármaco, efluxo celular do fármaco ou alteração das vias metabólicas do hospedeiro. O conhecimento sobre esses mecanismos é essencial para a compreensão das limitações do uso dos antibióticos (TORTORA GJ *et al.*, 2017). Quando essa resistência é adquirida, sendo a mais comum, a bactéria apresenta três formas de aquisição, sendo por 1) Transformação; 2) Transdução ou 3) Conjugação (Figura 4). A primeira, trata-se da transferência do material resistente de uma bactéria morta, ou de um material presente no meio para uma bactéria que não apresente resistência; A segunda, trata-se da transferência do gene resistente por meio de uma partícula viral que acomete bactérias e a terceira forma, por conjugação, ocorre pela transferência do plasmídeo resistente de uma bactéria para a outra por meio da pili sexual (Baptista, 2013)

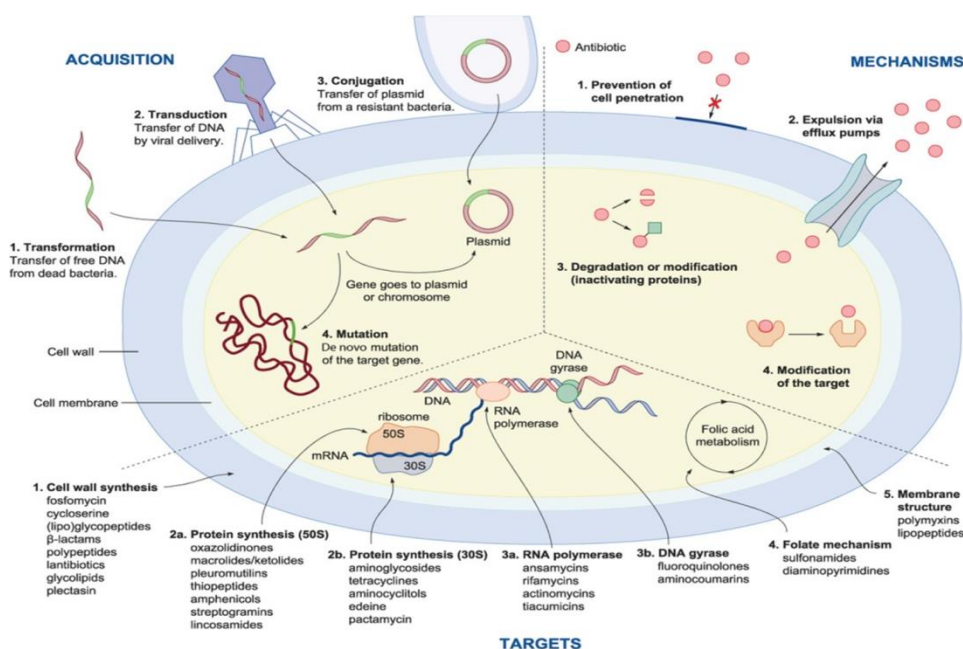


Figura 4: Resistência adquirida, evidenciada pelas formas de aquisição, sendo 1) Transformação; 2) Transdução e 3) Conjugação. Fonte: Google.

No caso dos ambientes aquáticos que são fontes receptoras de esgotos domésticos, a transferência de plasmídeo de resistência entre as bactérias é altamente preocupante pois, bactérias provenientes de locais altamente seletivos, como esgoto de hospitais, permite que bactérias patogênicas, portadoras de plasmídeos de resistência, transfiram estes fatores para bactérias autóctones (DUARTE *et al.*, 2019).

A existência de bactérias resistentes, em ambientes aquáticos e outros, é bastante preocupante uma vez que as bactérias com resistência a certos antibióticos sobrevivem em ambientes aquáticos seletivos e se multiplicam disseminando fatores de resistência, desta forma aumentando o risco à saúde humana gerando um grande problema a saúde pública. (LUPRANO *et al.*, 2016).

Com isso, este estudo busca analisar a qualidade microbiológica das águas de pontos utilizados para pesca por moradores e visitantes de três dos nove municípios da Região Metropolitana da Baixada Santista; Santos, São Vicente e Praia Grande, assim como verificar a resistência bacteriana no ambiente a determinados fármacos da classe dos antibióticos, deste modo relacionar a resistência bacteriana encontrada na água com a possível contaminação e resistência nos peixes.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a qualidade das águas e resistência bacteriana de locais visados para a prática de pesca de subsistência e recreacional nos municípios de Santos, São Vicente e Praia Grande.

Objetivos Específicos

- Avaliar a densidade de *E. coli* e *Enterococcus* - a qualidade das águas nos pontos de pesca de subsistência nos municípios de Santos, São Vicente e Praia Grande;
- Verificar a resistência *E. coli* e *Enterococcus* à diferentes antibióticos;
- Analisar a influência da sazonalidade nas densidades de *E. coli* e *Enterococcus*, assim como a influência a resistência;
- Determinar, com base na literatura, o grau de periculosidade ao se alimentar de peixes que vivem nesses pontos.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

A Região Metropolitana da Baixada Santista (RMBS), localizada na posição central na costa do Estado de São Paulo (Brasil), é uma área de transição entre o litoral Norte e o Sul do Estado. A RMBS tem grande importância para o Estado, tanto por seu aspecto ecológico, com a presença de áreas protegidas, um estuário (Estuário Santos - São Vicente), manguezais e da mata atlântica, quanto pelo seu aspecto econômico, com intensas atividades industriais e portuárias urbanas (OLIVEIRA *et al.*, 2008). A RMBS possui nove municípios, dentre eles Santos, São Vicente e Praia Grande (Figura 3), que por estarem próximos ao município São Paulo, recebem um grande número de turistas (CETESB 2020).

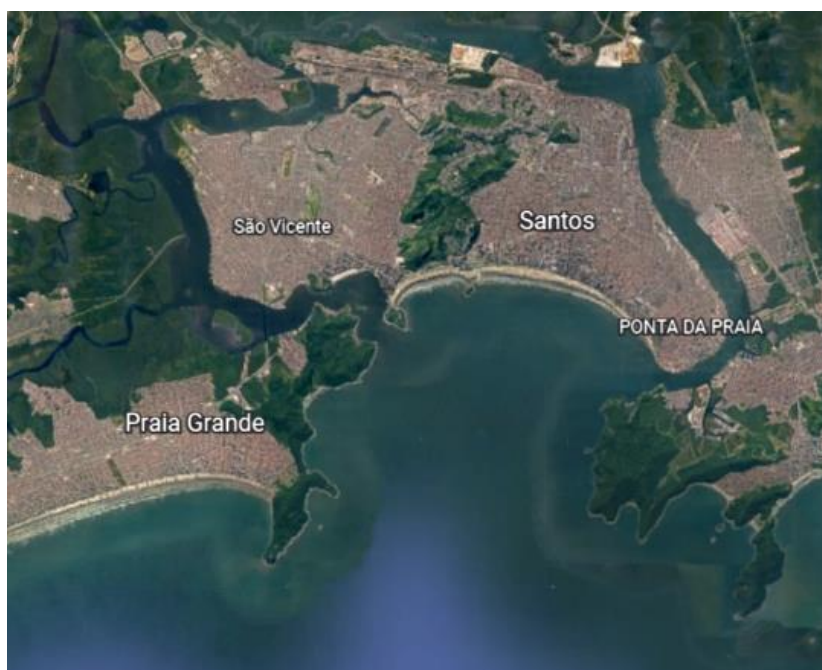


Figura 5: Disposição dos municípios de Santos, São Vicente e Praia Grande Fonte: Google Maps.

O município de Santos é o mais populoso da baixada santista, segundo o IBGE (2021), com mais de 400 mil moradores. É um dos lugares mais procurados durante o verão pelos turistas, devido a sua proximidade com a capital paulista, podendo apresentar uma população flutuante com quase o dobro do número de habitantes, ou seja, aqueles que não residem de forma fixa no local, mas estão presentes em período de férias, feriados e finais de semana. Apresenta um dos maiores portos do Brasil, que é o Porto de Santos, o que prejudica ainda mais suas águas, pois a contaminação é depositada nos sedimentos do fundo e constantemente revolvida pelo processo de dragagem e seus resíduos gerados, lançados nas

regiões costeiras (ABESSA *et al.*, 2012; OLIVEIRA, 2016). Santos é um município conhecido no que se refere à coleta de esgoto, por apresentar, segundo a Prefeitura, 100% de cobertura de rede de esgoto, entretanto, esse número divulgado desconsidera as ocupações irregulares, canais, morros e encostas (MASSONETTO, 2020; YOUNG e FUSCO, 2006).

O município de São Vicente, que possui área dividida entre o continente e a Ilha de São Vicente (figura 2), apresenta 6 km de extensão de praias (CETESB, 2019), que segundo o IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), concentra cerca de 370 mil habitantes, podendo apresentar uma população flutuante de pelo menos 20 a 25 % a mais em épocas sazonais, como no verão, período de férias ou feriados prolongados. Seu sistema de coleta de esgoto, conta com uma média de apenas 70% da cobertura de rede de esgoto, segundo dados da (CETESB 2020), o que leva a população a desenvolver sistemas inadequados para seu tratamento e descarte, que são lançados diretamente ao rio, canal e estuário, ou carregados na forma de carga difusa, na presença de chuvas (CETESB, 2020).

O município de Praia Grande comporta cerca de 330 mil habitantes, segundo o IBGE, e é considerada uma região oligo-mesotrófica, pois a sua fisiologia favorece a dispersão de seus poluentes na água, além de ser uma região mais aberta. Quanto a população flutuante do local, a CETESB (2021) aponta que esse número ultrapassa um milhão de habitantes em determinadas datas comemorativas, como ano novo e férias, com a cidade possuindo cerca de 82,7 % de cobertura de esgotamento sanitário (Prefeitura de Praia Grande, 2022).

Essas populações flutuantes, segundo relatórios da CETESB (2021), podem levar a capacidade dos sistemas de saneamento ao limite, já que não foram projetadas para aguentar tais flutuações.

Pontos de Coletas

Foram realizadas coletas em 9 pontos de áreas de pesca, nos municípios de Praia Grande, São Vicente e Santos.

Sendo o ponto 1 no Portinho (Figura 4), no município de Praia Grande (PORT.), o Portinho é além de local para pesca, um local de lazer com diversas atividades para a população.

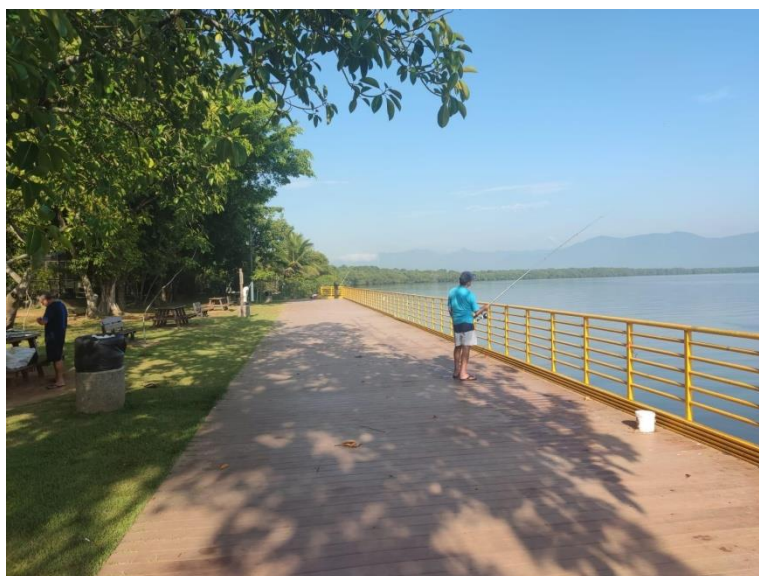


Figura 6: Registros de um pescador no Portinho, ponto de pesca na região da Praia Grande. Fonte: Foto Geovanna Freitas.

Os pontos 2, 3, 4, 5 e 6 do município de São Vicente, sendo o 2 no JapuÍ (Figura 5), sentido Praia Grande (SV. JAPUÍ); 3 e 4 nas extremidades da Ponte Pênsil (SV. DIREITA e SV. ESQUERDA, respectivamente); 5 no Deck de São Vicente (SV. DECK) (Figura 6) e 6 no Píer de São Vicente próximo a praia dos milionários (SV. PIER).

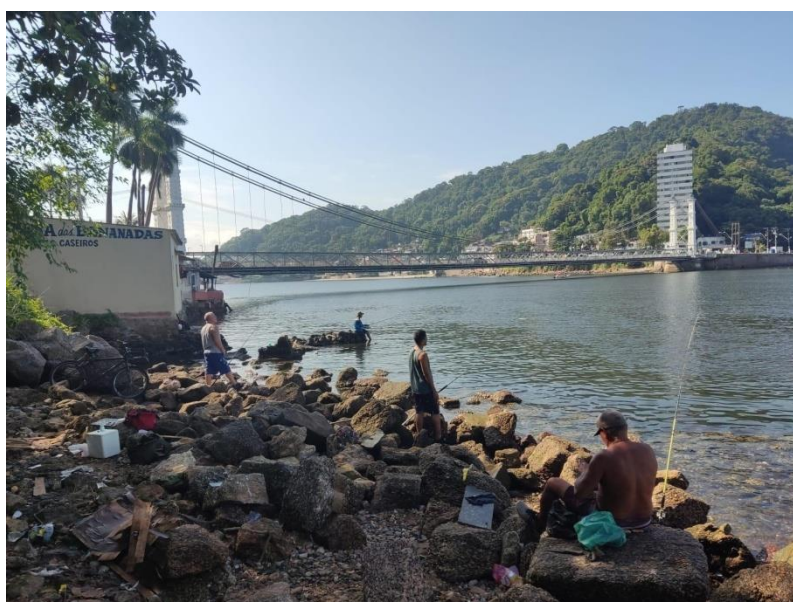


Figura 7: Pescadores no ponto 2, região de São Vicente, ao lado da Ponte Pênsil, durante coleta. Fonte: Foto Geovanna Freitas.



Figura 8: Deck dos pescadores em São Vicente, ponto 4, durante coleta. Fonte: Foto Geovanna Freitas.

No município de Santos foram coletados os pontos 7, 8 e 9, sendo o 7 no Deck do Pescador, Ponta da Praia (SANTOS DECK); 8 e 9 no Canal 4, próximo ao Porto sendo um em cada extremidade do canal (C41 e C42).



Figura 9: Pontos de coletas, sendo em amarelo: Ponto 1, localizado na Praia Grande; Azul: Pontos 2 ao 5, em São Vicente; Verde: Ponto 6 em São Vicente, Preto: Ponto 7, na Ponta da Praia em Santos e 8 e 9: Pontos localizados no final do Canal 4, em Santos, Bacia do Macuco. Fonte: Foto Google Earth.

Coletas de Amostras

As amostras de água foram coletadas nos 9 pontos ao longo dos municípios de Santos, São Vicente e Praia Grande, do Estado de São Paulo.

As amostras foram realizadas nos meses de março (Verão) e julho (Inverno), foram coletadas em frascos estéreis, acondicionadas e transportadas em caixas térmicas refrigeradas, para posterior análise para análise no Laboratório de Microbiologia Marinha (MICROMAR) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Instituto de Biociências Litoral Paulista – São Vicente.

Fatores Abióticos

Os fatores abióticos, temperatura (T °C), salinidade, potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido (OD mg/L e %), Condutividade (ms/cm), foram mensurados *in situ* utilizando uma Sonda Multiparâmetro da marca Hanna no local exato onde foi coletada a amostra de água para análise.

Determinação da densidade de *Escherichia coli*

As densidades serão realizadas através da técnica de membrana filtrante (APHA, 2012). As amostras de água serão filtradas em membrana de 0,45µm de porosidade. Após a filtração as membranas serão depositadas em placas contendo meio de cultura ágar mTEC, que serão incubadas a 35± 2°C por 2 h e em seguidas a 44 °C em banho-maria por 22h. Após a incubação as colônias amareladas serão consideradas *E. coli*. As densidades serão expressas em Unidades Formadoras de Colônias por 100mL (UFC/100mL) (Figura 7).

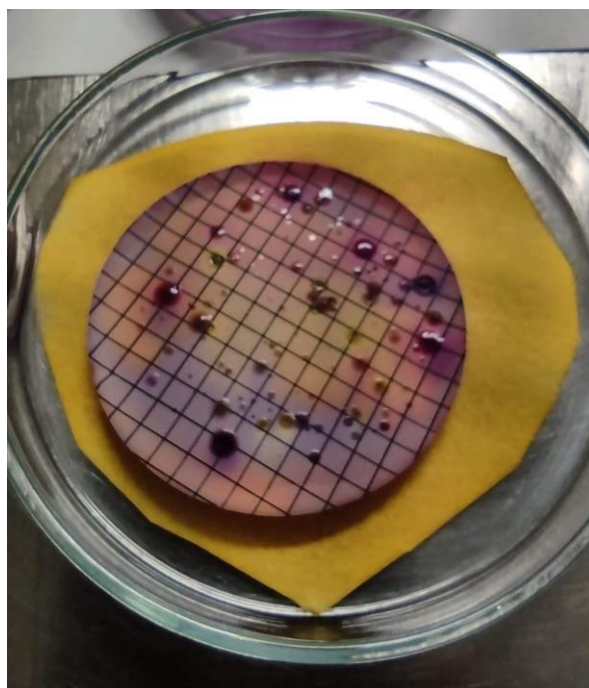


Figura 10: Densidade de *E. coli* em membrana filtrante - Teste confirmatório para *E. coli* com Ureia com vermelho de fenol. Fonte: Foto Geovanna Freitas.

Determinação da densidade de *Enterococcus* spp

As densidades serão realizadas através da técnica de membrana filtrante (APHA, 2012). As amostras de água serão filtradas em membrana de 0,45 μ m de porosidade. Após a filtração, as membranas serão depositadas em placas contendo meio de cultura ágar mEnterococcus, que serão incubadas em estufa bacteriológica 35 $\pm$ 2°C por 48h. Após a incubação, as colônias de coloração vermelho-marrom serão contadas. As densidades serão expressas em Unidades Formadoras de Colônias por 100mL (UFC/100mL).

Para realizar sua confirmação, foram escolhidas colônias de forma aleatória nas placas, e com o auxílio de uma alça de platina, a mesma foi inoculada em tubo contendo o meio Enterococcosel Caldo, e incubada em estufa bacteriológica a 37°C pelo período de 2-4h a 18-24h como recomenda o manual (Figura 8). Os tubos em que a cor dos meios de cultura ficou enegrecida foram considerados positivos para o gênero *Enterococcus*, obtendo assim sua confirmação.

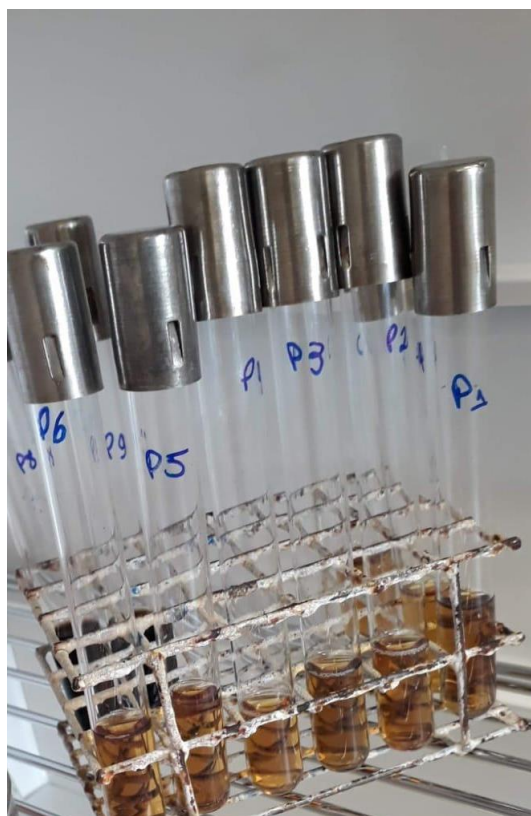


Figura 11: Teste confirmatório de *Enterococcus* spp em caldo nutritivo Enterococcosel. Fonte: Foto Geovanna Freitas.

Teste de sensibilidade

Para o teste de sensibilidade a antimicrobianos foi utilizado o método de antibiograma disco difusão proposto por Kirby-Bauer, recomendado pelo protocolo BrCAST, utilizando o Ágar Müller-Hinton.

Para bactérias do gênero *Enterococcus* foram utilizadas as seguintes classes e os seguintes nomes e concentrações de acordo com o fabricante, respectivamente; PENICILINAS (Ampicilina 10µg- AMP10); QUINOLONAS (Ciprofloxacina 5 µg- CIP05µg, Norfloxacina 10µg - NOR10 E Levofloxacina 5µg -LEV5); AMINOGLICOSÍDEOS (Gentamicina 10µg - GEN10); GLICOPEPTÍDEOS (Vancomicina 30µg - VAN30 e Teicoplanina 30µg -TEC30); CARBAPENÊMICOS (Imipenem 10µg – IPM10); ANFENICÓIS (Cloranfenicol 30µg- CLO30).

Para *E.coli* foram utilizadas oito classes de antibióticos, com diferentes representantes para cada classe, buscando abranger ao máximo os medicamentos. Sendo eles; AGENTES DIVERSOS I (Fosfomicina 200µg – FOS200); AMINOGLICOSÍDEOS (Amicacina 30µg – AMI30); CARBAPENÊMICOS (Imipenem 10µg – IPM10);

CEFALOSPORINAS II (Cefuroxima 30µg – CRX30); PENICILINAS (Amoxicilina 10µg – AMO10, Amoxicilina + Ácido Clavulânico 30µg – AMC30); QUINOLONAS (Ciprofloxacina 05µg – CIP05); SULFONAMIDAS (Sulfazotrim / Sulfametoxazol-Trimetoprima 25µg – SUT25) e TETRACICLINAS (Tetraciclina 30µg – TET30) (SOUZA, 2022; MELO et al., 2012; LABORCLIN, 2019).

As colônias foram ressuspensas em solução salina 0,6 % até atingir a turvação 0,5 da escala de Mac Farland e inoculadas com *Swab* estéril em Ágar Müller-Hinton. Após 10 minutos, os discos de antimicrobianos foram distribuídos de forma equidistante sobre a superfície da placa e passado o período de incubação em estufa bacteriológica a 35°C durante o período de 18 horas.,

As placas foram analisadas quanto à presença ou ausência de halos de inibição, com a utilização de régua foram medidos e seguindo a tabela de pontos de corte BrCast. De acordo com os diâmetros encontrados, pôde-se estabelecer o grau de suscetibilidade das bactérias aos antimicrobianos testados, verificando se os organismos são sensíveis ou resistentes (Figura 9).



Figura 12: Placa do teste de sensibilidade *Enterococcus* com os seguintes antibióticos: Imipenem, Gentamicina, Norfloxacin, Levofloxacin, Cloranfenicol, Vancomicina, Ciprofloxacina, Ampicilina e Teicoplanina. Fonte: Foto Geovanna Freitas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fatores Abióticos

Durante as coletas, os dados físico-químicos como temperatura da água (Temp.C°), pH, oxigênio dissolvido (OD), salinidade e condutividade (Cond. (ms/cm)) foram medidos *in situ* para cada ponto. De acordo com as tabelas obtidas (Tabela 1 e 2) das respectivas estações, verão e inverno, pôde-se perceber a influência da sazonalidade para os fatores abióticos encontrados (MELO, 2015).

Para a coleta realizada no mês de março, ainda no verão, as temperaturas da água se mostraram mais elevadas, indo de 26°C a 29°C, enquanto que no inverno, representado no mês de julho, variaram de 20°C a 21°C. O pH para ambas as estações estava dentro da neutralidade, na faixa de 7, com pouca variação.

Tabela 1: Fatores abióticos - março/2022 -Verão

Pontos	Temp. C°	pH.	OD. (mg/L)	OD. (%)	Salinidade	Cond. (ms/cm)
1- PORT.	28,26	7,06	4,84	72,7	25,96	40,83
2- SV.JAPUÍ	28,86	7,09	4,86	73,2	25,62	40,26
3-SV.DIR	28,85	7,07	4,41	66,3	26,52	41,53
4-SV.ESQ	28,84	6,94	4,45	66,6	27,42	42,82
5-SV.DECK	28,93	7,22	4,25	70,1	28,8	44,87
6-SV.PIER	29,61	7,2	5,04	77	29,03	45,39
7-Sts.DECK	26,67	7,4	4,29	70	32,6	49,85
8-C.4.1	29,58	7,49	4,81	63,3	1,78	3424
9- C.4.2	29,84	7,41	4,47	61,3	2,4	4551

Para a salinidade e condutividade, obteve-se resultados similares, nas duas coletas, com registros próximos a 30 de salinidade, classificando as águas desses pontos, de acordo com a Resolução CONAMA 274/00, como salobras, exceto para o ponto 7, classificado como salino, por apresentar salinidade superior a 30 em ambas as coletas. Pontos 8 e 9 seguem com

a salinidade mais baixa, entre 1 e 10, pois se tratam de uma saída de um canal de drenagem urbana com ligação ao estuário no porto de Santos.

Tabela 2: Fatores abióticos - julho/2022 - Inverno.

Pontos	Tem p. C°	pH.	OD. (mg/L)	OD . (%)	Salinidad e	Cond. (ms/cm)
1-PORT.	21,36	7,4	5,67	75,6	29,16	44,96
2-SV.JAPUÍ	21,56	7,71	6,45	85,1	29,29	45,16
3-SV.DIR.	20,86	7,78	5,74	79,5	25,04	39,21
4-SV.ESQ.	21,59	7,78	6,31	82,2	29	44,84
5-SV.DECK	21,44	7,8	5,87	78,6	29,51	45,55
6-SV.PIER	21,39	7,91	6,03	81	29,9	4600
7-Sts.DECK	21,31	8,06	6,55	89,8	33	50,24
8-C.4.1	21,33	7,58	4,3	54,3	10,34	1750
9-C.4.2	21,55	7,65	5,05	62,7	4,61	8273

O oxigênio dissolvido apresenta-se ligeiramente maior no mês de julho devido à uma temperatura menor e às chuvas que ocorreram nos dias anteriores à coleta, que de acordo com o site da Prefeitura de Santos, não ocorreu chuvas nos cinco dias que antecederam a coleta em março, e em julho tivemos o equivalente a 14.20 mm até o momento da coleta, conforme tabela 3.

Tabela 3: Índice pluviométrico nos cinco dias que antecederam as coletas de março e julho

Março	Julho
0.4 mm	14.20 mm

Fonte: Prefeitura de Santos, 2022.

Essa diferença nas chuvas faz com que em julho, ocorra maior oxigenação devido ao maior volume de água. Segundo Souza (2022), a maior presença de chuvas nos indica um

maior aporte de carga de efluentes e de lixiviados das áreas urbanas, o que acarreta maior contaminação nas proximidades.

Densidades Microbiológicas

A legislação brasileira não indica um limite ou número máximo para bactérias de origem fecal em águas destinadas à pesca (MELO, 2015; PAIVA, 2016), entretanto, pôde-se observar que nos pontos de coleta, suas densidades estavam acima do permitido para águas balneares, o que evidencia uma quantidade significativa de descarte de efluentes de origem fecal.

As densidades apontadas pelas figuras 10 e 11, apontam que no verão, apenas os pontos 5 (SV. DECK) e 6 (SV.PIER), as densidades estavam dentro do limite estabelecido pela Resolução CONAMA 274/00 para águas balneares, enquanto os demais, apresentam uma densidade bacteriana acima do limite estabelecido.

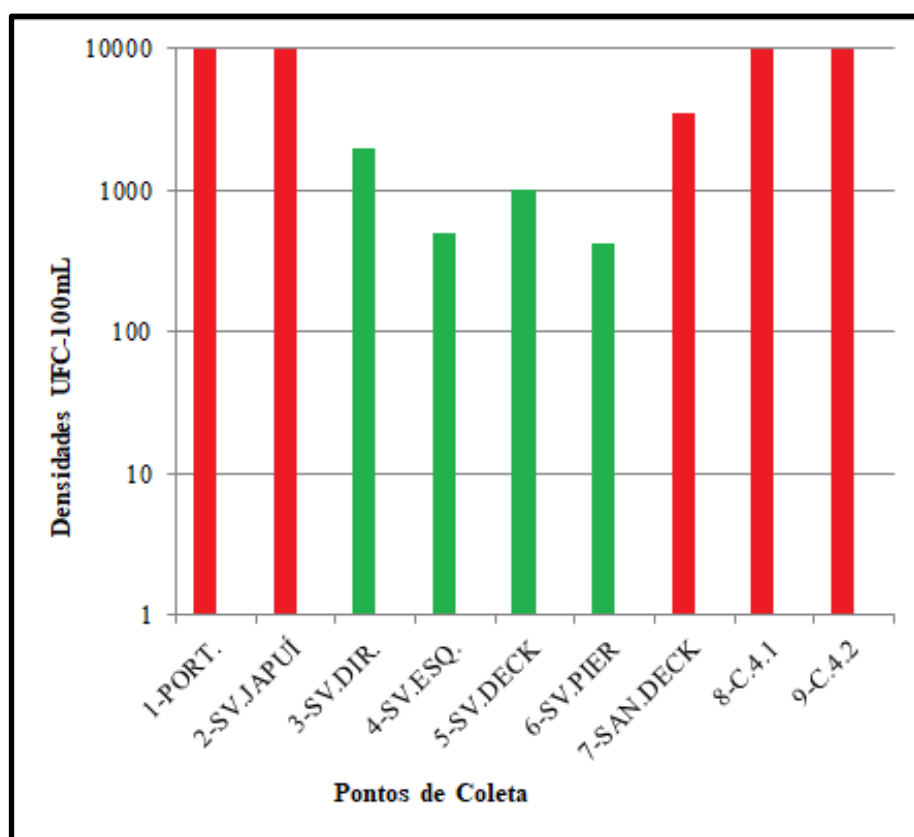


Figura 13:Densidade média de bactérias *E. coli* no mês de março em gráfico de barras representado em números logarítmicos. Números representados por 10.000 são meramente ilustrativos, devido ao fato de que estes valores nos respectivos pontos de coleta possuem alta concentração de colônias nas placas, impossibilitando a sua contagem. Em vermelho temos altas densidades encontradas (impróprias) e em verde, densidades dentro do indicado pelo CONAMA para águas balneares, ou seja, uma densidade aceitável (própria).

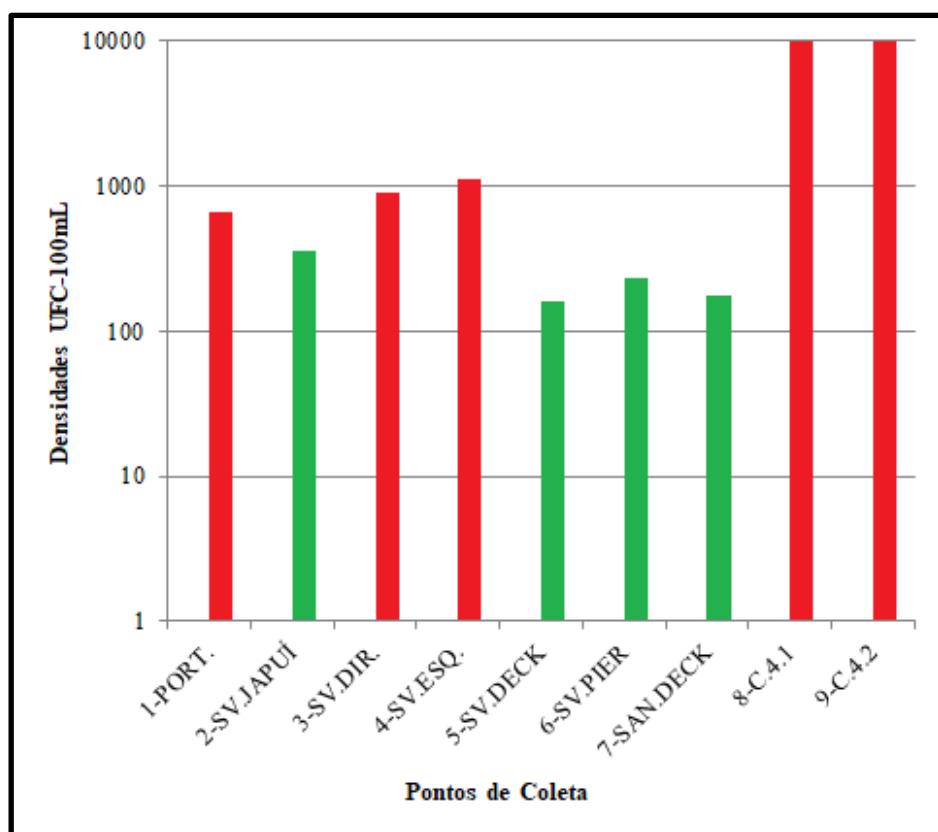


Figura 14: Densidade média de bactérias *Enterococcus* no mês de março em gráfico de barras representado em números logarítmicos. Números representados por 10.000 são meramente ilustrativos, devido ao fato de que estes valores nos respectivos pontos de coleta possuem alta concentração de colônias nas placas, impossibilitando a sua contagem. Em vermelho temos altas densidades encontradas (impróprias) e em verde, densidades dentro do indicado pelo CONAMA para águas balneares, ou seja, uma densidade aceitável (própria).

Nas densidades de julho (inverno), observou-se uma densidade maior de *E. coli* (Figura 12) e *Enterococcus* (Figura 13), sendo que, em todos os pontos coletados, a densidade para *Enterococcus* estava maior do que o limite estabelecido.

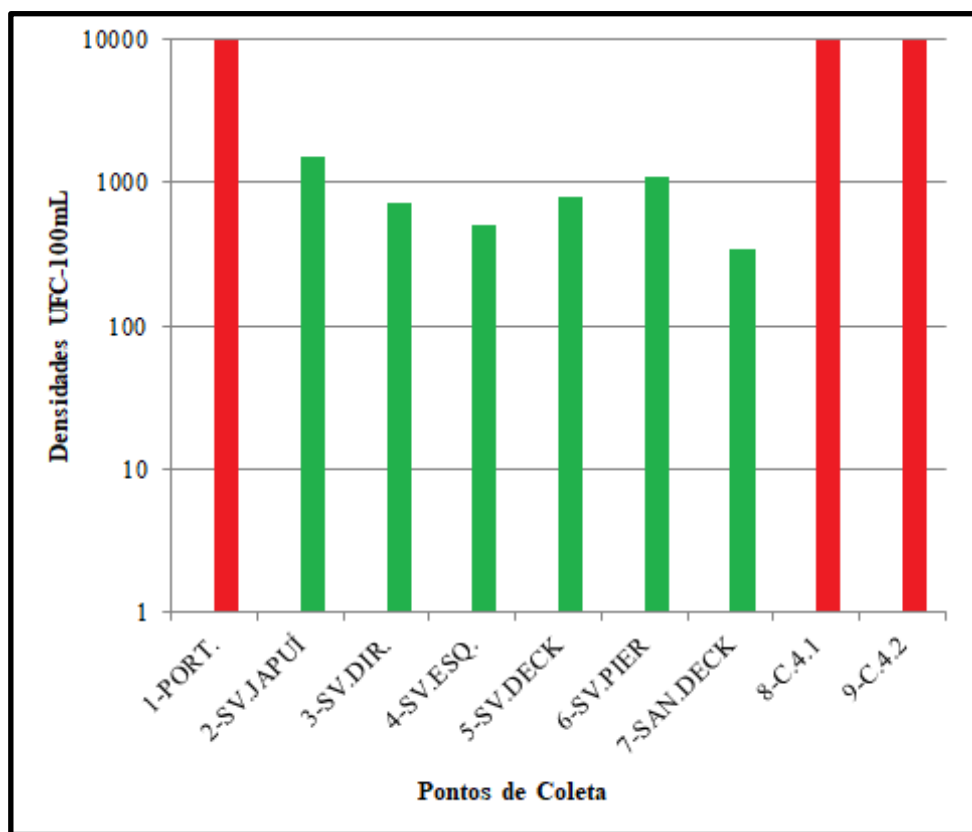


Figura 15: Densidade média de bactérias *E. coli* no mês de julho em gráfico de barras representado em números logarítmicos. Números representados por 10.000 são meramente ilustrativos, devido ao fato de que estes valores nos respectivos pontos de coleta possuem alta concentração de colônias nas placas, impossibilitando a sua contagem. Em vermelho temos altas densidades encontradas (impróprias) e em verde, densidades dentro do indicado pelo CONAMA para águas balneares, ou seja, uma densidade aceitável (própria).

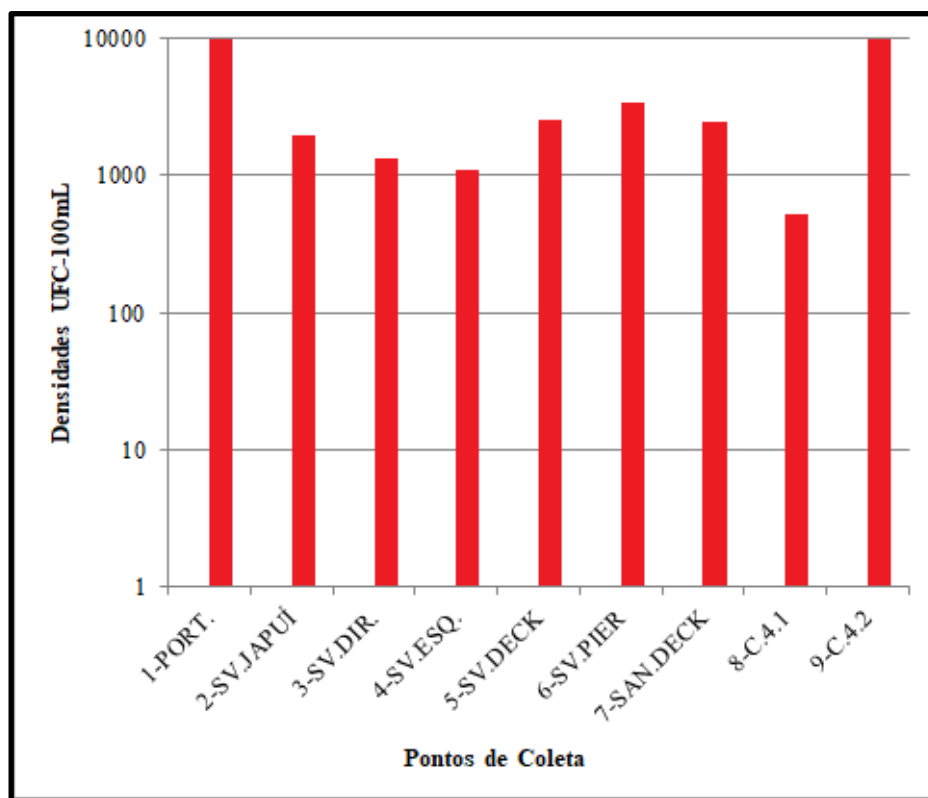


Figura 16: Densidade média de bactérias *Enterococcus* no mês de julho em gráfico de barras representado em números logarítmicos. Números representados por 10.000 são meramente ilustrativos, devido ao fato de que estes valores nos respectivos pontos de coleta possuem alta concentração de colônias nas placas, impossibilitando a sua contagem. Em vermelho temos altas densidades bacterianas encontradas (impróprias).

Esse resultado pode ser explicado pelos dados pluviométricos do mês de julho, a precipitação de julho foi superior à de março, nos cinco dias anteriores à coleta (Prefeitura Municipal de Santos), e a presença das chuvas faz com que esgotos, lixos e outros contaminantes sejam lixiviados para as praias através de galerias, córregos e canais de drenagem, aumento consideravelmente a densidade bacteriana (Figura 14) (DA SILVA et al., 2008; SOUZA, 2022).



Figura 17: Duto de descarte de efluentes em ponto de pesca (ponto 2) na região de São Vicente. Fonte: Foto Geovanna Freitas.

Nota-se que os pontos 1, 8 e 9 se apresentam sempre impróprios em relação à sua balneabilidade. O ponto 1 (POR), no portinho em Praia Grande é um local bastante utilizado para pescas esportivas (Figura 15), e apesar de, como visto anteriormente, se tratar de um local com facilidade de dispersar seus poluentes na água, por ser uma região aberta (ABESSA, 2012) é possível identificar diversas fontes de eutrofização, devido ao sistema estuarino de Santos e São Vicente, o que aumenta, inevitavelmente, a quantidade de microrganismos presentes.



Figura 18: Infográfico com informações inerentes à pesca encontrados no Portinho- PG. Fonte: Foto Geovanna Freitas.

Os pontos 8 (C.4.1) e 9 (C.4.2), estão localizados ao final do Canal 4, no município de Santos, portanto sofrem a influência dos canais de maré (ABESSA, 2012). Estudos anteriores, evidenciam que as águas dos canais de Santos, especialmente no Canal 4, estão sempre com quantidades de microrganismos muito acima do estabelecido pela Resolução Conama, por também apresentarem diferentes fontes poluidoras, como o emissário submarino, responsável pelo despejo de um grande volume de efluentes domésticos, efluentes hospitalares, e até mesmo ligações clandestinas (MASSONETTO, 2020).

Além disso, não podemos deixar de citar os lixiviados urbanos trazidos para esses pontos após a ocorrência de chuvas, o que também contribui para o significativo aumento da densidade de microrganismos encontrados nesses locais.

Mesmo sem uma legislação específica para o limite de bactérias de origem fecal que podem ser encontradas em organismos aquáticos utilizados para o consumo humano, como os peixes, ostras, mariscos, para garantir uma segurança alimentar (MELO, 2015), alguns estudos apontam a presença desses microrganismos, quando presentes na água devido à contaminação por efluentes de diversas origens (BILA e DEZOTTI, 2003), pois acarreta na contaminação de organismos aquáticos, já que o meio em que estes estão inseridos, impactam na sua fisiologia (MELO, 2015). Também se mostram como possíveis reservatórios para cepas resistentes a diversos antibióticos testados, já que tanto a água do mar, quanto órgãos de animais marinhos podem abrigar bactérias resistentes e virulentas (PEREIRA *et al.*, 2019).

A presença de uma alta densidade bacteriana nos pontos de estudo, utilizados para a pesca de subsistência, onde quase todos se apresentaram como impróprios para fins de balneabilidade, segundo a Legislação CONAMA 274 DE 2000 (Figura 16) nos traz um alerta à saúde pública, já que bactérias de origem fecal, como *E. coli* e *Enterococcus* estão associadas desde doenças gastrointestinais à infecções, que variam no nível de gravidade, dependendo de alguns fatores, como o tipo de estirpes patogênicas, a susceptibilidade e o grau de exposição do paciente (MELO, 2015). Portanto, os peixes retirados para fins de alimentação de locais contaminados também devem ser monitorados, já que podem ser reservatórios de microrganismos patogênicos, que ao serem consumidos, geram danos à saúde humana (MELO, 2015).



Figura 19: Produto de pesca no ponto 4, no deck dos pescadores em São Vicente, que posteriormente, viria a ser consumido pelo pescador. Fonte: Foto Geovanna Freitas.

Resistência a Antibióticos – Teste de Sensibilidade

Pode se observar que no verão as análises de resistência a antibióticos realizadas com *E. coli*, apenas os antibióticos Fosfomicina (FOS.) e Imipenem (IPM.) não foram observadas cepas bacterianas resistentes em nenhum dos pontos analisados (Tabela 4), indicando alta eficiência deste antibiótico (SOUZA, 2022). Os demais apresentaram resistência em alguns dos pontos, sendo que para Tetraciclina (TET.) e Sulfazotrim (SUT.) tivemos resistência apontada em todos os 9 pontos coletados, indicando a possível ineficiência daqueles antibióticos.

Tabela 4: Valores dos halos de resistências com indicação de resistente (vermelho) ou sensível (verde) - *E.coli* - dados referentes a março/2022, em milímetros (mm).

ATB	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
FOS.	31	21	23	26	24	25	23	24	32
AMC.	20	0	21	18	8	19	0	16	14
IPM.	26	22	25	27	21	20	21	23	24
TET	8	17	17	16	8	16	0	0	14
AMO.	0	0	16	0	0	15	0	0	0
CRX.	19	20	19	19	16	16	0	17	15
CIP.	20	29	30	23	0	0	0	0	18
AMI.	19	21	16	17	15	16	0	0	14
SUT.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Estudos anteriores detectaram cepas resistentes à Tetraciclina, e uma alta resistência à Sulfazotrim em ambiente aquático (ANDRADE et al., 2015; SOUZA, 2022).

Para *Enterococcus*, pôde-se observar maior sensibilidade aos antibióticos testados (Tabela 5). Mas ainda assim, tivemos cepas resistentes à Gentamicina (GEN.), Norfloxacin (NOR), Levofloxacin (LEV.), Cloranfenicol (CLO.) e Vancomicina (VAN.).

Tabela 5: Valores dos halos de resistências com indicação de resistente (vermelho) ou sensível (verde) - *Enterococcus* - dados de março/2022 em milímetros (mm)

ATB	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
IPM.	36	23	30	35	27	26	25	25	23
GEN.	21	14	19	22	17	16	15	11	0
NOR.	26	22	28	36	15	13	15	19	0
LEV.	33	21	32	23	16	12	16	16	0
CLO.	34	28	28	36	31	0	30	23	22
VAN.	0	21	0	0	0	0	0	22	20
CIP.	40	29	35	41	25	17	24	25	16
AMP.	26	25	19	23	21	19	21	18	19
TEC.	20	18	18	22	18	17	17	18	18

No que se refere à resistência, tanto para *E. coli* (Tabela 6) quanto para *Enterococcus* (Tabela 7), pôde-se observar a presença de resistência em diferentes pontos e para diferentes antibióticos.

Para *E. coli*, foi possível observar maior resistência, já que em 8 dos 9 pontos, tivemos cepas resistentes a Fosfomicina (FOS), Amicacina (AMI), Tetraciclina (TET.), Amoxicilina (AMO.), Amoxicilina + Ácido Clavulânico (AMC.), Cefuroxima (CRX.), Ciprofloxacina (CIP.) e Sulfazotrim (SUT.). Apenas para 1 antibiótico não foi encontrado resistência (Imipenem-IPM.).

Tabela 6: Valores dos halos de resistências com indicação de resistente (vermelho) ou sensível (verde) - *E.coli* - dados referentes a julho/2022 em milímetros (mm).

ATB	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
FOS.	23	27	29	31	28	24	19	25	24
AMC.	19	18	18	17	19	16	23	22	23
IPM.	22	26	26	25	27	24	28	23	24
TET	16	0	0	0	18	0	18	16	17
AMO.	13	0	0	0	0	0	0	15	16
CRX.	17	17	18	17	0	18	23	18	19
CIP.	20	27	19	19	0	19	28	31	26
AMI.	15	15	16	18	12	17	19	16	16
SUT.	0	0	0	0	14	0	16	0	0

Tabela 7: Valores dos halos de resistências com indicação de resistente (vermelho) ou sensível (verde) - *Enterococcus*- julho/2022 em milímetros (mm).

ATB	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
IPM.	44	16	24	25	16	26	22	21	18
GEN.	21	11	0	0	11	19	19	0	0
NOR.	19	24	20	22	18	24	26	19	20
LEV.	29	20	21	19	22	25	27	13	24
CLO.	30	30	12	28	30	34	29	24	28
VAN.	18	22	17	22	23	21	22	19	19
CIP.	28	26	22	26	23	27	28	20	24
AMP.	43	25	20	28	24	31	32	29	29
TEC.	21	14	19	21	20	21	21	18	19

Para *Enterococcus*, observou-se menos pontos contendo resistência. Ainda assim, tivemos pontos com cepas resistentes a IPM., GEN., LEV., CLO., e TEC.

Apesar de menos comum no presente estudo, a presença de cepas resistentes aos antibióticos pertencentes à classe dos Carbapenêmicos já havia sido detectada em águas marinhas, como no estudo apresentado por ANDRADE (2020).

Os Carbapenêmicos são antibióticos que apresentam potente ação contra as bactérias Gram-negativas, como o caso de *Enterobacteriales*, e é uma classe que, quando comparada à outras, é mais recente e apresenta grande potencial para tratar de bactérias multirresistentes (ANDRADE, 2020), por isso se faz de último recurso para tratá-las. A resistência encontrada para este tipo de antibiótico, é de extrema importância e preocupação, vendo-se que sua disseminação poderia causar grandes problemas na saúde pública.

Sabe-se que por apresentarem uma liberação contínua no ambiente, os antibióticos podem atuar como poluentes inorgânicos persistentes nos ambientes aquáticos, e podem ter direta influência sobre os microrganismos (ANDRADE *et al.*, 2015). Sua presença se torna um fator de grande preocupação na área da saúde, devido ao seu uso em diversos âmbitos (BILA e DEZOTTI, 2003).

As bactérias que apresentam resistência podem compartilhar esses plasmídeos para bactérias presentes no meio, tanto intraespecificamente quanto interespecificamente (OLIVEIRA, 2017), causando uma grande pressão seletiva onde bactérias autóctones sensíveis ao antibiótico são eliminadas enquanto as resistentes permanecem no ambiente, sendo então favorecidas pela diminuição da competição com as sensíveis, se tornando dominantes no ambiente, levando a uma grande disseminação da resistência a antibióticos e, conseqüentemente, colabora para o aumento paulatino da ineficiência de antibióticos no tratamento de infecções (ANDRADE *et al.*, 2015; OLIVEIRA, 2017).

O uso racional dos antibióticos é imprescindível para a melhora do quadro de sensibilidade bacteriana, visando diminuir os impactos adversos na esfera da saúde pública e preservação ambiental dos recursos hídricos.

CONCLUSÃO

A constante poluição dos corpos hídricos e dos oceanos faz com que diversos estudos estejam sendo realizados como forma de alertar essa problemática. As fontes poluentes são diversas, podendo ser através de carga difusa, carregada pela chuva, atividades relacionadas à criação de animais, atividades relacionadas aos portos, presentes nas áreas litorâneas, e fontes pontuais como os emissários, que diariamente lançam efluentes domésticos e hospitalares nos mares, apenas com o tratamento primário, que não é adequado para remover certos tipos de substâncias, como os antibióticos. A presença dessas substâncias no meio pode trazer fatores adversos, como a resistência bacteriana, que já é uma realidade, e cepas resistentes até mesmo à classe mais recente e mais potente de antibióticos, os Carbapenêmicos, já estão sendo encontradas, como visto nos resultados, e se não for revista de forma urgente, se tornará um problema ainda maior para a saúde pública global.

Observou-se grande densidade bacteriana tanto para a campanha do verão quanto para a campanha de inverno, indo contra os limites estabelecidos pela resolução Conama nº 278 de 2000. O aumento da densidade bacteriana de origem fecal, nos oceanos diminui a balneabilidade das águas, de forma que elas não sejam aptas para atividades como pesca e banho, vendo-se que o contato primário com essas águas, podem causar riscos à saúde humana, e à sua fauna associada, como no caso dos peixes, já que esses animais são capazes de armazenar bactérias patogênicas, como as de origem fecal humana *E. coli* e *Enterococcus*, em seus órgãos e tecidos, como visto em estudos anteriores.

Mesmo sendo impróprios, os 9 pontos analisados durante a pesquisa ainda são alvos da pesca de subsistência e esportiva que está presente na realidade de diversas famílias, principalmente naquelas que habitam zonas litorâneas.

Conclui-se portanto que medidas globais devem ser tomadas de modo a melhorar a qualidade das águas e garantir um tratamento mais adequado para efluentes que são lançados ao mar por meio de emissários. Deve-se implementar uma legislação referente aos pescados e seus limites quanto à presença de microrganismos possivelmente patogênicos, ainda mais quando estes são bioindicadores fecais. A legislação deve ser mais rígida, e eficaz, de modo a garantir a saúde e bem estar de todos, sem se esquecer daqueles que sobrevivem dos produtos originários da pesca.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABESSA. D., RACHID., B., MOSER.G., OLIVEIRA. A.J.F. Efeitos ambientais da disposição oceânica de esgotos por meio de emissários submarinos: uma revisão. O Mundo da Saúde, v.36, p.643-661, 2012.

BAPTISTA, Maria Galvão de Figueiredo Mendes et al. Mecanismos de resistência aos antibióticos. 2013. Dissertação de Mestrado.

BILA, Daniele Maia; DEZOTTI, Márcia. Fármacos no meio ambiente. Química nova, v. 26, p. 523-530, 2003.

CÍCERO, Laís Henrique et al. Contaminação das areias de praias do Brasil por agentes patológicos. Revista Ceciliana, n. 32, p. 42-52, 2011.

CLAUZET, Mariana; RAMIRES, Milena; BARRELLA, Walter. Pesca artesanal e conhecimento local de duas populações caiçaras (Enseada do Mar Virado e Barra do Una) no litoral de São Paulo, Brasil. Multiciência, v. 4, n. 1, p. 1-22, 2005.

DA SILVA, Viviane Correa *et al.* Contaminação por *Enterococcus* da água das praias do município de São Luís, Estado do Maranhão. Acta Scientiarum. Technology, v. 30, n. 2, p. 187-192, 2008

HORTELLANI, Marcos Antonio; SARKIS, Jorge E. S.; ABESSA, Denis M. S.; SOUSA, Eduinetty C. P. M.. Avaliação da contaminação por elementos metálicos dos sedimentos do Estuário Santos - São Vicente. Química Nova, [S.L.], v. 31, n. 1, p. 10-19, 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422008000100003>.

JOHN, U. V.; CARVALHO, J. *Enterococcus*: Review of its physiology, pathogenesis, diseases and the challenges it poses for clinical microbiology. Frontiers in Biology, v. 6, n. 5, p. 357–366, 2011.

LACAVA, Luciano Antonio *et al.* Classificação de balneabilidade de praia através de dois indicadores de contaminação fecal (*Escherichia coli* e *Enterococos*) e utilização de perfis resistência antimicrobiana e RFLP-PCR para identificar fontes de contaminação fecal. 2005.

MACÊDO, J. A. B. Águas e águas. São Paulo: Varela, 2001.

MELO, Renata Rodrigues de. Análise da qualidade microbiológica do peixe (*Eugerres brasiliensis*, Curvier 1830) e das águas do Estuário do Rio Itanhaém, SP, Brasil. 2015.

NOVOTNY, L. *et al.* Fish: a potential source of bacterial pathogens for human beings. *Veterinari Medicina*, v. 49, n. 9, p. 343, 2004.

OLIVEIRA, Raphaela Sanches de. Densidade e diversidade de fenótipos de resistência a antimicrobianos de *Enterococcus* sp, *Escherichia coli* e *Aeromonas* sp isoladas de água, sedimento e mexilhão coletados em Santos e Itanhaém, São Paulo, Brasil. 2017.

PAIVA, Thaís Vieira et al. Avaliação das condições microbiológicas da água e de peixes do Rio Mearim, no município de Bacabal-MA. 2016.

PENA, Paulo Gilvane Lopes; GOMEZ, Carlos Minayo. Health of subsistence fishermen and challenges for Occupational Health Surveillance. *Ciência & Saúde Coletiva*, [S.L.], v. 19, n. 12, p. 4689-4698, dez. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1413-812320141912.13162014>.

PEREIRA, Ingrid Cristine Guimarães et al. Ambiente marinho e resistência bacteriana aos antimicrobianos: impacto à saúde humana. *Acta Scientiae et Technicae*, v. 7, n. 2, p. 65-80, 2020.

PINTO, Aline Bartelochi; DE OLIVEIRA, Ana Julia Fernandes Cardoso. Diversidade de microrganismos indicadores utilizados na avaliação da contaminação fecal de areias de praias recreacionais marinhas: estado atual do conhecimento e perspectivas. *O Mundo da Saúde*, v. 35, n. 1, p. 105-114, 2011.

SANTOS LIDERA RANKING DE SANEAMENTO ENTRE OS 100 MAIORES MUNICÍPIOS BRASILEIROS. Publicação: 22 de março de 2022. Prefeitura Municipal de Santos. Disponível em : <https://www.santos.sp.gov.br/?q=noticia/santos-lidera-ranking-de-saneamento-entre-os-100-maiores-municipios-brasileiros>. Acesso em: 02/01/2023.

SOUTO, Juliane Pena *et al.* Poluição fecal da água: microorganismos indicadores. In: VI Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental. 2015.

TORTORA, GJ, Funke BR, Case CL. Microbiologia. 12^a ed. Porto Alegre: Artmed; 2017.

LUPRANO. M. L., SANCTIS. M., DEL MORO. G., DI IACONI. C., LOPEZ. A., LEVANTESI. C. Antibiotic resistance genes fate and removal by a technological treatment solution for water reuse in agriculture. Science of Total Environment, v. 571, p.809-818, 2016.

VIEIRA, Regine Helena Silva dos Fernandes. Poluição microbiológica de algumas praias brasileiras. 2000.

YOUNG, Andrea Ferraz; FUSCO, Wilson. Espaços de Vulnerabilidade Socioambiental para a população da Baixada Santista: Identificação e análise das áreas críticas. XV Encontro Nacional de Estudos Populacionais, 2006.

ANEXOS

ANEXO I : Tabela - Densidade de *E.coli* e *Enterococcus* - Mar./2022 -Verão

Pontos	<i>E.coli.</i> (UFC/100ml)	<i>Enterococcus</i> (UFC/100ml)
PORT.	10000	666
SV.JAPUÍ	10000	351
SV.DIR.	1950	886
SV.ESQ.	497	1126
SV.DECK	994	162
SV.PIER	416	233
SAN.DECK	3550	177
C.4.1	10000	10000
C.4.2	10000	10000

ANEXO 2 - Tabela - Densidade de *E.coli* e *Enterococcus* - Jul./2022 - Inverno.

Pontos	<i>E.coli.</i> (UFC/100ml)	<i>Enterococcus</i> (UFC/100 ml)
PORT.	10000	10000
SV.JAPUÍ	1540	1950
SV.DIR.	725	1345
SV.ESQ.	505	1100
SV.DECK	810	2570
SV.PIER	1095	3365
SAN.DECK	345	2495
C.4.1	10000	520
C.4.2	10000	10000

PARECER FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Discente: GEOVANNA SILVA DE FREITAS

Título: "Avaliação da resistência bacteriana em áreas de atividades de pesca de subsistência e esportiva."

Orientador: Profa. Dra. Ana Julia Fernandes

Curso/Habilitação: Bacharelado em Ciências Biológicas/Biologia Marinha

COMISSÃO EXAMINADORA	CONCEITO
Profa. Dra. Ana Julia Fernandes	Aprovada
MSC. Roberta Alves Merguizo Chinellato	Aprovada
MSC. José Augusto de Souza	Aprovada

PARECER:

CONCEITO FINAL:

A Comissão Examinadora abaixo assinada conclui que a discente **Geovanna Silva de Freitas** obteve o seguinte conceito:

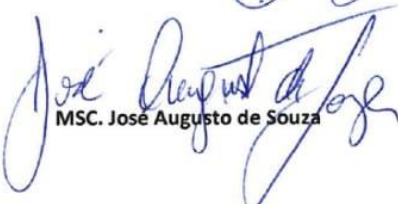
☒ APROVADO

☐ REPROVADO

São Vicente, 30 de janeiro de 2023.


Profa. Dra. Ana Julia Fernandes


MSC. Roberta Alves Merguizo Chinellato


MSC. Jose Augusto de Souza