

**AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA BACTERIANA EM *Enterococcus* PRESENTES
EM PRAIAS DO MUNICÍPIO DE SÃO VICENTE (SP) PÓS-PANDEMIA DE
COVID-19**

Caio Henrique de Oliveira Leite

Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Julia Fernandes
Coorientadora: Dr^a Roberta Alves Merguizo Chinellato

**AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA BACTERIANA EM *ENTEROCOCCUS*
PRESENTES EM PRAIAS DO MUNICÍPIO DE SÃO VICENTE (SP) PÓS-
PANDEMIA DE COVID-19**

Caio Henrique de Oliveira Leite

Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Julia Fernandes
Coorientadora: Dr^a Roberta Alves Merguizo Chinellato

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 – SP
2024

L533a

Leite, Caio Henrique de Oliveira

Avaliação da resistência bacteriana em *Enterococcus* presentes em praias do município de São Vicente (SP) pós pandemia de COVID-19 / Caio Henrique de Oliveira Leite. -- São Vicente, 2024

40 p.: tabs., fotos, mapas

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

Orientadora: Ana Julia Fernandes

Coorientadora: Roberta Alves Merguizo Chinelado

1. *Enterococcus*. 2. Resistência. 3. COVID-19. 4. Antibióticos. 5. São Vicente

Agradecimentos

Gostaria de agradecer, primeiramente, a minha família que sempre fez de tudo para que eu pudesse realizar meus sonhos, sem o apoio deles eu não seria quem sou hoje e jamais estaria conquistando uma das minhas realizações. Mãe, pai, Cássia, vó e Má, meu amor e gratidão por vocês é infinito, sou muito sortudo por ter vocês ao meu lado.

Meus sinceros agradecimentos a toda equipe do MICROMAR, que me auxiliaram durante toda minha trajetória, em especial a Prof^a Dr^a Ana Julia Fernandes e a Dr^a Roberta Alves Merguizo Chinellato, as quais me acolheram e me deram a oportunidade de fazer ciência com minhas próprias mãos e me encontrar na área da microbiologia. Muito obrigado por essa experiência única, sou muito grato por trabalhar ao lado de vocês e fazer parte desse laboratório. Também aproveito para agradecer a UNESP e CNPq pelo apoio financeiro e por acreditar no meu potencial e no trabalho.

Não há como deixar de agradecer os meus amigos Julia, Ana, Laura, Pietra, Manu, Gaby, Kassi e Minato. Foram muitos momentos, tanto bons quanto ruins, e sempre tive o apoio de vocês, toda essa jornada foi tão difícil, mas com vocês ao meu lado eu consegui chegar até aqui e conquistar um sonho. Olhando agora, tudo passou tão rápido, mas não tem como esquecer cada momento, cada detalhe dos últimos anos, já quis desistir, porém, ter vocês comigo me deu forças para erguer minha cabeça e continuar. Mudar de cidade e estar longe de tudo que conhecia foi algo extremamente difícil, mas eu cresci e me tornei uma pessoa melhor. Ainda, gostaria de fazer um agradecimento especial para minha segunda família, minhas amigas Luara, Pietra e Manu, a faculdade nos colocou na vida uns dos outros e, sinceramente, ter vocês comigo fez toda a diferença.

Quando se tem pessoas que você ama, por mais desafiador que seja, tudo é possível, vou levar todos no meu coração para sempre, obrigado pelo suporte, amor e carinho.

Resumo

A pandemia de COVID-19 trouxe inúmeras complicações, dentre elas o uso desenfreado de antibióticos, ainda que a eficácia de tais drogas não fosse comprovada contra o vírus Sars-CoV2. O uso inadequado de antimicrobianos pode potencializar seleção e dispersão de bactérias resistentes a antibióticos, visando mecanismos como a transferência de plasmídeos para adquirir resistência. *Enterococcus* são bactérias de extrema importância para saúde humana, são consideradas indicadores de qualidade de água, apontando contaminação fecal, seguindo a Resolução CONAMA 274/00. No litoral paulista, a CETESB realiza o monitoramento da balneabilidade de praias, utilizando a densidade de *Enterococcus* como um dos indicadores. Visando compreender se houve progressão de resistência bacteriana devido a pandemia de COVID-19 e analisar a densidade de tais bactérias presentes nas praias do município de São Vicente (SP), foram realizadas 5 coletas, 2 pontos na praia de Gonzaguinha e 2 na praia de Itararé, coletando água, sedimento seco e úmido. As amostras foram levadas ao laboratório, processadas e então obteve-se o resultado que em todos os pontos de coleta, a densidade de *Enterococcus* foi elevada, classificando-os como impróprios. Ainda, a resistência foi medida e classificada como elevada, principalmente aos antimicrobianos Estreptomicina e Azitromicina, podendo observar que houve uma progressão da resistência quando comparado a estudos anteriores, principalmente nos grupos de aminoglicosídeos, glicopeptídeos, macrolídeos e agentes diversos, indicando o impacto do período pandêmico sobre a resistência antimicrobiana.

Palavras chave: Antibióticos; Resistência; *Enterococcus*; COVID-19

Abstract

The COVID-19 pandemic brought numerous complications, among them the widespread use of antibiotics, even though the efficacy of such drugs was not proven against the Sars-CoV-2 virus. The inappropriate use of antimicrobials can enhance the selection and spread of antibiotic-resistant bacteria, involving mechanisms like plasmid transfer to acquire resistance. *Enterococcus* are bacteria of extreme importance for human health and are considered indicators of water quality, signaling fecal contamination, as per CONAMA Resolution 274/00. On São Paulo's coast, CETESB monitors the bathing water quality of beaches, using *Enterococcus* density as one of the indicators. Aiming to understand whether there was an increase in bacterial resistance due to the COVID-19 pandemic and to analyze the density of these bacteria present on the beaches of São Vicente (SP), five sampling collections were carried out. Two points were sampled at Gonzaguinha Beach and two at Itararé Beach, collecting water, dry sediment, and wet sediment. The samples were taken to the laboratory, processed, and the results showed that at all sampling points, *Enterococcus* density was high, classifying the areas as unsuitable. Furthermore, resistance was measured and found to be high, especially to the antimicrobials Streptomycin and Azithromycin, revealing that there was an increase in resistance compared to previous studies, particularly in the groups of aminoglycosides, glycopeptides, macrolides, and various agents, indicating the impact of the pandemic period on antimicrobial resistance.

Key words: Antibiotics; Resistance; *Enterococcus*; COVID-19.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Praia de Gonzaguinha no município de São Vicente (SP) (Google Earth, 2024).	15
Figura 2: Praia de Itararé no município de São Vicente (SP) (Google Earth 2024).....	16
Figura 3: Imagem da área de coleta, ilustrando os pontos coleta nas praias de Gonzaguinha e Itararé (Google Earth, 2024).....	17
Figura 4: Kit de filtração utilizado para realizar a técnica de membrana filtrante.	18
Figura 5: Placa de ágar m-Enterococcus com crescimento das colônias de Enterococcus sp.....	19
Figura 6: Tubos com caldo Enteroccosel mostrando reação positiva (enegrecimento do meio) para Entecoccus sp.	19
Figura 7: Valores limites de Enterococcus em 100ml de água, nas praias. Fonte: Adaptado de CONAMA 274 de 2000.	23
Figura 8: Gráfico representando o volume de bactérias Enterococcus nas amostras de água, sedimento seco e úmido nas 5 coletas para os pontos de Gonzaguinha 1 e 2, indicando maiores valores para as amostras de sedimento.....	24
Figura 9: Gráfico representando o volume de bactérias Enterococcus nas amostras de água, sedimento seco e úmido nas 5 coletas pra os pontos de Ilha Porchat 1 e 2, indicando maiores valores para as amostras de sedimento, com exceção da Coleta 1 para I1 e I2 e Coleta 4 para I2, possivelmente devido ao tempo de sedimentação das bactérias.	24
Figura 10: Resultado de amostras do primeiro antibiograma realizado, demonstrando a resistência aos antibióticos testados. 1 – Sedimento úmido de Itararé 2, apresentando resistência a azitromicina. 2 – Sedimento seco de Gonzaguinha 1, apontando resistência a todo todos os antimicrobianos testados. 3 – Sedimento seco de Itararé 2, com resistência a estreptomicina 4 – Água de Itararé 2, apresentando pouca suscetibilidade a azitromicina e estreptomicina.....	27
Figura 11: Segundo antibiograma realizado, exemplificado por amostras de água e sedimento úmido de Gonzaguinha 1. 1 – Água de Gonzaguinha 1, apresentando resistência a estreptomicina e azitromicina. 2 – Sedimento úmido de Gonzaguinha 1, destacando resistência também a azitromicina e etreptomicina	28
Figura 12: Resultado de diferentes amostras do terceiro antibiograma realizado. 1 – Água de Itararé 2, com resistência a azitromicina e vancomicina. 2 – Sedimento seco de Gonzaguinha 1, apresentando resistência a estreptomicina e azitromicina. 3 – Sedimento úmido de Gonzaguinha 1, demonstrando pouca suscetibilidade a azitromicina, vancomicina e ampicilina. 4 – Sedimento úmido de Gonzaguinha 2, apontando resistência a gentamicina, azitromicina e etreptomicina	29
Figura 13: Quarto antibiograma realizado. 1 – Sedimento úmido de Itararé 2, com resistência a estreptomicina, azitromicina e nitrofurantoína. 2 – Sedimento seco de Itararé 1, apresentando resistência a, também, estreptomicina, azitromicina e nitrofurantoína. 3 – Água de Itararé 2, com resistência a estreptomicina e azitromicina. 4 – Água de Gonzaguinha 2, com pouca suscetibilidade a imipinem, estreptomicina, azitromicina e ciprofloxacina	31
Figura 14: Resultado do quinto antibiograma realizado. 1 – Sedimento úmido de Itararé 2, apontando resistência a imipinem, estreptomicina, azitromicina, vancomicina, ampicilina, amoxicilina + ácido clavulânico, gentamicina e nitrofurantoína. 2 – Sedimento úmido de gonzaguinha 2, apresentando resistência a imipinem,	

estreptomicina, azitromicina, vancomicina, ampicilina, amoxicilina + ácido clavulânico e nitrofurantoína. 3 – Água de Itararé 1, demonstrando pouca suscetibilidade a estreptomicina, azitromicina, vancomicina, ampicilina e nitrofurantoína. 4 – Sedimento seco de Gonzaguinha 1, apresentando resistência a imipinem, estreptomicina, azitromicina, vancomicina, ampicilina, amoxicilina + ácido clavulânico e nitrofurantoína 32

Figura 15: Frequência de resistência aos antimicrobianos encontrada em todas as coletas, demonstrando a menor suscetibilidade a estreptomicina e azitromicina, com 51 e 50 cepas resistentes, respectivamente. IPM – imipinem, EST – estreptomicina, AZI – azitromicina, VAN – vancomicina, CIP – ciprofloxacina, AMP – ampicilina, AMC – amoxicilina + ácido clavulânico, GEN – gentamicina e NIT – nitrofurantoína 33

Figura 16: Comparação da progressão da resistência antimicrobiana em relação ao trabalho de Oliveira e Pinhata (2008) e o presente estudo, demonstrando o aumento da resistência em todos os grupos testados. 34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Fatores abióticos, Temperatura (T °C), pH, Oxigênio Dissolvido (OD m/l) e Salinidade (Sal), mensurados durante as coletas de dezembro 2023, janeiro 2024, fevereiro 2024, julho de 2024 e agosto de 2024.....	21
Tabela 2: Densidade de <i>Enterococcus</i> spp na praia de Gonzaguinha, nos meses dezembro de 2023, janeiro, fevereiro, julho e agosto de 2024.....	23
Tabela 3: Densidade de <i>Enterococcus</i> spp para as praias da Ilha Porchat, nos Pontos I1 e I2, nos meses dezembro de 2023, janeiro, fevereiro, julho e agosto de 2024.	24
Tabela 4: Pontos de corte acerca do halo inibitório no método de Kirby-Bauer, para os antibióticos imipenem (IPM), estreptomicina (EST), azitromicina (AZI), vancomicina (VAN), ciprofloxacina (CIP), ampicilina (AMP), amoxicilina + ácido clavulânico (AMC), gentamicina (GEN) e nitrofurantoina (NIT). Fonte: BrCAST, 2023; Cardenas 2020.	26
Tabela 5: Resultado do antibiograma para a coleta 1 em diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem, onde Verde – Sensível e Vermelho – Resistente. H ₂ O – Amotras de Água, UMD – Amostras de Sedimento Úmido, SECA – Amostras de Sedimento Seco. I1 -Ilha Porchat 1, I2 – Ilha Porchat 2, G1 – Gonzaguinha 1, G2 – Gonzaguinha 2.....	27
Tabela 6: Resultado do antibiograma para a coleta 2 em diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem, onde Verde – Sensível e Vermelho – Resistente. H ₂ O – Amotras de Água, UMD – Amostras de Sedimento Úmido, SECA – Amostras de Sedimento Seco. I1 -Ilha Porchat 1, I2 – Ilha Porchat 2, G1 – Gonzaguinha 1, G2 – Gonzaguinha 2.....	28
Tabela 7: Resultado do antibiograma para coleta 3 em diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem, onde Verde – Sensível e Vermelho – Resistente. H ₂ O – Amotras de Água, UMD – Amostras de Sedimento Úmido, SECA – Amostras de Sedimento Seco. I1 -Ilha Porchat 1, I2 – Ilha Porchat 2, G1 – Gonzaguinha 1, G2 – Gonzaguinha 2.....	29
Tabela 8: Resultado do antibiograma para coleta 4 em diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem, onde Verde – Sensível e Vermelho – Resistente. H ₂ O – Amotras de Água, UMD – Amostras de Sedimento Úmido, SECA – Amostras de Sedimento Seco. I1 -Ilha Porchat 1, I2 – Ilha Porchat 2, G1 – Gonzaguinha 1, G2 – Gonzaguinha 2.....	30
Tabela 9: Resultado do antibiograma para coleta 5 em diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem, onde Verde – Sensível e Vermelho – Resistente. H ₂ O – Amotras de Água, UMD – Amostras de Sedimento Úmido, SECA – Amostras de Sedimento Seco. I1 -Ilha Porchat 1, I2 – Ilha Porchat 2, G1 – Gonzaguinha 1, G2 – Gonzaguinha 2.....	31

Sumário

Agradecimentos	4
Resumo	5
1. Introdução	11
2. Objetivo	14
3. Material e Métodos.....	15
3.1 Área de estudo	15
3.2 Coleta de amostras	16
3.3 Fatores Abióticos	17
3.4 Processamento de amostras	18
3.4.1 Técnica de Membrana Filtrante.....	18
3.4.2 Teste de sensibilidade.....	19
3.5 Análise dos resultados.....	20
4. Resultados e Discussão	20
4.1 Parâmetros Abióticos.....	20
4.2 Densidade de <i>Enterococcus</i>	22
4.3 Avaliação da resistência antimicrobiana.....	25
5. Conclusão	36
Referências	37

1. Introdução

Com a pandemia de COVID-19, diversos meios da sociedade foram afetados, principalmente o meio econômico e de saúde, o que gerou uma exacerbada mobilização atrás de uma solução eficaz contra as complicações causadas pelo vírus Sars-Cov2 (Ferrão et. al., 2022; Freires; Junior 2022). Uma variedade de medicamentos foi utilizada contra o vírus, mesmo que sua eficácia fosse totalmente desconhecida, dentre eles, antibióticos. Tal prática, na época, foi fomentada por órgãos governamentais, pessoas públicas e de propriedade no assunto, atrelado a notícias falsas, as quais eram divulgadas por veículos midiáticos e redes sociais (Leal et. al. 2021).

Um dos antibióticos mais utilizados no combate ao Sars-Cov2 foi a azitromicina, tanto em relação a automedicação, quanto a indicação por profissionais da saúde. Contudo, antibióticos não atuam contra vírus, ou seja, a eficácia da azitromicina sobre o vírus Sars-Cov2 é nula (Freires; Junior, 2022). O uso desenfreado de antibióticos, além de não apresentar eficiência, pode potencializar a seleção e disseminação de bactérias com alta resistência aos antimicrobianos (Silva et. al., 2021). Drogas como os antimicrobianos são encontradas de forma recorrente como contaminantes tanto em solo quanto em ambientes de águas superficiais e de subsolo, também estando presentes em sedimento marinho, tendo como fonte sua utilização em alimentação de peixes, práticas agropecuárias e descarte de esgoto doméstico contendo tais medicamentos, uma vez que são os fármacos mais encontrados nesse tipo de efluente, o que pode corroborar para o desenvolvimento de bactérias resistentes e sua disseminação no ambiente (Freitas, G. 2023; Bila & Dezotti, 2003).

As bactérias podem adquirir resistência a antibióticos por diversas formas, como mutação de genes e transferência de plasmídeos, fazendo com que haja respostas como modificações estruturais em receptores alvo de antibióticos e modificações em porinas, comprometendo a ação dos antibióticos e potencializando a resistência bacteriana (Madigan et. al., 2016). Bactérias resistentes a antimicrobianos provenientes de um ambiente externo (alóctones), principalmente em ambientes aquáticos, podem transferir plasmídeos a bactérias autóctones, assim acarretando a disseminação da resistência bacteriana (Duarte et. al., 2019).

No Brasil, a legislação brasileira estabelece padrões e parâmetros de balneabilidade de praias, baseados na densidade de bactérias indicadoras de contaminação fecal, sendo elas *Escherichia coli*, coliformes termotolerantes e *Enterococcus*. Tais bactérias são utilizadas como indicadores de qualidade de água, sendo

E. coli e coliformes termotolerantes tanto para água doce quanto para águas marinhas e *Enterococcus* somente para águas marinhas, segundo a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 274, de 29 de novembro de 2000.

As bactérias do gênero *Enterococcus* são Gram-positivas, características por serem comensais do trato gastrointestinal de animais endotérmicos, possuir alta tolerância a condições variadas de crescimento, como: capacidade de crescer na presença de 6,5% de NaCl, a pH 9,6 e nas temperaturas de 10° a 45°C (Zaghloul et. al., 2023; Fisher; Phillips, 2009). Essas bactérias podem ser consideradas patógenos oportunistas, principalmente em organismos imunocomprometidos. Ainda, foram classificadas como uma das 12 espécies de bactérias que simbolizam maior risco a saúde humana, ocasionando doenças como endocardite, infecção intra-abdominais e do trato urinário (WHO, 2017; Santos, L. 2021; Vicari et. al. 2021).

Existem espécies de *Enterococcus* que possuem resistência intrínseca a antibióticos específicos, como a *Enterococcus gallinarum*, apresentando resistência a vancomicina, entretanto, há espécies que demonstram resistência adquirida, como *Enterococcus faecium*, tornando preocupante a disseminação de tais bactérias resistentes no ambiente e a infecção pelas mesmas (Vicari et. al. 2021).

A contaminação das águas pode vir de fontes como cargas difusas, efluentes hospitalares, industriais e domésticos, os quais podem estar carregados de microrganismos, assim disseminando espécies de bactérias e outros patógenos nas águas do mar, o que é muito prejudicial, uma vez que tal contaminação pode acarretar em diversas doenças como gastroenterite, cólera, diarreia e até mesmo hepatite A, e, quando tratamos de contaminação por bactérias resistentes a antibióticos, a problemática torna-se ainda mais preocupante, visto que cria-se uma seletividade para bactérias mais resilientes e disseminação de fatores de resistência, multiplicando o risco para a população, destacando um grande problema de saúde pública (Freitas, G. 2023; Luprano et. al. 2016).

No estado de São Paulo, o monitoramento de qualidade de água de praias recreacionais é feito pela CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo), a qualidade é inferida pela densidade presente de bactérias indicadoras de contaminação fecal, utilizando os parâmetros estabelecidos pela Resolução CONAMA 274 de 2000, contudo, apenas a densidade de microrganismos é considerada para determinação da qualidade de água, desconsiderando a resistência dos mesmos, assim, podendo expor a população ao contato com bactérias resistentes a antimicrobianos. O monitoramento de

praias recreacionais é imprescindível, uma vez que se trata de um ambiente de contato direto e que ocorre o aporte de efluentes diversos, o que é muito comum em cidades litorâneas do Brasil, podendo amplificar a disseminação de doenças de veiculação hídrica, ocasionadas por bactérias e potencializar a propagação dos genes de resistência bacteriana, comprometendo a saúde dos banhistas e diminuindo, ou até mesmo anulando, a eficácia dos antibióticos (Silva; Alves; Nogueira, 2022; CETESB, 2020; Iversen et. al., 2004).

2. Objetivo

O presente trabalho tem como objetivo avaliar se houve alterações acerca da resistência bacteriana em *Enterococcus* após a pandemia de COVID-19 e analisar a densidade de tais bactérias nas praias do município de São Vicente (SP).

3. Material e Métodos

3.1 Área de estudo

O município de São Vicente está inserido Região Metropolitana da Baixada Santista (RMBS), localizado, especificamente, na região central do litoral do Estado de São Paulo. A região é dividida em área insular e continental, apresentando 6 km de extensão de praias e engloba não só a importância econômica com atividades industriais e turísticas, mas também ecológica, abrigando manguezais, mata atlântica e fauna diversa (Freitas, G. 2023).

A região contempla as praias de Gonzaguinha e Itararé. A praia de Gonzaguinha possui 800 metros de extensão, está localizada bem próxima ao centro comercial da cidade, possuindo um alto fluxo de pessoas e atividades turísticas como passeios de escuna e demais esportes náuticos. Tal praia está situada em uma região de baía mais abrigada, apresentando menor hidrodinâmica (Fernandes, L; Sansolo, D. 2013).

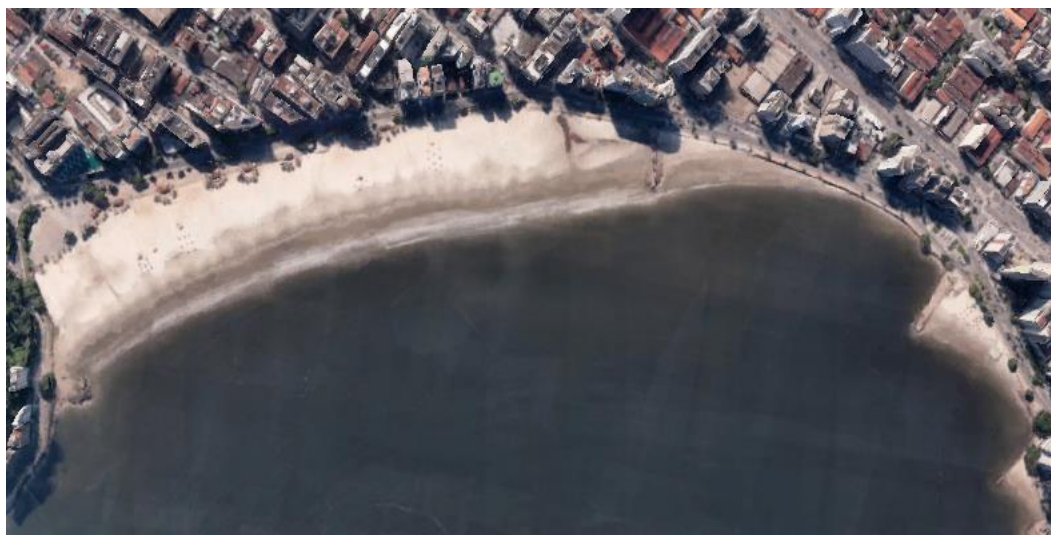


Figura 1: Praia de Gonzaguinha no município de São Vicente (SP) (Google Earth, 2024).

Para a praia de Itararé, sua extensão abrange cerca de 2,4 km, sendo uma praia dissipativa também localizada em uma região de baía, abrigando diversos atrativos turísticos como passeio de teleférico, surfe, diversos quiosques e banho de mar (Moschetto, F. 2014).



Figura 2: Praia de Itararé no município de São Vicente (SP) (Google Earth 2024).

A cidade de São Vicente possui tratamento de esgoto precário, apenas 56% do esgoto da região é coletado e tratado, expondo a população a meios inadequados de descarte e tratamento do mesmo, o que gera em lançamentos em canais, rios e região estuarina (Pinto et. al. 2012).

3.2 Coleta de amostras

As amostras foram coletadas em praias do município de São Vicente (SP), especificamente as praias de Gonzaguinha e Itararé. Foram estabelecidos dois pontos de coleta em cada uma das praias, com aproximadamente 100 metros de distância entre eles, denominados G1 e G2 para Gonzaguinha, I1 e I2 para Ilha Porchat, os quais foram mantidos para todas as coletas. Em cada um dos pontos foi coletado areia seca, areia úmida e água.



Figura 3: Imagem da área de coleta, ilustrando os pontos coleta nas praias de Gonzaguinha e Itararé (Google Earth, 2024).

Para a coleta de sedimento, foram utilizados espátulas, luvas e sacos plásticos estéreis, enquanto para água foram utilizados frascos de polipropileno esterilizados, as amostras foram mantidas refrigeradas em caixa térmica contendo gelo reutilizável rígido (Gelox termogel) e encaminhadas para análise no Laboratório de Microbiologia Marinha e Ambiental (MICROMAR) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Instituto de Biociências Campus do Litoral Paulista – São Vicente.

Foram realizadas 5 coletas, sendo elas realizadas nos meses de dezembro de 2023, janeiro, fevereiro, julho e agosto de 2024, contemplando as estações de verão e inverno e coletando na maré baixa.

3.3 Fatores Abióticos

Os fatores abióticos aferidos foram temperatura (°C), pH, oxigênio dissolvido (mg/l) e salinidade, foram mensurados no local exato da coleta com o auxílio de uma sonda multiparâmetros Hanna em cada uma das coletas.

Dados pluviométricos serão obtidos, quando necessários, como parâmetros de volume de chuva acumulado em milímetros nos cinco dias antecedentes a data de cada coleta, utilizando os dados do pluviômetro automático mais próximo das áreas de coleta pelo site oficial do CEMADEN (Centro Nacional de Monitoramento e Alertas de Desastres Naturais) e para a variação de marés, foi utilizado o site oficial CPTEC (Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos) / INPE (Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais).

3.4 Processamento de amostras

3.4.1 Técnica de Membrana Filtrante

Para a extração dos microrganismos aderidos as partículas de sedimento foi utilizado protocolo descrito por Oliveira e Pinhata (2008), foram pesados 20g de sedimento e acrescidos de 180ml de água destilada esterilizada. Posteriormente, submetidas à agitação por 10 minutos em agitador Kline, por duas vezes. O sobrenadante foi analisado a partir da técnica de membrana filtrante (Figura 4). Tanto as amostras de água quanto as de sedimento foram filtradas em membranas de 0,45um de porosidade e posicionadas em placas contendo Ágar m-Enterococcus e incubadas a 37 °C ($\pm 1^\circ$) por 48 horas. Os volumes filtrados para as amostras de sedimento e de água foram de 5ml e 10ml, totalizando 24 placas.



Figura 4: Kit de filtração utilizado para realizar a técnica de membrana filtrante.

As colônias com tonalidade vermelha-amarronzada foram consideradas características e confirmadas em meio Caldo Enterococcosel (Figura 5). Os tubos com Caldo Enterococcosel foram incubados em estufa bacteriológica a 35°C de 4 a 18 horas, até que os tubos apresentassem aspecto enegrecido, indicando resultado positivo, obtendo assim a confirmação das colônias de *Enterococcus* sp e contabilizadas, conforme preconizado no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater - APHA (2012) (Figura 6).

Para as amostras de água, as densidades foram expressas em Unidades Formadoras de Colônia por 100 mililitros (UFC 100ml⁻¹), e as amostras de sedimento expressas em Unidades Formadoras de Colônia por grama (UFC g⁻¹).

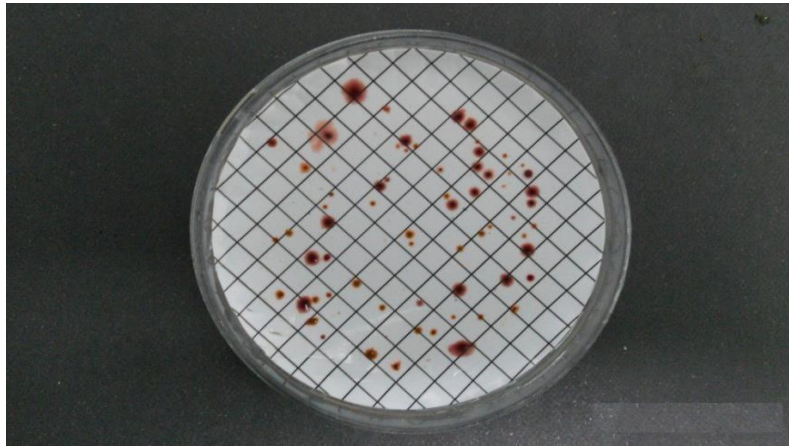


Figura 5: Placa de ágar m-Enterococcus com crescimento das colônias de *Enterococcus* sp.

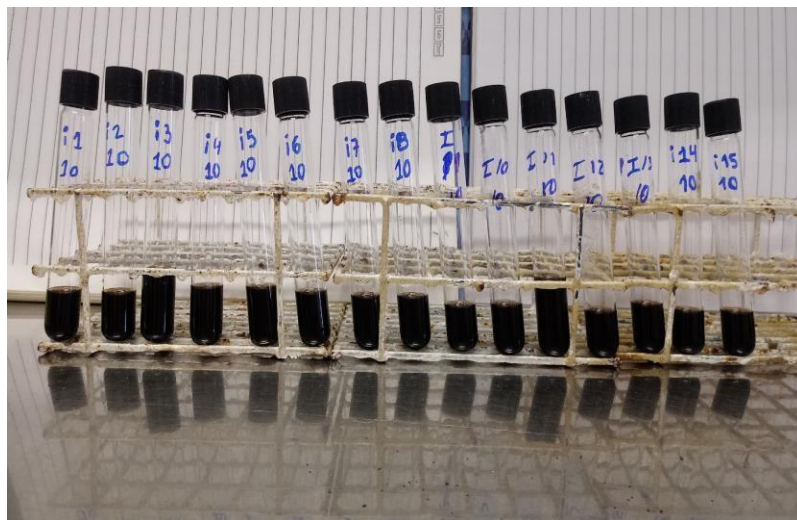


Figura 6: Tubos com caldo Enterococcosel mostrando reação positiva (enegrecimento do meio) para *Enterococcus* sp.

3.4.2 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 MuellerHinton.

As colônias foram testadas em relação aos antimicrobianos selecionados para *Enterococcus* spp. Os discos de antimicrobianos foram distribuídos de forma equidistante sobre a superfície da placa de Petri contendo Ágar Mueller Hinton. passado o período de incubação das colônias, as amostras foram analisadas quanto à presença ou ausência de

halos de inibição. Nos casos em que houve formação de halos de inibição, os diâmetros foram medidos em milímetros com o auxílio de um paquímetro, seguindo o padrão BrCAST.

Os antibióticos escolhidos foram amoxicilina + ácido clavulânico 30 mg (AMC), ampicilina 10 mg (AMP), ciprofloxacina 5 mg (CIP), imipenem 10 mg (IPM), estreptomicina 10 mg (EST), gentamicina 10 mg (GEN), nitrofurantoina 300 mg (NIT), vancomicina 30 mg (VAN) e azitromicina 15 mg (AZT).

Após a montagem do antibiograma e incubação por 24 horas em estufa na temperatura de $35 \pm 0,5$ °C, os halos de inibição foram medidos e então comparados com os parâmetros adotados pelo BrCast (2023) e Cardenas (2020), a fim de analisar a eficácia dos antimicrobianos testados.

3.5 Análise dos resultados

Todos os dados obtidos foram planilhados e então os resultados foram comparados àqueles obtidos em trabalhos anteriores, os quais abordam o tema de resistência antimicrobiana de *Enterococcus*, com o objetivo de observar se houve alterações acerca da resistência dos antibióticos abordados, correlacionando a influência do período pandêmico na progressão da resistência antimicrobiana.

4. Resultados e Discussão

4.1 Parâmetros Abióticos

Devido à ausência de chuvas nos dias anteriores as coletas, não foi necessário a utilização dos dados pluviométricos

Durante as 5 coletas, os fatores abióticos, foram obtidos, sendo eles temperatura (T °C), pH, oxigênio dissolvido (OD m/l) e salinidade (Sal). Os resultados obtidos estão retratados nas Tabela de 1, representando cada coleta realizada nos meses de dezembro, janeiro, fevereiro, julho e agosto, respectivamente.

Tabela 1. Fatores abióticos, Temperatura (T °C), pH, Oxigênio Dissolvido (OD m/l) e Salinidade (Sal), mensurados durante as coletas de dezembro 2023, janeiro 2024, fevereiro 2024, julho de 2024 e agosto de 2024.

DEZEMBRO DE 2023					JANEIRO 2024				
Pontos	T (°C)	pH	OD (m/l)	Sal	Pontos	T (°C)	pH	OD (m/l)	Sal
I1	25,7	5.42	3,66	33	I1	27	5,22	2,47	28,25
I2	25,56	5.81	3,64	33	I2	27,16	5,6	2,52	28,2
G1	26,26	5.9	3,7	24,45	G1	26,6	5,64	2,72	20
G2	26	6	3,3	23,64	G2	26,6	5,71	2,78	20,12
FEVEREIRO 2024					JULHO 2024				
Pontos	T (°C)	pH	OD (m/l)	Sal	Pontos	T (°C)	pH	OD (m/l)	Sal
I1	27	5,22	2,47	28,25	I1	20,76	4,01	3,13	29,6
I2	27,16	5,6	2,52	28,2	I2	20	4,96	3,16	29,59
G1	26,6	5,64	2,72	20	G1	20,74	5,36	3,3	25,62
G2	26,6	5,71	2,78	20,12	G2	20,83	5,52	3,25	25,7
AGOSTO DE 2024									
Pontos	T (°C)	pH	OD (m/l)	Sal					
I1	21,1	4,15	2,47	28,66					
I2	21,26	4,60	2,48	28,81					
G1	22,85	4,76	2,45	24,34					
G2	22,44	4,79	2,49	23,9					

Ao observar os resultados obtidos, quanto a temperatura, nas coletas 1, 2 e 3, as quais foram realizadas no verão, os valores encontram-se elevados, enquanto as demais coletas, realizadas no inverno, possuem baixa temperatura, podendo ser observado uma variação de até aproximadamente 7°C entre as temperaturas observadas. A temperatura é indicada pela variável climática TSM (Temperatura Superficial do Mar), a qual pode sofrer influência desde processos naturais como *El Niño*, estações e até mesmo por interferências antropogênicas (Costa, 2023).

De acordo com o INMET (Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil), nos meses de verão (dezembro a fevereiro) foram registradas altas temperaturas dentro da normalidade, em sua maioria, para TSM, indo de 24 a 28°C, em todas as coletas, a temperatura está dentro da normalidade.

Abordando acerca do pH, em todas as coletas o pH fugiu da neutralidade (7), indo de 4,01 a 6, ou seja, indicando a acidez das águas analisadas (Silva, W. 2024). Levando em consideração a Resolução CONAMA nº 357 de 2005, a qual aborda sobre a

classificação de corpos de águas e suas diretrizes ambientais, o esperado é um pH de 5 a 9, ou seja, em sua grande maioria o pH apresenta um valor esperado. Contudo, nas coletas 3, 4 e 5 observa-se pH menor que 5, com destaque para a coleta 5, a qual apresentou pH abaixo de 5 em todos os pontos amostrados, fugindo das normas estabelecidas pela autoridade.

Analisando os resultados obtidos para salinidade, seguindo os parâmetros estabelecidos pela Resolução CONAMA 274/00, em que águas com salinidade de 0,5 a 30 são consideradas salobras e 30 a valores superiores são consideradas águas salinas, os valores encontrados nos G1 e G2, na Praia do Gonzaguinha, se mostraram, em todas as coletas, como salobra. As coletas foram realizadas sempre na maré vazante, desta forma sofrendo forte influência do estuário, ou seja, devido a dinâmica de marés, proximidade com o canal de São Vicente e a geomorfologia da porção da Praia de Gonzaguinha, águas com salinidade mais baixa, as águas provenientes do estuários, tem mais influência, acarretando na salinidade menor, quando comparada a Praia de Itararé, a qual sofre menos influência do estuário, devido suas peculiaridades geomorfológicas, sendo mais impactada pela dinâmica de marés (Bird, 2008).

Assim, pode-se observar que a salinidade encontrada nos pontos I1 e I2, em todas as coletas, são sempre valores superiores ao de G1 e G2, podendo até mesmo serem classificadas como águas salinas.

Em relação ao oxigênio dissolvido, segundo a CONAMA 357/05, o valor ideal para o OD não deve ser inferior a 6 m/l, valores baixos de oxigênio dissolvido indicam contaminação por efluentes. Em todas as coletas, os valores de oxigênio dissolvido estão fora dos padrões estabelecidos, o que pode indicar a contaminação das águas por poluentes, impactando diretamente em fatores como qualidade da água, turbidez e sobrevivência de organismos (Nascimento, 2023).

4.2 Densidade de *Enterococcus*

Os valores de densidade para a praia do Gonzaguinha podem ser observados na Tabela 2 e os da praia do Itararé na Tabela 3. Os valores foram calculados a média das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) 100ml⁻¹ para água e 100g⁻¹ para sedimento, respectivamente, seguindo as normas estabelecidas CONAMA nº 274/00, representadas na Figura 2. Devido à falta de uma legislação específica para sedimentos, os mesmos parâmetros da água foram adotados.

CATEGORIA		Enterococos (UFC/100 mL)
PRÓPRIA	EXCELENTE	Máximo de 25 em 80% ou mais tempo
	MUITO BOA	Máximo de 50 em 80% ou mais tempo
	SATISFATÓRIA	Máximo de 100 em 80% ou mais tempo
IMPRÓPRIA		Superior a 100 em mais de 20% do tempo
		Maior que 400 na última medição

Figura 7: Valores limites de *Enterococcus* em 100ml de água, nas praias. Fonte: Adaptado de CONAMA 274 de 2000.

Tabela 2: Densidade de *Enterococcus* spp na praia de Gonzaguinha, nos meses dezembro de 2023, janeiro, fevereiro, julho e agosto de 2024.

G1			
	Água (UFC 100ml ⁻¹)	Sed. Úmido (UFC 100g ⁻¹)	Sed. Seco (UFC 100g ⁻¹)
Dezembro 2023	2,28E+03	1,31E+03	1,66E+04
Janeiro 2024	1,84E+03	1,21E+04	1,58E+04
Fevereiro 2024	5,60E+02	1,40E+03	2,58E+04
Julho 2024	3,75E+03	1,20E+03	1,50E+03
Agosto 2024	3,50E+03	6,00E+03	4,02E+03
G2			
Dezembro 2023	1,02E+03	2,44E+03	3,48E+03
Janeiro 2024	1,84E+03	1,58E+03	1,21E+03
Fevereiro 2024	5,60E+03	2,58E+03	1,40E+03
Julho 2024	1,95E+03	8,50E+03	2,70E+03
Agosto 2024	8,50E+03	3,50E+03	8,50E+03

Tabela 3: Densidade de *Enterococcus* spp para as praias da Ilha Porchat, nos Pontos I1 e I2, nos meses dezembro de 2023, janeiro, fevereiro, julho e agosto de 2024.

I1			
	Água (UFC 100ml ⁻¹)	Sed. Úmido (UFC 100g ⁻¹)	Sed. Seco (UFC 100g ⁻¹)
Dezembro 2023	6,60E+03	3,62E+03	4,98E+03
Janeiro 2024	1,62E+03	6,92E+03	5,89E+03
Fevereiro 2024	1,40E+03	5,06E+03	2,67E+03
Julho 2024	5,00E+03	1,65E+03	6,15E+03
Agosto 2024	3,00E+03	5,00E+03	1,45E+03
I2			
Dezembro 2023	9,05E+03	3,53E+03	4,08E+03
Janeiro 2024	2,11E+03	1,71E+03	5,70E+03
Fevereiro 2024	2,60E+03	5,06E+03	2,67E+03
Julho 2024	7,80E+03	2,00E+03	6,50E+03
Agosto 2024	4,00E+03	3,00E+03	1,40E+03

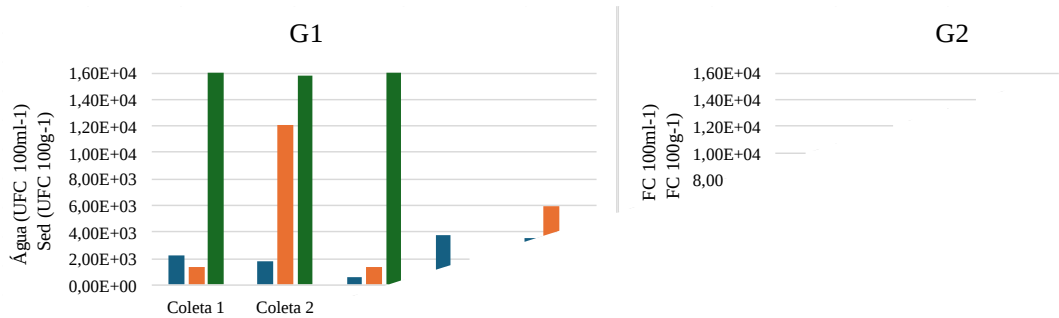


Figura 8: Gráfico representando o volume de bactérias *Enterococcus* nas amostras de água, sedimento seco e úmido nas 5 coletas para os pontos de Gonzaguinha 1 e 2, indicando maiores valores para as amostras de sedimento.

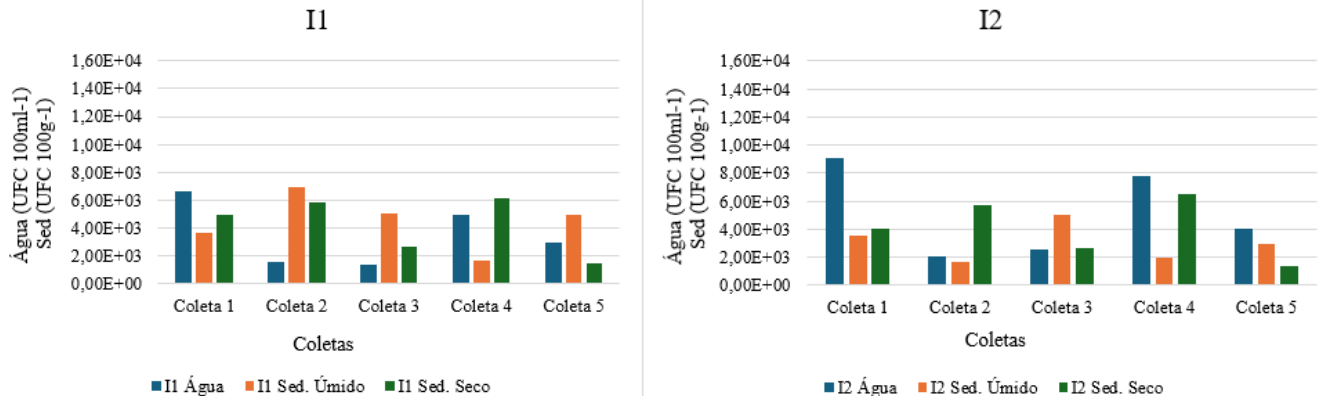


Figura 9: Gráfico representando o volume de bactérias *Enterococcus* nas amostras de água, sedimento seco e úmido nas 5 coletas pra os pontos de Ilha Porchat 1 e 2, indicando maiores valores para as amostras de sedimento, com exceção da Coleta 1 para I1 e I2 e Coleta 4 para I2, possivelmente devido ao tempo de sedimentação das bactérias.

Pode-se observar que há a presença de um grande volume de bactérias *Enterococcus* em todos os pontos de coleta, desde a primeira coleta (dezembro) até a última realizada (agosto). Seguindo a CONAMA 274/00, todos os pontos amostrados se enquadram como impróprios, apresentando uma densidade maior do que 400 UFC 100ml⁻¹ para água e 100g⁻¹ para sedimento. Demonstrando uma grave contaminação das praias recreativas do município de São Vicente (SP).

No trabalho realizado por Zampieri (2017), o qual aborda sobre a densidade e resistência antimicrobiana de bactérias nas regiões de Itanhaém e Santos, a densidade encontrada de *Enterococcus* é maior em sedimento, chegando a 2354 UFC g⁻¹ em Santos.

O padrão se repete no presente estudo, analisando tanto o sedimento úmido quanto o seco, a densidade de bactérias *Enterococcus* supera a presente na água, em sua maioria, em ambas as praias (Itararé e Gonzaguinha).

No estudo de Pinto (2012), realizado nas mesmas praias abordadas no presente trabalho, também foi encontrado maior densidade de *Enterococcus* no sedimento. O mesmo padrão se repete no trabalho de Bonilla e colaboradores (2007), na praia de Gaza, a densidade de tais bactérias em sedimento chegou a ser 20 vezes maior do que na água.

O fato de haver uma maior densidade de *Enterococcus* no sedimento ocorre devido aos indicadores de contaminação fecal presentes na água do mar sofrerem inativação pelos raios solares, aumentando a susceptibilidade a ação de bacteriófagos, pouca abundância de nutrientes, predação e competição. Assim, o sedimento (areia) faz o papel de abrigar esses microrganismos, uma vez que eles podem aderir a partículas, as quais, muitas vezes, estão ligadas a detritos orgânicos, o que confere uma maior sobrevivência as bactérias (Zampieri et al. 2017).

4.3 Avaliação da resistência antimicrobiana

Os pontos de corte para cada antibiótico utilizado estão indicados na Tabela 4.

Tabela 4: Pontos de corte acerca do halo inibitório no método de Kirby-Bauer, para os antibióticos imipenem (**IPM**), estreptomicina (**EST**), azitromicina (**AZI**), vancomicina (**VAN**), ciprofloxacina (**CIP**), ampicilina (**AMP**), amoxicilina + ácido clavulânico (**AMC**), gentamicina (**GEN**) e nitrofurantoina (**NIT**). Fonte: BrCAST, 2023; Cardenas 2020.

Medidas BrCAST/Cardenas	Sensível	Resistente
IPM	50-21	<21
EST	14	<14
*AZI	*29	*<29
VAN	12	<12
CIP	15	<15
AMP	10	<8
AMC	10	<9
GEN	8	<8
NIT	15	<15

* Halo embasado no trabalho de Cardenas (2020).

A azitromicina não é um antimicrobiano utilizado e testado para o combate de *Enterococcus* (BrCast, 2023), ou seja, não há dados suficientes para estabelecer um ponto de corte nacional ou universal para o método de Kirby Bauer. Portanto, foi adotado como ponto de corte 29 mm para a azitromicina, baseado na pesquisa de Cardenas (2020), a qual aborda a eficácia antibacteriana da azitromicina aditivada com hidróxido de cálcio em bactérias *Enterococcus faecalis*.

Então, observando os resultados acerca da primeira coleta (Tabela 5), pode-se inferir que o antibiótico estreptomicina (EST) foi o de menor eficácia, seguido pela azitromicina (AZI). Ainda, ocorreram alguns casos isolados de resistência aos antimicrobianos imipenem (IPM) e nitrofurantoina (NIT). Contudo, o que ganhou maior destaque foi a amostra de areia seca de G1, a qual apresentou resistência a todos os antibióticos.

Tabela 5: Resultado do antibiograma para a coleta 1 em diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem, onde Verde – Sensível e Vermelho – Resistente. H₂O – Amostras de Água, UMD – Amostras de Sedimento Úmido, SECA – Amostras de Sedimento Seco. I1 -Ilha Porchat 1, I2 – Ilha Porchat 2, G1 – Gonzaguinha 1, G2 – Gonzaguinha 2.

Coleta 1 - Dezembro 2023										
		IPM	EST	AZI	VAN	CIP	AMP	AMC	GEN	NIT
I1	H2O	42	0	36	30	32	46	48	16	30
	UMD	16	0	26	26	30	20	36	20	26
	SECA	50	24	24	24	38	44	42	36	28
I2	H2O	28	0	14	24	30	28	32	16	20
	UMD	48	18	10	24	38	32	40	32	30
	SECA	44	12	38	26	34	40	40	22	24
G1	H2O	34	0	26	20	28	30	38	12	30
	UMD	40	10	16	22	38	26	32	28	20
	SECA	0	0	0	0	0	0	0	0	0
G2	H2O	30	0	26	24	22	32	38	18	24
	UMD	44	12	44	16	50	26	40	32	14
	SECA	32	0	30	20	26	30	34	14	28

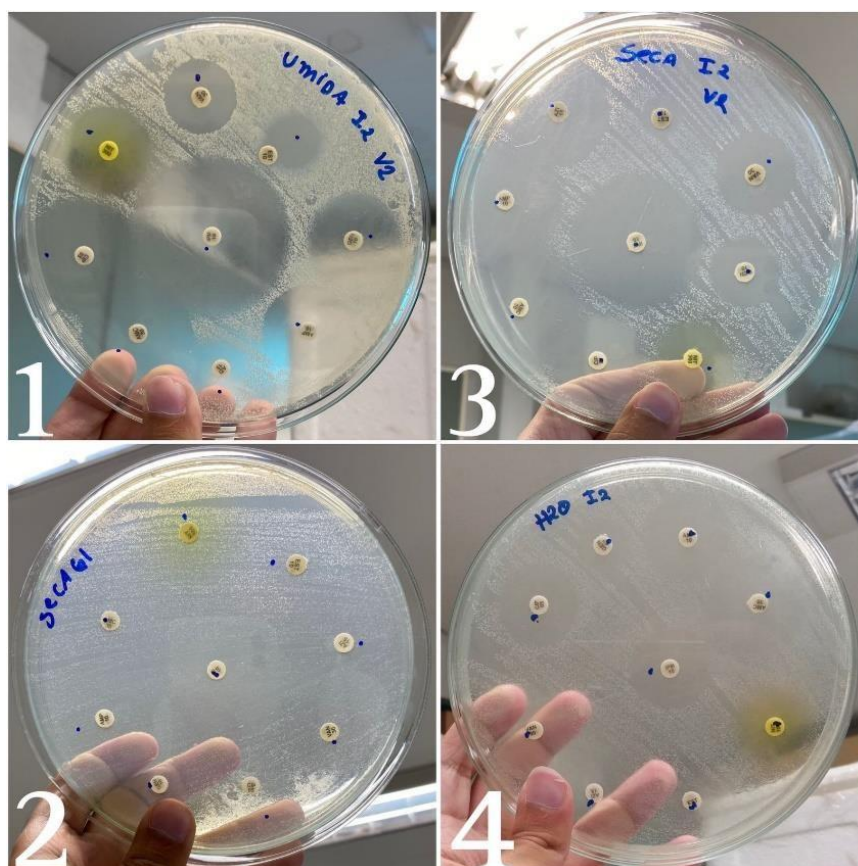


Figura 10: Resultado de amostras do primeiro antibiograma realizado, demonstrando a resistência aos antibióticos testados. 1 – Sedimento úmido de Itararé 2, apresentando resistência a azitromicina. 2 – Sedimento seco de Gonzaguinha 1, apontando resistência a todos os antimicrobianos testados. 3 – Sedimento seco de Itararé 2, com resistência a estreptomicina 4 – Água de Itararé 2, apresentando pouca suscetibilidade a azitromicina e estreptomicina.

Para a segunda coleta (Tabela 6), a baixa eficiência de estreptomicina (EST), azitromicina (AZI) e nitrofurantoina (NIT) ainda é encontrada, contudo, agora pode-se observar a resistência a gentamicina (GEN) e vancomicina (VAN).

Tabela 6: Resultado do antibiograma para a coleta 2 em diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem, onde Verde – Sensível e Vermelho – Resistente. H₂O – Amostras de Água, UMD – Amostras de Sedimento Úmido, SECA – Amostras de Sedimento Seco. I1 -Ilha Porchat 1, I2 – Ilha Porchat 2, G1 – Gonzaguinha 1, G2 – Gonzaguinha 2

Coleta 2 - janeiro 2024										
		IPM	EST	AZI	VAN	CIP	AMP	AMC	GEN	NIT
I1	H2O	32	0	16	20	26	32	34	14	28
	UMD	44	0	30	22	24	38	38	16	26
	SECA	30	0	32	26	30	32	36	0	22
I2	H2O	28	0	24	18	24	32	38	14	20
	UMD	30	0	32	26	30	28	32	8	22
	SECA	28	16	44	0	18	24	36	24	0
G1	H2O	22	0	14	24	16	24	32	12	20
	UMD	46	0	8	26	26	38	40	20	30
	SECA	32	22	50	0	22	30	34	30	0
G2	H2O	28	0	32	26	30	26	32	10	20
	UMD	42	0	30	24	24	36	40	20	26
	SECA	32	0	32	26	32	30	32	10	24

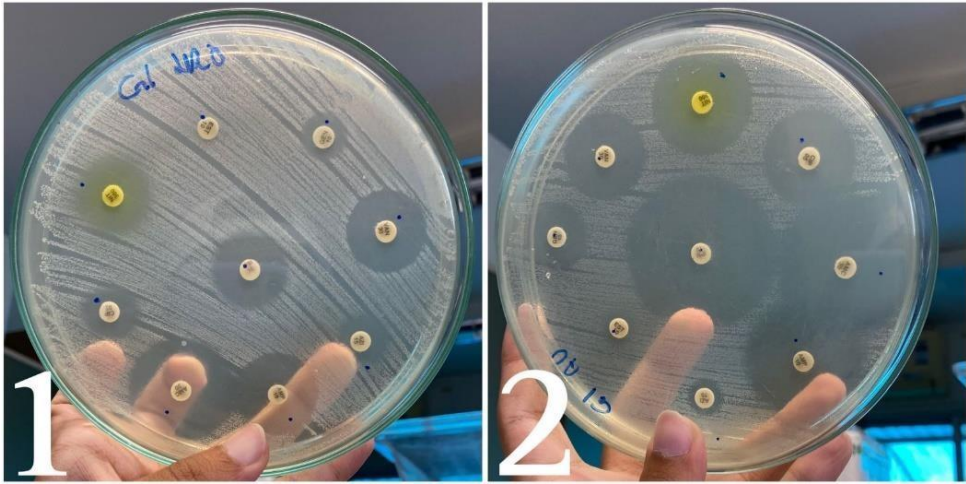


Figura 11: Segundo antibiograma realizado, exemplificado por amostras de água e sedimento úmido de Gonzaguinha 1. 1 – Água de Gonzaguinha 1, apresentando resistência a estreptomicina e azitromicina. 2 – Sedimento úmido de Gonzaguinha 1, destacando resistência também a azitromicina e estreptomicina.

Na terceira coleta (Tabela 7) os resultados diversificados, tem-se ainda a resistência contra estreptomicina (EST), azitromicina (AZT) e gentamicina (GEN), porém, encontra-se uma resistência maior a vancomicina (VAN) quando comparada as

coletas anteriores. Por fim, um caso isolado de resistência a ampicilina (AMP) foi observado.

Tabela 7: Resultado do antibiograma para coleta 3 em diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem, onde Verde – Sensível e Vermelho – Resistente. H₂O – Amotras de Água, UMD – Amostras de Sedimento Úmido, SECA – Amostras de Sedimento Seco. I1 -Ilha Porchat 1, I2 – Ilha Porchat 2, G1 – Gonzaguinha 1, G2 – Gonzaguinha 2.

Coleta 3 - fevereiro 2024										
		IPM	EST	AZI	VAN	CIP	AMP	AMC	GEN	NIT
I1	H2O	26	16	16	0	26	10	18	20	20
	UMD	30	0	24	19	26	30	32	10	12
	SECA	44	12	30	20	30	32	36	14	22
I2	H2O	21	22	0	10	18	10	16	26	26
	UMD	24	0	12	0	22	10	14	8	12
	SECA	30	0	26	22	22	26	32	0	18
G1	H2O	32	0	10	24	30	34	34	10	20
	UMD	34	16	22	7	28	0	16	20	22
	SECA	36	10	0	22	30	26	30	20	28
G2	H2O	30	0	0	0	16	15	17	10	20
	UMD	30	0	14	28	30	28	34	0	20
	SECA	22	0	0	18	22	20	24	9	24

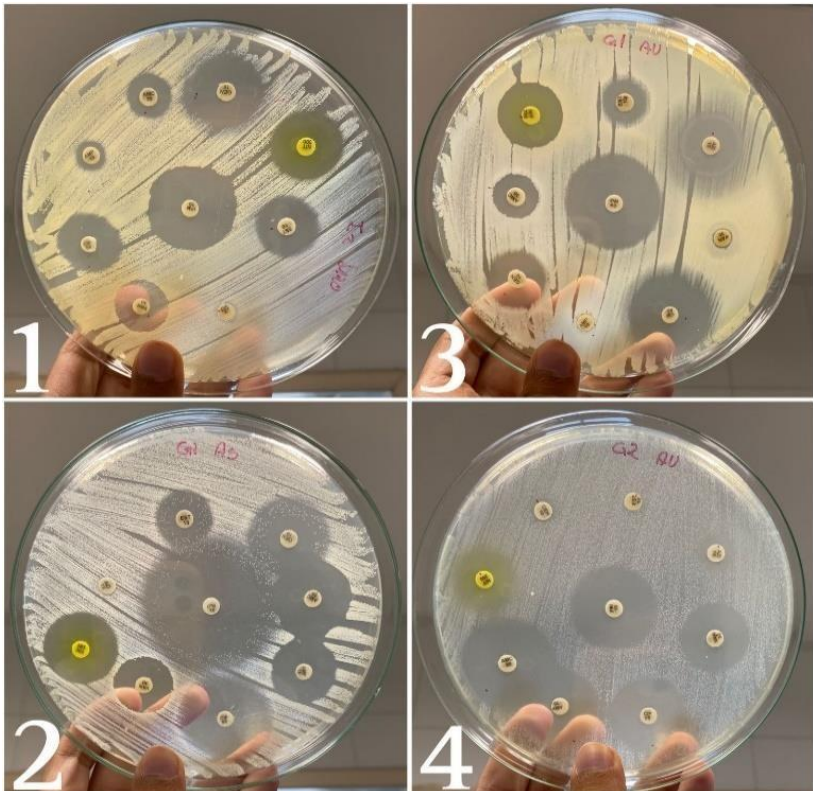


Figura 12: Resultado de diferentes amostras do terceiro antibiograma realizado. 1 – Água de Itararé 2, com resistência a azitromicina e vancomicina. 2 – Sedimento seco de Gonzaguinha 1, apresentando resistência a estreptomicina e azitromicina. 3 – Sedimento úmido de Gonzaguinha 1, demonstrando pouca suscetibilidade a azitromicina, vancomicina e ampicilina. 4 – Sedimento úmido de Gonzaguinha 2, apontando resistência a gentamicina, azitromicina e etreptomicina.

Na quarta coleta (Tabela 8), o padrão de resistência a EST e AZI permanece, apresentando pouca resistência a NIT.

Tabela 8: Resultado do antibiograma para coleta 4 em diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem, onde Verde – Sensível e Vermelho – Resistente. H₂O – Amotras de Água, UMD – Amostras de Sedimento Úmido, SECA – Amostras de Sedimento Seco. I1 -Ilha Porchat 1, I2 – Ilha Porchat 2, G1 – Gonzaguinha 1, G2 – Gonzaguinha 2.

Coleta 4 - Julho 2024										
		IPM	EST	AZI	VAN	CIP	AMP	AMC	GEN	NIT
I1	H2O	42	12	14	20	26	24	28	18	14
	UMD	46	16	10	22	36	46	42	28	22
	SECA	32	0	14	36	22	10	20	16	0
I2	H2O	28	0	0	22	18	24	32	12	14
	UMD	40	10	0	26	26	38	40	18	0
	SECA	46	20	18	22	32	28	30	28	28
G1	H2O	32	0	12	20	22	30	16	10	10
	UMD	28	0	16	20	24	28	32	10	20
	SECA	15	0	26	18	26	12	32	10	22
G2	H2O	12	0	12	18	14	18	30	10	20
	UMD	26	0	12	10	20	28	18	10	20
	SECA	30	12	0	20	26	24	28	18	22

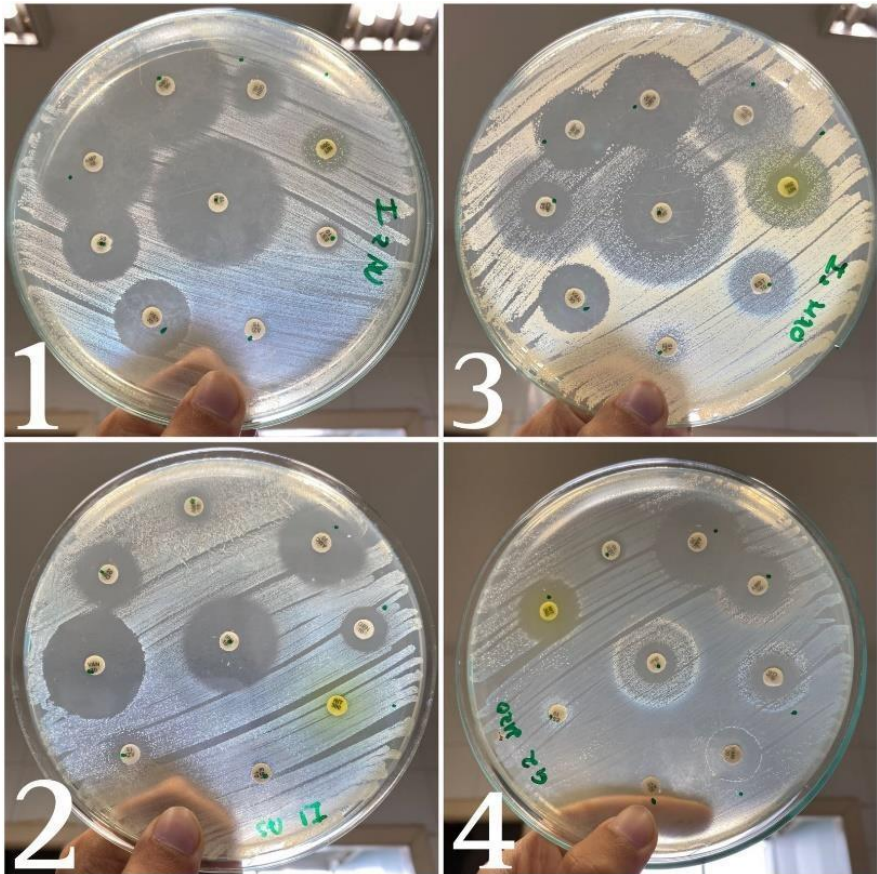


Figura 13: Quarto antibiograma realizado. 1 – Sedimento úmido de Itararé 2, com resistência a estreptomicina, azitromicina e nitrofurantoína. 2 – Sedimento seco de Itararé 1, apresentando resistência a, também, estreptomicina, azitromicina e nitrofurantoína. 3 – Água de Itararé 2, com resistência a estreptomicina e azitromicina. 4 – Água de Gonzaguinha 2, com pouca suscetibilidade a imipinem, estreptomicina, azitromicina e ciprofloxacina.

Na última coleta (Tabela 9), houve um aumento significativo a resistência a diversos antibióticos. O padrão de pouca suscetibilidade a estreptomicina e azitromicina continua, entretanto, comparando com coletas anteriores, há uma frequência de resistência a nitrofurantoína, ampicilina, vancomicina, imipinem e amoxicilina + ácido clavulânico maior, finalizando com casos isolados de resistencia a GEN e CIP.

Tabela 9: Resultado do antibiograma para coleta 5 em diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem, onde Verde – Sensível e Vermelho – Resistente. H₂O – Amostras de Água, UMD – Amostras de Sedimento Úmido, SECA – Amostras de Sedimento Seco. I1 -Ilha Porchat 1, I2 – Ilha Porchat 2, G1 – Gonzaguinha 1, G2 – Gonzaguinha 2.

Coleta 5 - Agosto 2024										
		IPM	EST	AZI	VAN	CIP	AMP	AMC	GEN	NIT
I1	H2O	22	0	16	0	26	0	10	10	20
	UMD	26	0	0	0	22	0	14	18	0
	SECA	50	22	28	24	36	36	38	26	24
I2	H2O	0	0	0	0	28	0	0	8	0
	UMD	0	0	20	0	24	0	0	0	0
	SECA	50	20	16	22	30	34	36	26	0
G1	H2O	34	0	0	20	28	32	36	10	22
	UMD	32	0	0	20	20	30	34	12	20
	SECA	0	0	0	0	28	0	0	10	0
G2	H2O	28	0	22	20	24	34	36	12	20
	UMD	0	0	18	0	24	0	0	18	0
	SECA	32	0	8	22	28	32	34	16	18

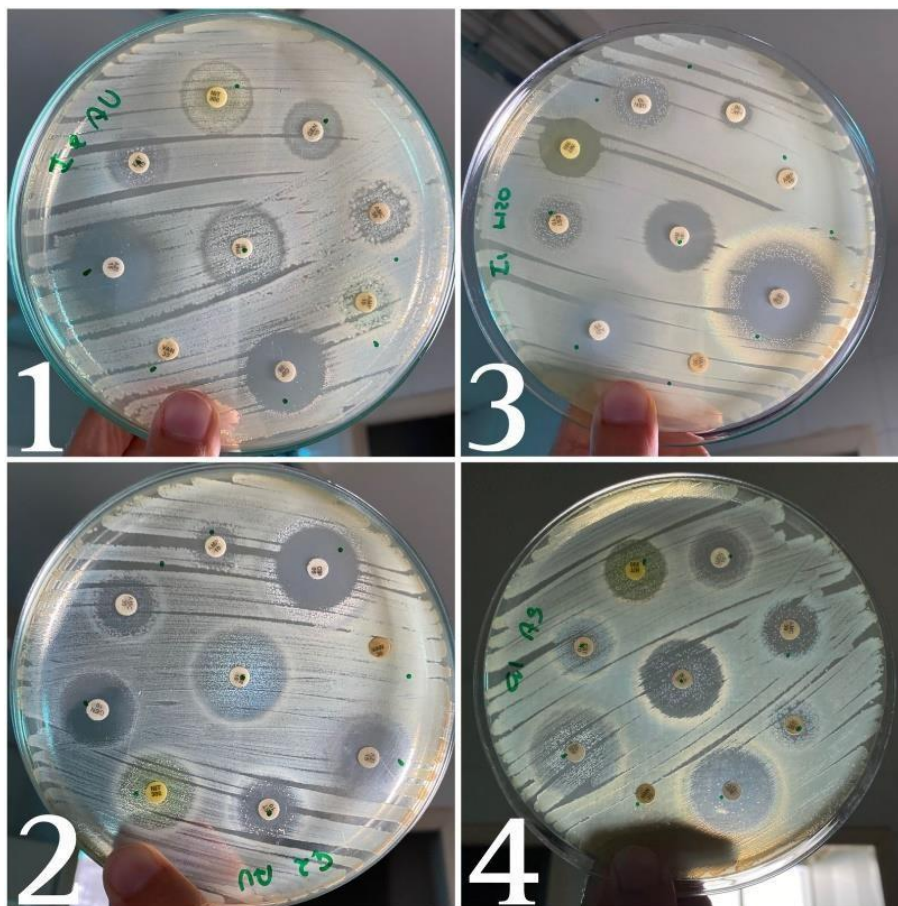


Figura 14: Resultado do quinto antibiograma realizado. 1 – Sedimento úmido de Itararé 2, apontando resistência a imipinem, estreptomicina, azitromicina, vancomicina, ampicilina, amoxacilina + ácido clavulânico, gentamicina e nitrofurantoína. 2 – Sedimento úmido de gonzaguinha 2, apresentando resistência a imipinem, estreptomicina, azitromicina, vancomicina, ampicilina, amoxacilina + ácido clavulânico e nitrofurantoína. 3 – Água de Itararé 1, demonstrando pouca suscetibilidade a estreptomicina, azitromicina, vancomicina, ampicilina e nitrofurantoína. 4 – Sedimento seco de Gonzaguinha 1, apresentando resistência a imipinem, estreptomicina, azitromicina, vancomicina, ampicilina, amoxacilina + ácido clavulânico e nitrofurantoína.

Analisando as 5 coletas em conjunto, pode-se inferir que os antibióticos menos eficazes contra as cepas trabalhadas são a EST e AZI, com algumas resistências menos frequentes a, principalmente, VAN, GEN, NIT e IPM. A resistência a antimicrobianos carbapenêmicos é preocupante, uma vez que trata-se de uma classe de antibióticos muito potentes a atividade bacteriana (Silva et al. 2022).

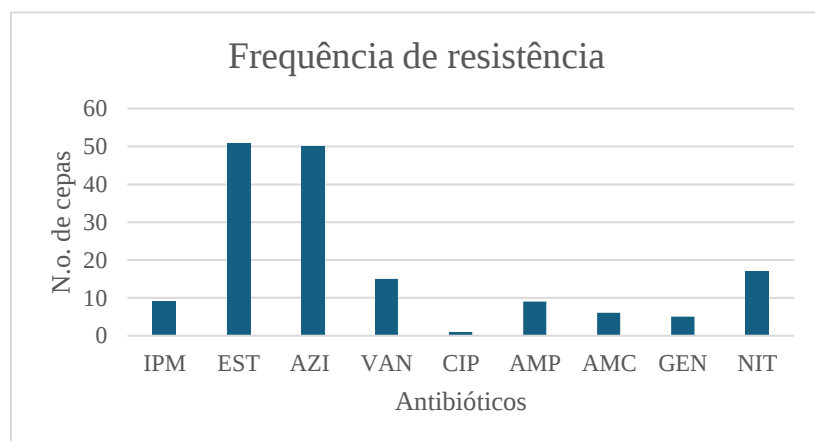


Figura 15: Frequência de resistência aos antimicrobianos encontrada em todas as coletas, demonstrando a menor suscetibilidade a estreptomicina e azitromicina, com 51 e 50 cepas resistentes, respectivamente. IPM – imipinem, EST – estreptomicina, AZI – azitromicina, VAN – vancomicina, CIP – ciprofloxacina, AMP – ampicilina, AMC – amoxicilina + ácido clavulânico, GEN – gentamicina e NIT – nitrofurantoína.

Então, para melhor método de comparação entre o presente estudo e os trabalhos selecionados, os antibióticos foram separados em grupos (BrCAST, 2023), sendo eles penicilinas (AMP, AMC), carbapenêmicos (IPM), fluoroquinolonas (CIP), aminoglicosídeos (GEN, EST), glicopeptídeos (VAN), macrolídeos (AZT) e agentes diversos (NIT).

No trabalho de Oliveira e Pinhata (2008), o qual também foi realizado nas mesmas praias de Ilha Porchat e Gonzaguinha, pode-se destacar a alta resistência para antibióticos dos grupos de aminoglicosídeos (22%), com destaque para a EST. A resistência a AMC e CIP foi nula, para os demais antimicrobianos a resistência foi menos exacerbada. Comparado com o presente estudo, é possível observar que a resistência a aminoglicosídeos (46,6%) ainda permanece, e de forma mais exacerbada, englobando a resistência frequente não só a EST, mas também a GEN. Ainda, há o aumento da resistência de antibióticos do grupo de glicopeptídeos (25%), fluoroquinolonas (1,6%) e penicilinas (12%).

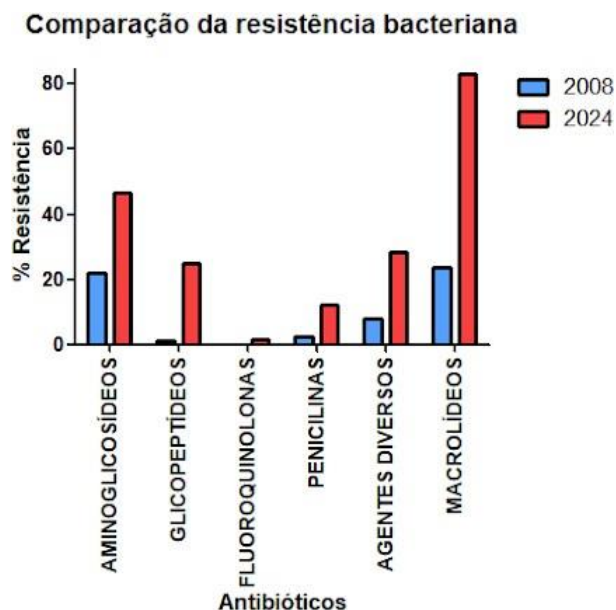


Figura 16: Comparação da progressão da resistência antimicrobiana em relação ao trabalho de Oliveira e Pinhata (2008) e o presente estudo, demonstrando o aumento da resistência em todos os grupos testados.

É possível observar na figura 16 a progressão da resistência, atualmente encontram-se valores mais elevados na quantidade de cepas resistentes a antimicrobianos, nota-se que grupos como aminoglicosídeos e penicilinas dobraram seus valores, enquanto glicopeptídeos e fluoroquinolonas começaram a apresentar maior resistência, o que, ou não era registrado ou era quase nula no passado. Ainda, para os macrolídeos, é destacado um aumento exacerbado na resistência, chegando a mais de 80%, o que antes era pouco mais de 20%.

Ainda, quando comparado com outros estudos, é possível observar um certo padrão nos grupos que apresentam essa progressão mais evidenciada. Comparando com o trabalho realizado por Martins (2012), pode-se observar o aumento na resistência no grupo de penicilinas, carbapenêmicos, macrolídeos, aminoglicosídeos e agentes diversos.

Contrastando com o estudo de Andrade (2018), encontra-se a progressão na resistência aos antimicrobianos das classes de penicilinas, glicopeptídeos, macrolídeos e agentes diversos. Quando comparado ao trabalho realizado por Asadollahi e colaboradores (2018), observa-se o aumento da resistência a glicopeptídeos, macrolídeos e agentes diversos.

Tal contexto é muito preocupante, uma vez que antibióticos de grupos como carbapenêmicos, penicilinas, glicopeptídeos e macrolídeos sejam antibióticos muito usados e de grande força contra bactérias, comumente presentes no combate de infecções graves e, até mesmo, utilizados contra bactérias mais resistentes. A pouca suscetibilidade

a eles é preocupante e pode ser observado o aumento quando comparado antes e depois do período pandêmico, inferindo a consequência do uso desenfreado e inadequado de tais drogas durante a pandemia de COVID-19.

5. Conclusão

A progressão acerca da resistência bacteriana fica clara quando os resultados do período pré-pandêmico e pós-pandêmico são analisados, existe uma crescente resistência de *Enterococcus* para os antibióticos, principalmente aos grupos de macrolídeos, aminoglicosídeos, glicopeptídeos e agentes diversos, destacando o impacto do uso inadequado de antimicrobianos. A busca incessante por uma solução, atrelada a desinformação e negligência, durante a pandemia de COVID-19 comprometeu a eficácia dos antibióticos, tornando as bactérias mais resistentes e expondo a população ao contato com tais microrganismos.

Ainda, é possível observar que existe uma contaminação crônica por bactérias *Enterococcus* nas praias de São Vicente, as quais apresentam um quadro elevado de resistência, principalmente a estreptomicina e azitromicina, destacando a precariedade do tratamento de esgoto e efluentes e do monitoramento da qualidade de água. A população que entra em contato com as praias do município está susceptível a tais bactérias e as inúmeras complicações causadas por elas, evidenciando a negligência de órgãos públicos como a Prefeitura de São Vicente e a CETESB acerca do bem estar da população.

Portanto, torna-se evidente a importância da microbiologia, seu estudo e sua aplicabilidade na sociedade, é de extrema significância a atenção para com os microrganismos, a fim de evitar situações de calamidade pública e cuidar do bem estar da população. O uso inadequado de drogas como os antibióticos é muito prejudicial, comprometendo sua eficácia e selecionando e disseminando bactérias resistentes, assim, é imprescindível o uso correto de tais drogas e um melhor manejo de tratamento e avaliação de qualidade de água, a fim de evitar uma contínua progressão de resistência bacteriana e melhorar as condições de bem estar da população.

Referências

- ANDRADE, Samir de Deus Elian. Caracterização fenotípica e genotípica de amostras clínicas e indígenas de *Enterococcus* isoladas de seres humanos: Diversidade, virulência e resistência a drogas antimicrobianas. 2018.
- APHA (2012). Standard Methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, America Water Works Association, Water Environmental Federation, 22nd ed. Washington.
- ASADOLLAHI, P. et al. Rise of antibiotic resistance in clinical enterococcal isolates during 2001–2016 in Iran: a review. **New microbes and new infections**, v. 26, p. 92-99, 2018.
- BILA, Daniele Maia; DEZOTTI, Márcia. Fármacos no meio ambiente. *Química nova*, v. 26, p. 523-530, 2003.
- BIRD, Eric. Coastal Geomorphology: An Introduction. Second Edition. Wiley. 2008.
- BONILLA, Tonya D. et al. Prevalence and distribution of fecal indicator organisms in South Florida beach sand and preliminary assessment of health effects associated with beach sand exposure. **Marine pollution bulletin**, v. 54, n. 9, p. 1472-1482, 2007.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Resoluções e outros atos. CONAMA no 274, de 29 de novembro de 2000. Define os critérios de balneabilidade em águas brasileiras.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Resoluções e outros atos. CONAMA no 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.
- Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, BRCAST. Método de discodifusão para teste de sensibilidade aos antimicrobianos do BrCAST- EUCAST. Versão 10.0. janeiro de 2023.
- CARDENAS, Martha Consuelo Vizcardo. Eficacia antibacteriana de los compuestos de hidróxido de calcio con levofloxacino e hidróxido de calcio con Azitromicina sobre *Enterococcus Faecalis*, Arequipa. 2019. 2020.
- CETESB (São Paulo). 2020. Relatório de qualidade das águas litorâneas do Estado de São Paulo: balneabilidade das praias 2020.
- COSTA, Jean Antunes. Tendências na temperatura da superfície do mar e precipitação na América do Sul sob aspectos relativos ao aquecimento global e à variabilidade de baixa frequência. 2023.
- SILVA, Aridson Erick Ferreira; JUNIOR, Omero Martins Rodrigues. Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado dos carbapenêmicos meropenem e imipenem: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, p. e44711730195-e44711730195, 2022.

DUARTE, Daniel J.; OLDENKAMP, Rik; RAGAS, Ad M.J. Modelling environmental antibiotic-resistance gene abundance: a meta-analysis. **Science Of The Total Environment**, [S.L.], v. 659, p. 335-341, abr. 2019. Elsevier BV.

FARIA, João. Efeitos da acidificação oceânica: um laboratório natural dos Açores. **Açoriano Oriental| Açormédia**, p. 12-13, 2023.

FERNANDES, Luna Guimarães; SAN SOLO, Davis Gruber. Percepção ambiental dos moradores da cidade de São Vicente sobre os resíduos sólidos na Praia do Gonzaguinha, SP, Brasil. *Revista de Gestão Costeira Integrada-Journal of Integrated Coastal Zone Management*, v. 13, n. 3, p. 379-389, 2013.

FERRÃO, J; PINTO, H; CALDAS, J. M. C; CARMO, R. M. Vulnerabilidades Territoriais, Pandemia e Emprego: Uma Análise Exploratória de Perfis Socioeconômicos Municipais e Impactos da COVID-19 em Portugal. **Revista Portuguesa de Estudos Regionais**, nº 63 2023, 161-182. 2022.

FISHER, K; PHILLIPS, C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology* 155: 1749-1757. 2009.

FREIRES, M. S; JUNIOR, O. M. R. Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado da azitromicina frente a Covid-19: uma revisão integrativa. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 1, e31611125035, 2022.

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. 2023.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA DO BRASIL – INMET. Normais Climatológicas (1961/1990). Brasília - DF, 1992

IVERSEN, Aina; KÜHN, Inger; RAHMAN, Mokhlasur; FRANKLIN, Anders; BURMAN, Lars G.; OLSSON-LILJEQUIST, Barbro; TORELL, Erik; MÖLLBY, Roland. Evidence for transmission between humans and the environment of a nosocomial strain of *Enterococcus faecium*. **Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 55-59, 20 nov. 2004. Wiley.

LEAL, Washington de Souza; MELO, Delizete Nascimento Alves; SILVA, Fillipe Cássio Souza; NAZARÉ, Kelvin Alves; RODRIGUES, Bruna Talia Ferreira; FERNANDES, Ester Louzada; ARAÓJO, Maria Eloisa da Silva; MARTINS, Junia Lara; FREITAS, Lorrán Miranda Andrade de. ANÁLISE DA AUTOMEDICAÇÃO DURANTE A PANDEMIA DO NOVO CORONAVÍRUS: um olhar sobre a azitromicina. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, [S.L.], v. 7, n. 8, p. 580-592, 31 ago. 2021. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*.

LUPRANO, Maria Laura et al. Antibiotic resistance genes fate and removal by a technological treatment solution for water reuse in agriculture. *Science of the Total Environment*, v. 571, p. 809-818, 2016.

MARTINS, Ana Filipa Macedo Magalhães. **Prevalência de resistência a antimicrobianos em isolados ambientais de *Escherichia coli* e enterococos**. 2012. Dissertação de Mestrado. Instituto Politécnico do Porto (Portugal).

MOSCHETTO, F. A. Estudo de duas populações do Crustáceo *Callichirus major* (SAY, 1818): Caracterização dos indivíduos da Praia de Barequeçaba, São Sebastião, SP, e da Praia do Itararé, São Vicente, SP. *Unisanta BioScience*, v. 3, p. 143-147, 2014.

NASCIMENTO, Wellington do. Qualidade da água e comunidade zooplancônica, praia do ideal, Fortaleza/CE. 2023.

NOGUEIRA, Hadison Santos et al. Antibacterianos: principais classes, mecanismos de ação e resistência. **Revista unimontes científica**, v. 18, n. 2, p. 96-108, 2016.

OLIVEIRA, Ana Julia Fernandes Cardoso de; PINHATA, Juliana Maira Watanabe. Antimicrobial resistance and species composition of *Enterococcus* spp. isolated from waters and sands of marine recreational beaches in Southeastern Brazil. *Water Research*, [S.L.], v. 42, n. 8-9, p. 2242-2250, abr. 2008. Elsevier BV.

PINTO, Aline Bartelochi; PEREIRA, Cristina Rocha; DE OLIVEIRA, Ana Júlia Fernandes Cardoso. Densidade de *Enterococcus* sp em águas recreacionais e areias de praias do município de São Vicente-SP, Brasil e sua relação com parâmetros abióticos. 2012.

ROCHA, Diego Pessoa et al. Coordenação de metais a antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana. **Química Nova**, v. 34, p. 111-118, 2011.

SANTOS, Lucas David Rodrigues dos. **Caracterização molecular de isolados ambientais de *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium***. 2021. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SILVA, L. O. P; ALVES, E. A; NOGUEIRA, J. M. R. Consequências do uso indiscriminado de antimicrobianos durante a pandemia de COVID-19. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 2, p. 10381-10397, 2022.

SILVA, L.O.P; NOGUEIRA, J.M.R. Uso indiscriminado de antibióticos durante a pandemia: o aumento da resistência bacteriana pós-COVID-19. **RBACRevista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 53, p. 2, 2021b.

SILVA, Willian Campos. Avaliação da Contaminação na Baía de Vitória Utilizando Bioindicadores e Parâmetros Físico-Químicos. 2024.

VICARI, Nathália Grosbelli et al. Estratégias para controle de infecção hospitalar causada por *Enterococcus* Vancomicina-resistentes: uma revisão integrativa. **Rev. enferm. UFPE on line**, p. [1-20], 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO Bacterial Priority Pathogens List: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. Genebra. World Health Organization. 2024.

ZAGHLOUL, E. H. et al. Probiotic Potential of the Marine Isolate *Enterococcus faecium* EA9 and In Vivo Evaluation of Its Antisepsis Action in Rats. *Mar. Drugs*, 21, 45. 2023.

ZAMPIERI, Bruna Del Busso et al. Comparação de densidade e resistência bacterianas em diferentes compartimentos de praia: a água deve ser nossa principal preocupação. **O Mundo da Saúde**, v. 40, n. A, p. 461-482, 2017.

PARECER FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Discente: CAIO HENRIQUE DE OLIVEIRA LEITE

Título: "ANÁLISE DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS EM BACTÉRIAS DO GÊNERO ENTEROCOCCUS PRESENTES EM PRAIAS RECREACIONAIS DO MUNICÍPIO DE SÃO VICENTE (SP) PÓS-PANDEMIA DE COVID-19"

Orientador: Profa. Dra. Ana Julia Fernandes

Curso/Habilitação: Bacharelado em Ciências Biológicas/Biologia Marinha

COMISSÃO EXAMINADORA	CONCEITO
Profa. Dra. Ana Julia Fernandes	A
MSC. José Augusto de Souza	A

PARECER:

CONCEITO FINAL:

A Comissão Examinadora abaixo assinada conclui que o discente **Caio Henrique de Oliveira Leite** obteve o seguinte conceito:



APROVADO



REPROVADO

São Vicente, 03 de dezembro de 2024.


Profa. Dra. Ana Julia Fernandes


MSC. José Augusto de Souza