UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências
Câmpus do Litoral Paulista (CLP)

Programa de Desenvolvimento da Pós-Graduação (PDPG) Pós-Doutorado Estratégico
Relatório Final (01/03/2024 a 28/02/2026)

Projeto: 88887691094/2022-00

Diversidade Bacteriana, qualidade microbiológica e ocorrência de cepas resistentes a antibióticos nas águas da Baía de Santos até o Parque Estadual Marinho Laje de Santos (PEMLS-SP)

Pós-Doutoranda: Roberta A. Merguizo Chinellato

Supervisora: Profª Dra. Ana Julia Fernandes

São Vicente - SP
2026

Título: Diversidade bacteriana, qualidade microbiologia e ocorrência de cepas resistentes a antibióticos, nas águas da Baía de Santos até o Parque Estadual Marinho Laje de Santos (PEMLS-SP).

Resumo:

A Baía de Santos - SP, sofre grandes impactos ambientais com descargas de esgoto doméstico, principalmente por apresentar estrutura sanitária inadequada e tratamento de efluentes ineficaz. Estes efluentes podem carrear bactérias patogênicas e contaminantes emergentes (antibióticos), sendo motivo de preocupação para a saúde pública e ambiental, além de gerar uma pressão seletiva aos microrganismos e criar resistomas. Entre o final de 2024 e início de 2025, houve a ocorrência de um surto de uma forte virose e infecções bacterianas na Baixada Santista. A situação sobrecarregou as unidades de saúde e acarretou em escassez de medicamentos para tratar os sintomas e em alguns casos resultou em internações hospitalares. Na coleta de 01/25 observou – se que as densidades foram bastante, superior ao limite determinado pela CONAMA 274/00, sendo 42,5% acima para *Escherichia coli* e 46,5% para *Enterococcus* sp., além de apresentar multirresistências a antibióticos em alguns pontos da coleta para ambas a cepas, trazendo preocupação por dificultar o tratamento de doenças, agravando quadros clínicos curáveis. A diversidade bacteriana foi maior nos pontos 1, 2, 3 e 4, possivelmente por conta do maior aporte de matéria orgânica proveniente do efluente doméstico despejado pelo Emissário Submarino. Foi possível observar que existe uma relação direta entre contaminação microbiológica (*E. coli* e *Entecococcus*), alta quantidade de matéria orgânica disponível e diversidade bacteriana.

1. Introdução

Os oceanos ocupam a maior parte do nosso planeta, cerca de 70% da superfície da Terra, e possui um papel de grande relevância nos processos que ocorrem na interface oceanoatmosfera (Cunliffe; Murrell, 2009). No entanto, estudos relacionados aos microrganismos são recentes e estima-se que menos de 1% do total existente é conhecido (Colweel, 1997).

Os microrganismos marinhos fazem parte dos grupos mais numerosos do planeta possuindo a maior diversidade genética existente, apesar disso, a maior parte das espécies permanece desconhecida (Whitman et al., 1998; Rosselló-Mora e Amann, 2001; Kirchman, 2008).

Os microrganismos apresentam ampla atividade metabólica nos oceanos. Os microrganismos são responsáveis por diversos processos biogeoquímicos em ambientes costeiros, a mudança na estrutura da comunidade pode ocasionar sérios desequilíbrios ecológicos, incluindo desbalanços nas ciclagens de nutrientes (Whitman et al., 1998; Azam e Woeden, 2004; Andrade et al., 2020).

Além disto, os microrganismos apresentam grande potencial econômico em diversas áreas como, produção de alimentos, medicações, compostos bioativos e no tratamento de áreas impactadas (biorremediação). Esse potencial biotecnológico proporciona um desenvolvimento econômico sustentável e por isso, é importante estudá-los e preservá-los (Colweel, 1997; Hunter-Cevera, 1998; Riviera; Paula; Souza, 2008).

As regiões costeiras do Brasil apresentam grandes concentrações humanas, cerca de 70% da população se encontra nas regiões costeiras (IBAMA, 1993; Fagundes et al., 2007; Zampieri, et al., 2017). A ocupação humana das regiões costeiras é a causa de diversos impactos ambientais, como por exemplo descarga de efluentes nos corpos hídricos, muitas vezes sem tratamento prévio (Dalfior, 2005; Buruaem et al., 2013).

Locais onde a coleta e o tratamento de esgoto são ineficientes, precários ou até mesmo inexistente, são extremamente susceptíveis à elevação da concentração de microrganismos como bactérias, vírus e protozoários, incluindo organismos patogênicos (Oliveira, 2009), além de contaminantes emergentes, tais como antibióticos, expondo os usuários destas áreas ao risco de contrair diversas doenças (Olivieri 1982; Who, 1998; Hirsch, 1999; Islam & Tanaka, 2004), assim como prejuízos ao meio ambiente.

Os sistemas de tratamentos de efluentes domésticos não são preparados para eliminar substâncias, como os contaminantes emergentes, especialmente na zona costeira,

onde poucas estações de tratamento de esgoto (ETE) realizam tratamento secundário (Pereira et al., 2016).

Muitas áreas costeiras ao redor do mundo, têm sofrido danos por causa da poluição (Islam & Tanaka, 2004). O Ecossistema marinho apresenta grande importância socioeconômica devido aos seus possíveis usos (*e.g.* pesca e turismo) e elevada importância ambiental, sendo de suma importância o controle da poluição aquática, deve ser considerado como primeira necessidade, para a conservação ambiental e dos recursos aquáticos (Oliveira, 2009; Almeida et al., 2012).

O Sistema Estuarino de Santos-São Vicente sofre influência de diversas fontes poluidoras de origem antropogênica (Schepis et al., 2016). O município de Santos possui 95% dos domicílios conectados à rede coletora do sistema de esgoto. Outros contaminantes encontrados na região têm origem na indústria (organoclorados e metais pesados) e no Porto de Santos, maior porto em movimento da América Latina e, embora sofra com as pressões antrópicas locais, também é uma importante estância balneária (Lamparelli et al., 2001).

O município de Santos se enquadra nesse aspecto e a perda de biodiversidade costeira está intimamente relacionada com a descarga poluidora, que nesse caso, é oriunda de emissário submarino (Figura 1), que apresenta deficiências de disposição e tamanho, tendo apenas 4,5 km de comprimento. (Instituto Trata Brasil, 2023; Fontes et al., 2019).



Figura 1: Disposição e tamanho do Emissário submarino de Santos.

Há que se considerar também o transporte dos efluentes pelos emissários submarinos, que segundo o Diagnóstico Participativo do Processo de Elaboração do Plano de Manejo das APAs Marinhas (SÃO PAULO, 2014), tem trazido alguns impactos devido ao seu descarte nas áreas da APAM Litoral Centro. Além disso, o estudo aponta que a região tem sido impactada por outras atividades poluidoras, entre elas, o descarte de esgoto das embarcações atracadas no Porto (Plano de Manejo – PEMLS, 2018).

O Parque Estadual Marinho da Laje de Santos (PEMLS) foi criado por decreto em 1993 (Decreto Nº 37537, SÃO PAULO, 1993), sendo a primeira unidade de conservação marinha do Estado de São Paulo. Sua área retangular de 5.000 ha contém uma variedade de marinhos ecossistemas, incluindo a Ilha da Laje de Santos e outros afloramentos rochosos e rochas submersas (Fey et al., 2016).

O PEMLS é ambiente propício para a conservação de peixes de passagem e recifais, que torna local de grande diversidade biológica, além de ser ponto de abrigo, reprodução de aves marinhas é uma região de alto valor científico (Plano de Manejo – PEMLS, 2018).

A área do PEMLS é restrita para passagem de embarcações, pesca e turismo no geral. Porém, fundeio das embarcações (Figura 2), conforme as marés leva diretamente para o PEMLS, os descartes e manejo inadequados das embarcações.

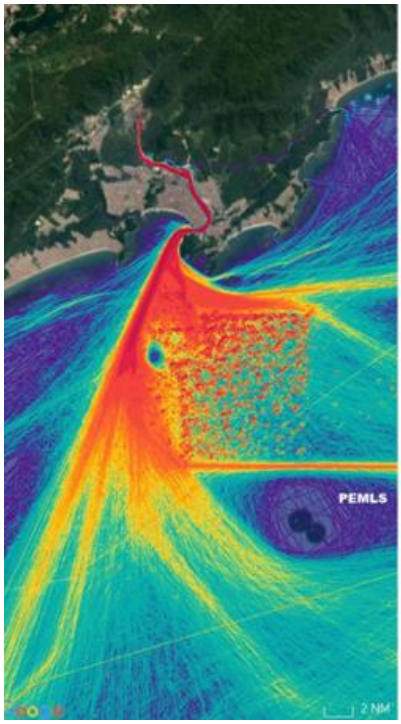


Figura 2: Imagem do fundeio e movimentação dos navios para o Porto de Santos - 2021. Fonte: Programa: "Density Maps". *MarineTraffic – Global Ship Tracking Intelligence*.

O impacto ambiental causado pelo fundeio é proveniente das embarcações, a poluição se dá pelo manejo e descarte inadequado de resíduos oleosos de porão, casa de máquinas, da troca de óleo, limpeza de peças de motor e outros componentes; contaminação da água por tintas tóxicas e anti-incrustantes; drenagem de esgoto sanitário

para o mar; descarte inadequado de resíduos sólidos; contaminação da água por produtos de limpeza (Plano de Manejo – PEMLS, 2018).

Em 2018 foi realizado um plano de manejo do Parque Estadual Marinho Laje de Santos, onde foram avaliados os meios bióticos (plâncton, ictiofauna, elasmobrânquios, quelônios, avifauna, mastofauna e comunidades bentônicas) e físico (qualidade físico-química da água, e dos sedimentos e circulação hidrodinâmica) do Parque. No entanto nenhuma avaliação da diversidade ou da qualidade microbiológica foi realizada.

Para avaliação da qualidade microbiológica da água, são utilizadas bactérias indicadoras de contaminação fecal, como a *Escherichia coli* e as bactérias do grupo *Enterococcus*, conforme resolução 274/00 do CONAMA (CONAMA, 2000).

A *Escherichia coli*, pertence à Família *Enterobacter*, sendo exclusivamente uma bactéria habitante do trato gastrointestinal de animais homeotermos diversos, especialmente mamíferos, sendo a bactéria utilizada para avaliar a qualidade ambiental, especialmente de ambientes de água doce (Davin-Regli et al., 2019).

O grupo *Enterococcus* spp. também é associado ao trato gastrointestinal de animais homeotermos, sendo consideado bioindicadores ideais para águas salinas por crescerem em temperaturas entre 10ºC e 45ºC, em na presença de 6.5% NaCl e pH 9.6 (Byappanahalli et al., 2012).

A contaminação por microrganismos, principalmente por bactérias, acarreta em sérios riscos ao ambiente, aos recursos, à vida marinha e à saúde pública (Almeida et al., 2012).

Microrganismos patógenos já foram encontrados em diversos mamíferos marinhos (*e.g.* cetáceos e pinípedes) (Grillo, et al., 2001), em trato respiratório de aves marinhas da região da Baixada Santista (Zampieri et. al., 2015) e em recursos pesqueiros como como bivalves, uma vez que são organismos filtradores e podem concentrar elevadas densidades de compostos químicos (fármacos) e microrganismos em seus tecidos, incluindo microrganismos resistentes a substâncias antimicrobianas (Dame, 1996; Mignani et al., 2013; Ballestreos et al., 2016; Doi, 2018).

A existência de bactérias resistentes, em ambientes aquáticos é preocupante uma vez que as bactérias com resistência a certos antibióticos sobrevivem em ambientes aquáticos seletivos, se multiplicam e participam de eventos de mutação e/ou transferência de genes intra ou interespecífica (Berger et al., 2002; Alonso et al., 2001; Andrade et al., 2015; Zampieri et al., 2017; Pavez et al., 2018; Andrade e al., 2020).

Mundialmente, a resistência aos antibióticos tornou-se uma grande preocupação,

sendo considerado pela Organização Mundial da Saúde como uma das maiores ameaças à saúde pública global, segurança alimentar e ao desenvolvimento (Nordmann, et al., 2012; Who, 2012). A presença de antibióticos em corpos d'água (rios, córregos de maré, mares) e sedimentos como contaminante ambiental, é uma preocupação de cientistas pelo mundo, uma vez que cepas multirresistentes de *E. coli* e *Enterococcus* sp selecionados no meio ambiente podem transmitir os genes de resistência para outros tipos de bactérias (Kolm et al., 2018; Proia et al., 2018).

Desta maneira, há necessidade de realizar cuidadosamente monitoramento de ambientes aquáticos, utilizando a densidade de bactérias indicadoras de poluição fecal (FIB), dentre elas estão a *E. coli* e o *Enterococcus* spp. e a resistência a antibióticos (Souto et al., 2015; Kelly et al., 2018), sendo assim podendo compreender sua possível relação com fatores ambientais e associados à diversidade do ambiente.

Objetivos

De maneira geral o objetivo do presente projeto é conhecer a diversidade bacteriana, a qualidade microbiológica e a ocorrência de cepas bacterianas resistentes a antibióticos nas águas da Baía de Santos SP- até o Parque Estadual Marinho Laje de Santos (PEMLS), e relacionar sua ocorrência à presença de contaminantes emergentes (antibióticos) na área de estudo.

Objetivos específicos

- Caracterizar as áreas de estudo em relação aos fatores abióticos ambientais;
- Analisar diversidade bacteriana da água superficial na área de estudo, através de metagenômica, presentes nas áreas de estudo;
- Avaliar a qualidade microbiológica das águas através da determinação das densidades de *Escherichia coli e Enterococcus* sp.;
- Determinar a ocorrência de cepas bacterianas resistentes aos antibióticos mais comumente prescritos nos tratamentos de infecções;
- Identificar e quantificar contaminantes emergentes, principalmente fármacos, tais como antibióticos na água superficial da baía de Santos e do Parque Estadual Marinho Laje de Santos.
- A relação entre Contaminação por esgotos domésticos x bactérias autóctones x presença de contaminantes emergentes x ocorrência de bactérias resistentes.

2. *Materiais e Métodos*

2.1 Área de estudo

A Baía de Santos apresenta orientação para o sul e é exposta a ação de ondas originadas pelos sistemas frontais. A Baía de Santos é corpo receptor das águas do estuário e dos efluentes de esgotos dos municípios de Santos e São Vicente, estando limitada em suas laterais por costões rochosos com algumas pequenas praias (Farinnaccio et al., 2009).

Outro fator que influencia bastante esta área de estudo, e a presença do Emissário Submarino de Santos, que opera desde 1978, servindo aos municípios de Santos e São Vicente, e que é uma fonte de contaminação para a área, uma vez que o esgoto não é tratado (Occhipinti, 1972; Rachid, 2002; Moser, 2002; Abessa et al., 2005). Deste modo, um dos pontos do litoral paulista mais sujeito a contaminação bacteriológica (Henriques et al., 2000).

As correntes da camada superficial (0 a 2m de profundidade), mesmo em marés enchentes, dirigem-se, na maioria do tempo, para fora da baía em direção ao mar aberto. Na maré vazante, as correntes se dirigem para fora da baía em mais de 75% das ocorrências. Quando a maré é enchente, as correntes convergem para as praias de Santos e em direção aos estuários (Mandaji et al. 2008).

O Parque Estadual Marinho Laje de Santos (PEMLS), é formado por costões rochosos e formações coralíneas, ambiente propício para a conservação de peixes de passagem e recifais, que o torna local de grande diversidade biológica, além de ser ponto de abrigo e reprodução de aves marinhas (Plano de Manejo – PEMLS, 2018).

O Diagnóstico Participativo da APA Marinha Litoral Centro (SÃO PAULO, 2014) identificou o Parque Estadual Marinho da Laje de Santos como área crítica, devido à ocorrência de pesca amadora e subaquática que conflitam com a atividade de mergulho e os objetivos de conservação da UC, além de potencializar a ameaça à sustentabilidade do ecossistema marinho (Plano de Manejo – PEMLS, 2018).

2.2 Coleta e Processamento

Amostras de água foram realizadas 2 coletas, sendo estas realizadas em diferentes correntes marítimas, para uma melhor avaliação.

As coletas foram realizadas em 10 diferentes pontos distribuídos do emissário submarino de Santos até ao Parque da Laje de Santos, conforme Figura 3.

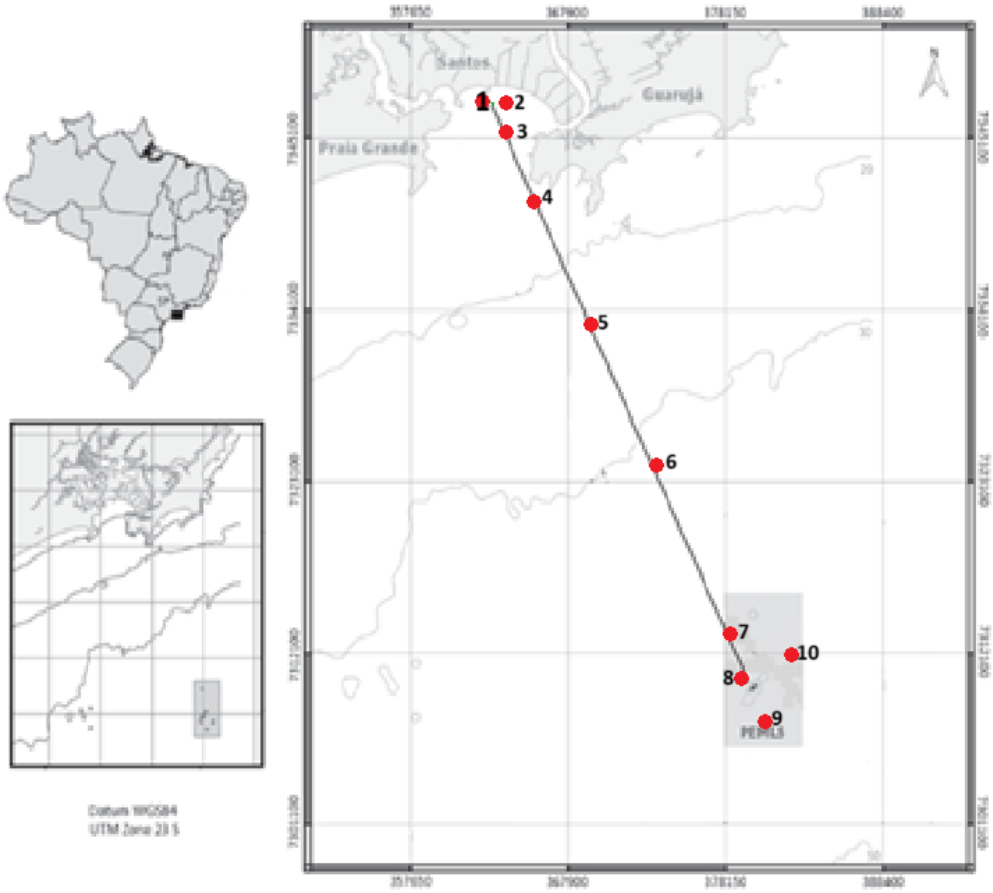


Figura 3: Os pontos de coleta foram distribuídos ao longo do caminho. **Ponto 1**: Ilha Urubequeçaba, **Ponto 2**: Meio do Emissário, **Ponto 3**: Saida do Emissário, **Ponto 4**: Saida da Baía, **Ponto 5**: Caminho para o Parque Laje de Santos (Fundeio), **Ponto 6**: Caminho para o Parque Laje de Santos (Fundeio), **Ponto 7**: Entrada na área delimitada do Parque Laje de Santos, **Ponto 8**: Portinho (PEMLS), **Ponto 9**: Paredão Face Sul (PEMLS), **Ponto 10**: Boca da Baleia (PEMLS).

Os pontos serão georeferenciados com o auxílio de um equipamento de GPS (GPSMAP 70, Garmin) (Tabela 1).

Tabela 1: Coordenadas georreferenciadas dos pontos de coleta de água. **Ponto 1**: Ilha Urubequeçaba, **Ponto 2**: Meio do Emissário, **Ponto 3:** Saida do Emissário, **Ponto 4**: Saida da Baía, **Ponto 5**: Caminho para o Parque Laje de Santos (Fundeio), **Ponto 6**: Caminho para o Parque Laje de Santos (Fundeio), **Ponto 7:** Entrada na área delimitada do Parque Laje de Santos, **Ponto 8:** Portinho (PEMLS), **Ponto 9:** Paredão Face Sul (PEMLS), **Ponto 10:** Boca da Baleia (PEMLS).

Dados GPS			
Descrição Ponto	**Pontos**	**Latitude**	**Longitude**
Urubuqueçaba	**1**	-23.977.091	-46.350.444
1/2 Emissário	**2**	-23.995.216	-46.350.579
Saída Emissário	**3**	-24.004.837	-46.350.117
Saída Baía	**4**	-24.045.244	-46.349.930
Meio caminho	**5**	-24.172.328	-46.270.253
Meio caminho (fundeio)	**6**	-24.224.990	-46.239.682
Entrada área Parque	**7**	-24.285.864	-46.199.332
Portinho - Parque	**8**	-24.319.036	-46.182.953
Paredão Face Sul - Parque	**9**	-24.324.669	-46.173.763
Boca da Baleia - Parque	**10**	-24.297.093	-46.176.926

Amostras de água foram coletadas em cada ponto de amostragem, com a profundidade de 1m, com frascos plásticos estéreis e para análises de Carbono Orgânico Total (TOC) e Demanda Bioquímica de Oxigênio, foram utilizados frascos de vidro âmbar.As amostras foram mantidas sob refrigeração (4 ^{o}C) até seu processamento no laboratório de Microbiologia Marinha e Ambiental (Micromar – UNESP/IB CLP).

2.3 Fatores Abióticos

Nos pontos de coleta foram aferidos por sonda, os fatores abióticos, temperatura (^{o}C), pH, oxigênio dissolvido (OD), turbidez (NTU), salinidade, condutividade e profundidade. Para os parâmetros de Carbono Orgânico Total (TOC) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO).

Dados de precipitação, para a determinação do volume de chuva acumulado em milímetros nos cinco dias antecedentes a data de cada coleta utilizando os dados do pluviômetro mais próximo das áreas de coleta pelo site oficial do CEMADEN (Centro Nacional de Monitoramento e Alertas de Desastres Naturais) e o site oficial CPTEC (Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos) / INPE (Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais) e SOMAR Meteorologia.

2.4 Qualidade Microbiológica

2.4.1 Técnica Membrana Filtrante

A avaliação da qualidade microbiológica foi realizada pela Técnica de Membrana Filtrante (APHA, 2022), em membranas de nitrato de celulose de 47mm de diâmetro e 0,45µm de porosidade (Figura 4). As amostras de água, foram avaliadas as presenças e densidades de *Escherichia coli* e *Enterococcus* sp. conforme legislação vigente (CONAMA, 2000).

Foram filtrados os volumes de 10ml, 5ml e 1ml para as amostras de água coletadas na Baía de Santos e 50ml, 25ml e 10ml para as amostras de água coletadas em mar aberto.



Figura 1: Kit de filtração utilizado para realizar a técnica de membrana filtrante. Acervo de Fotos do Laboratorio de Microbiologia Marinha (Micromar), UNESP – CLP.

2.4.2 Escherichia coli

Para as análises de *E. coli,* após a filtração, as membranas foram transferidas para placas Milipore®, contendo Ágar mTEC e incubadas a 36ºC (±1ºC) por 2 horas, e posteriormente incubadas a 44,5ºC (±1ºC) por 22 horas em banho maria (APHA, 2022). Após o período de incubação, as colônias foram submetidas ao teste de confirmação com substrato de uréia e vermelho de fenol (2%). As colônias que se apresentaram coloração amarela, serão consideradas positivas para *Escherichia coli*. Os resultados das densidades foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias em 100ml (UFC/100ml).

Colônias características de *E. coli* serão isoladas em Ágar MacConkey, utilizando a técnica de esgotamento, até obter colônias puras. As placas contendo Ágar MacConkey foram incubadas em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas.

2.4.3 Enterococcus sp.

Para as análises de *Enterococcus* sp., após a filtração as membranas foram transferidas para placas Milipore® contendo Ágar mEnterococcus, e incubadas a 37º

(±1ºC) por 48 horas. As colônias de coloração vermelho-amarronzada foram consideradas positivas para bactérias do gênero *Enterococcus*, e submetidas ao teste confirmatório em Caldo Enterococcosel. Para os testes confirmatórios, as cepas foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 3mL de Caldo Enterococcosel, incubadas a 35ºC (±1º) por 24 horas, sendo considerados positivos os tubos que apresentarem enegrecimento. Os resultados das densidades encontradas foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias em 100ml (UFC/100ml).

As colônias confirmadas serão isoladas em Ágar Nutriente, utilizando a técnica de esgotamento, até obter colônias puras. As placas contendo Ágar Nutriente foram incubadas em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas, seguindo as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2023) e conforme *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST) *guidelines* (BrCAST, 2019), de acordo com Portaria nº 64 do Ministério da Saúde (Brasil, 2018).

2.4.4 Teste de Suceptibilidade

Para o teste de suceptibilidade a antimicrobianos será utilizado o método de disco-difusão *(Kirby-Bauer*), seguindo as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2023) e conforme *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST) *guidelines* (BrCAST, 2025), de acordo com Portaria nº 64 do Ministério da Saúde (Brasil, 2018). Com o auxílio de swabs estéreis, as colônias selecionadas foram utilizadas para a preparação de suspensões com turvação de 0,5 na escala MacFarland.

As turvações foram semeadas em placas de Petri (ø 120mm) contendo Ágar Mueller Hilton, deixando-se repousar por 15 minutos para o posterior posicionamento dos discos contendo os antibióticos. As placas foram incubadas por 18 horas a 37ºC (±} 1ºC).

Serão verificados os perfis de sensibilidade para os seguintes antibióticos, levofloxacina (LEV 05µg), ciprofloxacina (CIP 05µg), ampicilina (AMP 10µg), imipenem (IPM 10µg), gentamicina (GEN 10µg), azitromicina (AZI 15µg), amoxicilina + ácido clavulânico (AMC 30µg), cefalexina (CFE 30µg), vancomicina (VAN 30µg) nitrofurantoína (NIT 300µg). Os halos serão medidos em milímetros (mm) e a sensibilidade será avaliada conforme normativa BrCAST (BrCAST, 2025), sendo os resultados expressos em: sensível (S) ou resistente (R).

2.4.5 Análises Moleculares da Diversidade Bacteriana

Para avaliar a diversidade bacteriana, foi realizado análises de metagenômica foram coletados 200ml de água de cada ponto da segunda coleta (04/08/2025). As amostras foram realizadas em com frascos plásticos estéreis, serão mantidas sob refrigeração (4 ^{o}C) e levados ao laboratório de Microbiologia Marinha e Ambiental (Micromar – UNESP/IB CLP). As amostras foram mantidas congeladas e posteriormente levadas ao laboratório (Neoprospecta Microbiome Technologies – Sob a responsabilidade do Pesquisador Doutor Leonardo Schultz).

As análises da diversidade bacteriana presente na amostra de água, foram desenvolvidas através de técnica de Sequenciamento de Nova Geração (NGS), utilizando o Ilumina. Esta abordagem constou fundamentalmente dos seguintes passos:

(1) Extração de DNA de um conjunto de amostras;

(2) Amplificação da região alvo de aproximadamente 400 pares de bases (pb) usando a PCR, com um par de iniciadores (Primers) que tem como objetivo a informação das regiões conservadas em ambos os lados amplificados;

(3) Codificação dos Amplicons iniciais em sequências curtas;

(4) Combinação dos Amplicons iniciais em uma única execução de sequenciamento criando milhares de cópias daqueles fragmentos (Figura 5).

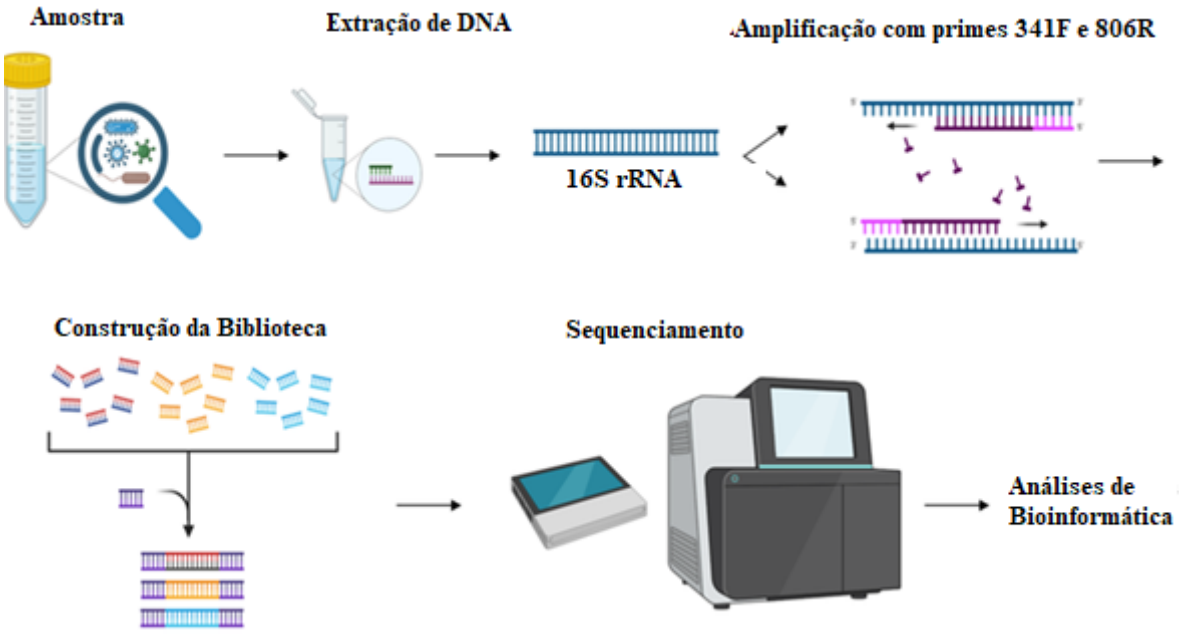


Figura 5: Fluxograma das fases das análises Metagenômicas, extração de DNA, Amplificação, Construção da Biblioteca, Sequenciamento e Análises de Bioinformática. Fonte: doi.org/10.3390/biomedicines11030827– adaptado pelo autor.

Após esses processos, o processamento de dados resultou em uma lista de abundâncias de táxons compostas individualmente pelas Unidades Taxonômicas Operacionais (UTOs) presentes em cada amostra.

Por meio do software Qiime2-Deblur (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) agrupou as sequências com 97% de identidade em Unidades Taxonômicas Operacionais (OTUs), fazendo a reconstrução das sequências biológicas exatas presentes na amostra, chamadas de Amplicon Sequence Variants (ASVs).

3. Resultados e Discussão

3.1 Fatores abióticos

Durante as coletas, os dados dos fatores abióticos como temperatura da água (Temp.Cº), pH, oxigênio dissolvido (OD), salinidade, turbidez e profundidade, foram aferidos *in situ* para cada ponto utilizando uma Sonda Multíparametros (Horiba U-50). Para os parâmetros de Carbono Orgânico Total (TOC) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), foram coletados 1 litro de água para cada análise e o resultado pode ser observado. As amostras de água são consideradas de classe 1, conforme CONAMA 274/2000.

Os valores dos fatores abióticos aferidos na coleta de verão estão na Tabela 2.

Tabela 2: Fatores abióticos (Temperatura – T(ºC); pH; Oxigênio Dissolvido (mg/l); Turbidez (NTU); Salinidade e profundidade (m)), aferidos durante a coleta de 06/01/2025. Onde os pontos são descritos; **P1:** Urubuqueçaba; **P2:** 1/2 Emissário; **P3:** Saída Emissário; **P4:** Saída Baía; **P5:** Meio Caminho; **P6:** Meio Caminho (fundeio); **P7:** Entrada Área Parque; **P8:** Portinho – Parque; **P9:** Paredão Face-Sul – Parque; **P10:** Boca da Baleia – Parque.

Coleta 06/01/2025						
Fatores abióticos						
Pontos	**T (°C)**	**pH**	**OD (m/l)**	**Turb (NTU)**	**Sal**	**Profundidade (m)**
1	24,73	7,30	9,12	2,10	31,0	0,6
2	25,10	7,92	7,89	1,0	30,8	0,6
3	24,84	8,01	7,87	6,1	31,3	1
4	25,24	7,96	8,64	0,4	31,5	1
5	25,65	8,05	8,36	0,0	32,1	1
6	25,45	8,06	8,68	0,3	32,4	1
7	25,50	8,08	8,28	0,0	32,6	1
8	25,40	8,06	7,72	0,0	32,7	1
9	25,47	8,08	8,55	1,8	32,6	1
10	25,45	8,10	8,65	0,0	32,7	1

Segundo CONAMA 430/2011, o lançamento de esgotos sanitários por meio de emissários submarinos deve atender aos padrões (Fatores Abióticos e Fatores Microbiológicos) da classe do corpo receptor, após o limite da zona de mistura e ao padrão de balneabilidade, de acordo com as normas e legislação vigentes. A legislação vigente é a CONAMA 357/05 para condições de qualidade de água salina, devem apresentar as seguintes condições e padrões, dos quais foram aferidos (Quadro 1).

Quadro 1: Padrões para Carbono Orgânico Total (TOC), Oxigênio Dissolvido (OD) e pH, determinados pela Resolução CONAMA 357/2005.

CONAMA 357/2005	
Carbono Orgânico Total (TOC)	até 3 mg/l
Oxigênio Dissolvido (OD)	não inferior a 6 mg/l
pH	6,5 a 8,5

Os valores dos parâmetros de Carbono Orgânico Total (TOC) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), estão expressos na Tabela 3.

Tabela 3: Resultado dos fatores abióticos, Carbono Orgânico Total (TOC – mg/l) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO – mg/l). O destaque em vermelho, se encontra acima do limite determinado pela CONAMA 357/05.

Coleta 06/01/2025		
Pontos	**TOC (mg/l)**	**DBO (mg/l)**
3	**3,99**	3
4	1,74	3
6	2,02	3
8	1,45	5
10	1,65	5

Na primeira coleta, que foi realizada no verão os valores para temperatura variou de 24 a 25ºC ao longo dos 10 pontos, a variação ficou dentro até 3ºC do corpo receptor e não ultrapassando a temperatura de 40 ºC, estabelecidos pela CONAMA 357/05.

Levando em consideração a Resolução CONAMA n° 357 de 2005, para os valores de pH, que indica a classificação de corpos de águas e suas diretrizes ambientais, o esperado é um pH de 5 a 9, ou seja, todos os pontos apresentam valor dentro do esperado.

O oxigênio dissolvido (OD), salinidade e turbidez se mostraram dentro do esperado para o corpo d`água avaliado, exceto para turbidez no ponto 3.

No Ponto 3 encontra se a saída do Emissário Submarino de Santos, o que justifica os valores elevados de turbidez e Carbono Orgânico (TOC). Apesar de turbidez não estar estipulado na legislação, o valor elevado de turbidez junto ao valor de Carbono Orgânico (TOC mg/L) acima do estabelecido pela legislação, indica um despejo maior de matéria orgânica, pelo Emissário Submarino.

O Carbono Orgânico (TOC) é o principal derivado da matéria orgânica, além de amônia e fosfato, a degradação dos compostos orgânicos libera nutrientes para o corpo hídrico, principalmente nitrogênio e fósforo, elevando as suas concentrações no meio (CETESB, 2021; Moraes, 2022).

A saída do emissário Submarino de Santos está localizada em área onde processos hidrodinâmicos são menos acentuados, que causa um acumulo de matéria orgânica.

Mesmo em água superficial, podê ser observado durante a coleta, os aspectos de odor e cor, o local apresentava um forte odor de efluente doméstico, havia presença de resíduos sólidos e presença de óleos e graxas, provenientes de fontes antrópicas, conforme determina CONAMA 357/05.

Nos cinco dias que antecederam a primeira coleta, houve um total de 31.8mm de precipitação acumulada (Tabela 4), causando um maior despejo de águas pluviais pelo emissário, que pode ter ocasionado aumento de matéria orgânica despejado e da turbidez no Ponto 3. Contudo, não houve interferência em fatores como pH, salinidade e OD.

Tabela 4: Valores de precipitação em mm entre os dias 01-06 de janeiro de 2025 e o valor acumulado e precipitação. Dados obtidos CEMADEN (Centro Nacional de Monitoramento e Alerta de Desastres Naturais).

Coleta 06/01/2025	
Precipitação (mm)	
01/01/2025	1,3
02/01/2025	0
03/01/2025	17,7
04/01/2025	1,9
05/01/2025	10,9
06/01/2025	0
Acumulado	**31,8**

Na segunda coleta os fatores abióticos foram mensurados no período de inverno, os valores não apresentam valores fora dos limites estabelecidos pela legislação (Tabela 5).

A temperatura apresenta uma variação de 6 ºC, comparada a coleta realizada na primeira coleta (verão), ficando sempre na faixa 19 ºC. A temperatura é indicada pela variável temperatura da superfície do mar (TSM), o que pode indicar variações mensais ou sazonais do clima global (Hernández, 2002), ou mesmo influência desde processos naturais como El Niño, estações e até mesmo por interferências antropogênicas (Costa, J. 2023).

Tabela 5: Fatores abióticos (Temperatura – T(ºC); pH; Oxigênio Dissolvido (mg/l); Turbidez (NTU); Salinidade e profundidade (m)), aferidos durante a coleta de 04/08/2025. Onde os pontos são descritos; **P1:** Urubuqueçaba; **P2:** 1/2 Emissário; **P3:** Saída Emissário; **P4:** Saída Baía; **P5:** Meio Caminho; **P6:** Meio Caminho (fundeio); **P7:** Entrada Área Parque; **P8:** Portinho – Parque; **P9:** Paredão Face-Sul – Parque; **P10:** Boca da Baleia – Parque.

Coleta 04/08/2025						
Fatores abióticos						
Pontos	**T (°C)**	**pH**	**OD (m/l)**	**Turb (NTU)**	**Sal**	**Profundidade (m)**
1	19,34	7,96	6,78	2,30	30,0	0,7
2	19,33	7,96	7,12	10,0	30,0	0,7
3	19,42	8,00	9,34	1,6	30,0	0,5
4	19,42	8,03	7,50	1,0	30,0	0,7
5	19,20	8,06	7,56	0,0	31,2	0,7
6	19,37	8,04	6,90	0,0	31,8	0,6
7	19,24	8,03	7,10	0,0	31,0	0,6
8	19,31	7,99	6,80	0,0	32,0	0,5
9	19,32	7,90	7,10	0,0	31,8	0,8
10	19,27	7,58	6,78	0,0	31,8	0,7

O ponto 2, apresentou um valor bastante elevado de turbidez, possivelmente devido a dinâmica de marés, a hidrodinâmica e a geomorfologia da Baía de Santos. Dias antes da coleta de agosto, houve um ciclone extratropical, deixando o mar bastante agitado na Baía de Santos.

A precipitação acumulada de 4.5mm (Tabela 6) não é suficiente para aumentar significativamente o despejo de águas fluviais e/ou alterar algum fator abiótico e a qualidade microbiológica da água, no entanto a movimentação de grandes volumes de água em direção ao continente pode ser responsável.

Tabela 6: Valores de precipitação em mm entre os dias 28 de julho a 03 de agosto de 2025 e o valor acumulado e precipitação. Dados obtidos CEMADEN (Centro Nacional de Monitoramento e Alerta de Desastres Naturais).

Coleta 04/08/2025	
Precipitação (mm)	
28/07/2025	4,5
29/07/2025	0
30/07/2025	0
31/07/2025	0
01/08/2025	0
02/08/2025	0
03/08/2025	0
Acumulado	**4,5**

Com o ciclo extratropical nos dias 28, 29, 30 e 31 de julho de 2025, houve

alterações nas variações de maré, alturas de ondas e velocidade dos ventos na Baía de Santos (Quadro 2 e 3).

Quadro 2: Parâmetros de ondas e ventos, aferidos durante o evento extremo de ciclone extratropical. Dados: O Núcleo de Pesquisas Hidrodinâmicas – UNISANTA.

Ciclone Extratropical				
Data	**Ondas (m)**	**Hora (h)**	**Ventos**	**Local**
29/07/2025	3,98	18:30	≈ 81,69	Baía de Santos
30/07/2025	3,07	07:30	≈ 81,69	Baía de Santos
31/07/2025	2,5	05:00		Baía de Santos

Quadro 3: Parâmetro de maré alta, aferidos durante o evento extremo de ciclone extratropical. Dados: O Núcleo de Pesquisas Hidrodinâmicas – UNISANTA.

Ciclone Extratropical			
Data	**Maré (m)**	**Hora (h)**	**Local**
29/07/2025	1,34	17:05	Baía de Santos
30/07/2025	1,84	04:45	Baía de Santos

Segundo o Instituto de Pesquisas Ambientais (IPA), os fortes ventos empurraram grandes volumes de água em direção ao continente, elevando o nível do mar e provocando ondas expressivas, mesmo sob condições de maré de quadratura.

Os impactos ambientais e urbanos causados pela passagem do ciclone são imediatos e graves, como erosão costeira e inundações costeiras como principais consequências, que podem causar destruição da orla, paralisação do Porto de Santos, interrupções de atividades econômicas e serviços essenciais nas áreas afetadas.

3.*2 Qualidade microbiológica*

Para a qualidade microbiológica foi realizada por meio da técnica de Membrana Filtrante (APHA, 2022) nas amostras de água, onde foram avaliadas as presenças e densidades de *Escherichia coli* e *Enterococcus* sp. conforme legislação vigente (CONAMA 274/2000), como demostrado no Quadro 4.

Quadro 4: Limites, em unidade formadora de colônia (UFC.), *Escherichia coli* por 100 ml de água e para *Enterococcus* por 100ml para cada categoria (Resolução CONAMA nº 274/2000) Fonte: CETESB, 2017 adaptado.

Categoria		***Escherichia coli* (UFC/100ml)**	***Enterococcus* (UFC/100ml)**
Própria	**Excelente**	até 200	até 25
	Muito Boa	até 400	até 50
	Satisfátoria	até 800	até 100
Imprópria	**Imprópria**	> 2000	> 400

Foram filtrados diferentes volumes de água, para as análises de *Escherichia coli* (Figura 6A) e *Enterococcus* sp. (Figura 6B), em ambas as coletas. Os resultados das densidades são expressos em Unidades Formadoras de Colônias em 100ml (UFC/100ml).

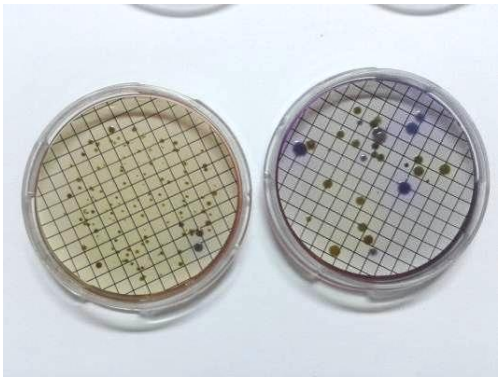
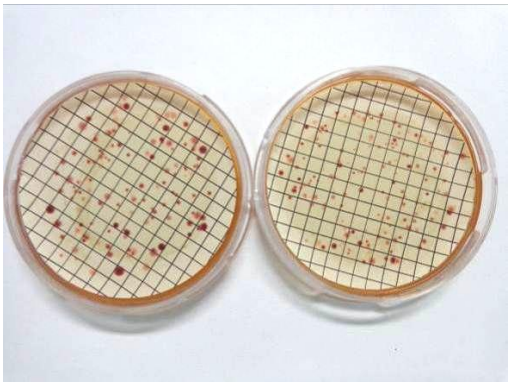
(A)  **(B)** 

Figura 6: 6A: Colônias de *Escherichia coli,* em meio de cultura Ágar mTEC; **6B**: Colônias de *Enterococcus* sp., em meio de cultura Ágar mEnterococcus.

A avaliação da qualidade microbiológica foi realizada em todos os 10 pontos, em ambas as coletas. Desta forma podendo observação o grau de contaminação na Baía de Santos, devido ao despejo do Emissário de Santos, assim como avaliar o grau de preservação da área do Parque Estadual Marinho Laje de Santos (Tabela 7).

Tabela 7: Resultado das densidades de *Escherichia coli* e *Enterococcus* sp., expressos em UFC/100ml. O destaque em vermelho no Ponto 3, se encontra como impróprio. Onde os pontos são descritos; **P1:** Urubuqueçaba; **P2:** 1/2 Emissário; **P3:** Saída Emissário; **P4:** Saída Baía; **P5:** Meio Caminho; **P6:** Meio Caminho (fundeio); **P7:** Entrada Área Parque; **P8:** Portinho – Parque; **P9:** Paredão Face-Sul – Parque; **P10:** Boca da Baleia – Parque.

Coleta 06/01/2025
*Coleta c/ Maré Enchente

Pontos	***Escherichia coli*** (UFC/100ml)	***Enterococcus* sp** (UFC/100ml)
1	40	10
2	700	100
3	80500	18600
4	12	10
5	6	6
6	1680	48
7	10	8
8	0	10
9	10	2
10	4	4

Na coleta realizada no dia 06/01/2025, nota se que no ponto 3 os valores de *E. coli* e *Enterococcus* sp. ultrapassa os valores estabelecidos pela legislação. Os valores encontrados são 42,5% acima para *E. coli* e de 46,5% para *Enterococcus* sp., do permitido pela legislação, além da alta densidade, a água apresentava forte cheiro, alta turbidez e alto teor de Carbono Orgânico Total (TOC).

O período que foi realizado a coleta o município recebe um grande número de turistas, devido ao período de verão e a proximidade com o feriado de Réveillon, o que acarreta um alto despejo de efluente doméstico. Durante a alta temporada o sistema de saneamento básico fica sobrecarregado (Muniz, 2022).

Segundo Subtil (2012) a região do ponto 2 e 3 é uma zona de mistura e uma região relativamente abrigada, o que acaba dificultando a circulação e dispersão dos efluentes para fora da Baía e de acordo com relatório da CETESB (2006), o lançamento de efluente pelo Emissário Submarino de Santos, não está sendo eficiente quanto à redução do número de microrganismos indicadores de contaminação fecal nas águas da Baía de Santos e nas praias do município, principalmente durante o período de verão.

O Emissário de Santos é antigo, mal dimensionado e possuir uma vazão média maior que os demais, estando localizado em uma área onde os processos hidrodinâmicos são menos acentuados que aqueles observados em Praia Grande, Guarujá e São Sebastião (Abessa et al. 2012).

A qualidade ambiental das praias está diretamente relacionada a capacidade e a eficiência dos serviços de saneamento básico, especialmente no que se refere ao tratamento de esgoto (Souza; Silva, 2015; Lescreck et al. 2016; Soares et al., 2022). Quando o aumento dos turistas não é acompanhado pela ampliação proporcional dos serviços de água e esgoto, ocorre uma sobrecarga no sistema, principalmente durante os períodos de alta temporada (Destro et al., 2020).

O ponto 6, se encontra fora da influência da Baía, é a região do fundeio do Porto de Santos, a alta densidade de *E. coli* e *Enterococcus* sp. no local, indica um despejo irregular de efluente por navio.

Na coleta de agosto em nenhum dos pontos a água foi considerada impropria ou tenha apresentado elevada densidade microbiológica (Tabela 8).

Tabela 8: Resultado das densidades de *Escherichia coli* e *Enterococcus* sp., expressos em UFC/100ml. Onde os pontos são descritos; **P1:** Urubuqueçaba; **P2:** 1/2 Emissário; **P3:** Saída Emissário; **P4:** Saída Baía; **P5:** Meio Caminho; **P6:** Meio Caminho (fundeio); **P7:** Entrada Área Parque; **P8:** Portinho – Parque; **P9:** Paredão Face-Sul – Parque; **P10:** Boca da Baleia – Parque.

Coleta 04-08-2025

*Coleta c/ Maré Vazante

Pontos	***Escherichia coli*** (UFC/100ml)	***Enterococcus*** (UFC/100ml)
1	20	40
2	20	20
3	20	40
4	136	40
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	136	4

As densidades encontradas na Baía (ponto 1 ao ponto 3), foram similares, devido a baixa da maré, houve uma redução da circulação de água dentro da Baía, distribuindo de maneira quase uniforme as densidades na região (Da Silva, 2025).

O ponto 4 apresenta densidade maior para *E. coli* em relação as densidades encontradas na Baía, a coleta foi realizada em maré vazante as correntes da camada superficial (0 a 2m de profundidade), se dirigem para fora da Baía em mais de 75% das ocorrências (Mandaji et al. 2008).

Em ambas as coletas, pode se observar que as densidades se apresentaram menor

a partir do ponto 4 até o PEMLS, uma vez que estes pontos estão localizados em mar aberto, o que facilita a dispersão dos efluentes.

No mar aberto, a dispersão dos efluentes é maior em comparação com a Baia, uma vez que as correntes marítimas evitam que as densidades se acumulem em um único local (Batista, Harari, 2016). Além das correntes marítimas, em mar aberto tem menor quantidade de nutrientes disponíveis em comparação a Baía, o que dificulta o acumulo de bactérias na região (Batista, Harari, 2016).

Desta forma é possível inferir que um redimensionamento (alongamento) do Emissário, iria influenciar na diluição e autodepuração evitando a recirculação na Baía.

3.3 Teste de Susceptibilidade

Os pontos de corte do halo inibitório para o teste de susceptibilidade estão indicados no Quadro 5.

Quadro 5: Pontos de corte do halo inibitório no método Kirby-Bauer, para os antibióticos IPM (10µg) – imipenem, LEV (5µg) – Levofloxacina, AZI (15µg) – azitromicina, VAN (30 µg) – vancomicina, CFE (30µg) – Cefalexina, CIP (5µg) – ciprofloxacina, AMP (10µg) – ampicilina, AMC (30 µg) – amoxicilina + ácido clavulânico, GEN (10µg) – gentamicina, e NIT (300µg) – nitrofurantoína.Fonte BrCast, 2025.

Medidas BrCast	**Sensível**	**Resistente**
IPM (10µg)	50 - 21	< 21
LEV (5µg)	15	< 15
AZI (15µg)	29	< 29
VAN (30µg)	12	< 12
CFE (30µg)	14	< 14
CIP (5µg)	15	< 15
AMP (10µg)	10	< 8
AMC (30µg)	10	< 9
GEN (10µg)	8	< 8
NIT (300µg)	15	< 15

Os valores de *E. coli* na primeira coleta demonstram (Tabela 9), que a Ampicilina, apenas a cepa do ponto 2 não apresentou resistência. O ponto 3, apesar de apresentar a Ciprofloraxina intermediário, foi considerado como resistente.

No ponto 3 as resistências são nos antibióticos AMP e CIP, já no ponto 7, dentro da área demarca do Parque Laje de Santos, apresentou Resistência a 4 dos 9 antibióticos testados. A presença de linhagens de *E. coli* resistentes a antimicrobianos é preocupante por dificultar o tratamento de doenças em animais e humanos, agravando os quadros clínicos curáveis (Mota et al., 2005).

O antibiótico que mais apresentou cepas resistentes foi a ampicilina (64,2%).

Tabela 9: Resultado do antibiograma na primeira coleta (06/01/25), mostrando o diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem. Verde – Sensível, Vermelho – Resistente, Azul – Não Avaliado para as cepas utilizadas. PC: Ponto de corte, halo acima dos valores considerar Sensível. NA: Não houve crescimento de cepa. Os antibióticos usados foram: AMC – amoxicilina + ácido clavulânico, AMP – ampicilina, AZI – azitromicina, CFE – Cefalexina, CIP – ciprofloxacina, GEN – gentamicina, IPM – imipenem, LEV - Levofloxacina e NIT – nitrofurantoína.

Coleta 06/01/2025									
Escherichia coli									
Pontos	**AMC**	**AMP**	**AZI**	**CFE**	**CIP**	**GEN**	**IMP**	**LEV**	**NIT**
1	20	0	19	15	32	19	28	26	21
2	23	20	18	18	29	18	29	28	23
3	19	0	19	17	23	18	28	24	22
4	24	11	14	24	32	20	31	27	19
5	24	10	14	22	28	19	28	26	19
6	26	12	15	25	32	22	30	30	23
7	0	0	12	0	26	19	23	25	11
8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
9	23	0	13	21	29	19	30	29	21
10	26	12	17	23	27	20	29	27	18
P.C.	**14**	**14**	**29**	**14**	**25**	**17**	**22**	**23**	**11**

Os resultados dos testes de suscetibilidade para as cepas de *Enterococcus*, podem ser observados na Tabela 10, foi possível observar multirresistência está presente em 5 dos 10 pontos analisados.

O que chama atenção é a Resistência ao antibiótico, IMP – Imipenem, a resistência a antimicrobianos carpabenêmicos é preocupante, uma vez que trata-se de uma classe de antibióticos muito potentes a atividade bacteriana (Da Silva et al. 2025). Vale resaltar que os pontos de corte para IMP no BRCAST, é apenas para a *E. faecalis*.

Tabela 10: Resultado do antibiograma, na primeira coleta (06/01/25), mostrando o diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem. Verde – Sensível, Vermelho – Resistente, Azul – Não Avaliado para as cepas utilizadas. PC: Ponto de corte, halo acima dos valores considerar Sensível. NA: Não houve crescimento de cepa. Os antibióticos usados foram: AMC – amoxicilina + ácido clavulânico, AMP – ampicilina, AZI – azitromicina, CIP – ciprofloxacina, GEN – gentamicina, IPM – imipenem, LEV – Levofloxacina, NIT – nitrofurantoína e VAN – vancomicina.

Coleta 06/01/2025									
	Enterococcus								
Pontos	**AMC**	**AMP**	**AZI**	**CIP**	**GEN**	**IMP**	**LEV**	**NIT**	**VAN**
1	38	35	29	19	21	34	18	27	21
2	29	22	18	24	15	27	25	27	19
3	31	26	0	0	0	26	0	0	21
4	26	21	23	22	11	27	20	20	24
5	30	26	10	0	0	26	0	21	11
6	32	25	19	24	10	27	21	22	19
7	30	26	9	26	21	35	19	24	21
8	28	24	15	24	9	26	0	24	21
9	26	24	22	NA	9	28	0	17	20
10	26	23	13	19	9	25	0	21	20
P.C.	**10**	**10**	**29**	**15**	**8**	**50**	**15**	**15**	**12**

A azitromicina não é um antimicrobiano utilizado e testado para o tratamento de *E. coli* e *Enterococcus* (BrCast, 2025), 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*.

Segundo Pereira *et al*. (2024), durante a pandemia da COVID-19 houve um uso excessivo e muitas vezes, inadequado de antibióticos, como a Azitromicina, mesmo em pacientes que não apresentavam infecção bacteriana confirmada, desta forma, passou ser importante a avaliação a resistência a Azitromicina.

Para a segunda coleta (04/08/25) é possível observar que não houve crescimento de *E. coli* em 5 pontos, no entanto apresentou maior pontos com resistência a antibióticos (Tabela 11).

Tabela 11: Resultado do antibiograma na primeira coleta (06/01/25), mostrando o diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem. Verde – Sensível, Vermelho – Resistente, Azul – Não Avaliado para as cepas utilizadas. PC: Ponto de corte, halo acima dos valores considerar Sensível. NA: Não houve crescimento de cepa. Os antibióticos usados foram: AMC – amoxicilina + ácido clavulânico, AMP – ampicilina, AZI – azitromicina, CFE – Cefalexina, CIP – ciprofloxacina, GEN – gentamicina, IPM – imipenem, LEV - Levofloxacina e NIT – nitrofurantoína.

Coleta 04/08/2025									
	E. coli								
Pontos	AMC	AMP	AZI	CFE	CIP	GEN	IMP	LEV	NIT
1	24	19	17	21	30	16	30	26	21
2	19	0	17	20	23	18	29	20	23
3	24	21	15	19	29	17	30	27	23
4	18	0	0	20	13	16	31	11	25
5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
7	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
10	24	8	12	21	30	18	28	28	17
P.C.	**14**	**14**	**29**	**14**	**25**	**17**	**22**	**23**	**11**

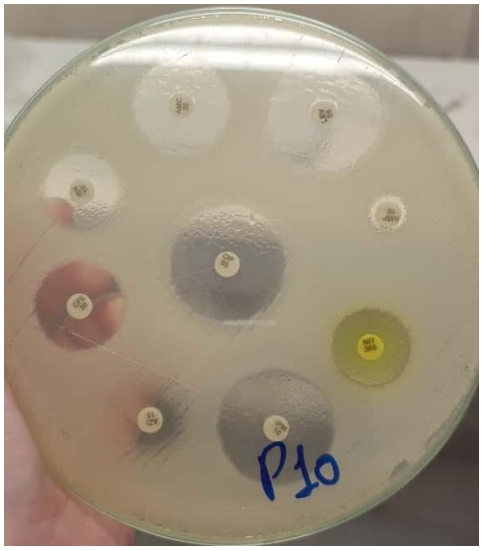
O ponto 2 apresentou multirresistência a Ampicilina, Ciprofloxacina e Levofloxacina, já no ponto 4, que apresentou maior densidade, a multirresistência foi em Ampicilina, Azitromicina, Ciprofloxacina gentamicina e Levofloxacina.

Oliveira (2016), Makowiecky (2023), Zampieri (2017) e Massoneto (2020) também encontraram cepas da *E.coli* resistentes a Gentamicina, Levofloxacina e Azitromicina, em amostras de água e em animais filtradores.

O que chama a atenção é a resistência ao antibiótico Ampicilina (AMP), que pertence a classe dos carbapenêmicos, principalmente na área do parque (Figuras 7 A e B). Estudos anteriores detectaram cepas resistentes a esses mesmos dois antibióticos em ambiente aquático (Stradiotto, 2013; Oliveira et al, 2012).

Os carbapenêmicos, dentre os beta-lactâmicos, são os mais eficazes contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, como no caso de Enterobacteriales, apresentando um amplo espectro de atividade antibacteriana, por isso são utilizados como tratamento de último recurso contra infecções bacterianas (Silva et al., 2022). A resistência encontrada para este tipo de antibiótico levanta grande preocupação acerca da saúde pública por conta da disseminação de seu gene através do compartilhamento de plasmídeos.

A) 

B) 

Figuras 7A e B: placas dos Pontos 4 e 10 contendo Ágar Mueller Hinton para o teste de susceptibilidade a antimicrobianos utilizando a técnica de disco de difusão com os 9 antibióticos.

Observou-se que, do total de cepas isoladas (14), 85% (12/14 cepas) apresentaram resistência a pelo menos um antibiótico, sendo o Ponto 4, local da saída da Baía, a apresentar a maior quantidade de cepas resistentes.

Já para *Enterococcus,* na segunda coleta (04/08/2025), nota se que houve resistência para o Imipenem. Além disso, os pontos de 5 ao 9 não foram avaliados pois não houve crescimento (Tabela 12). Devido a época do ano, o resultado tem correlação com a menor sobrecarga das redes de efluentes, que tem como consequência menor poluição (Muniz, 2022).

Tabela 12: Resultado do antibiograma, na segunda coleta (04/08/25), mostrando o diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem. Verde – Sensível, Vermelho – Resistente, Azul – Não Avaliado para as cepas utilizadas. PC: Ponto de corte, halo acima dos valores considerar Sensível. NA: Não houve crescimento de cepa. Os antibióticos usados foram: AMC – amoxicilina + ácido clavulânico, AMP – ampicilina, AZI – azitromicina, CIP – ciprofloxacina, GEN – gentamicina, IPM – imipenem, LEV – Levofloxacina, NIT – nitrofurantoína e VAN – vancomicina.

Coleta 04/08/2025									
Enterococcus									
Pontos	AMC	AMP	AZI	CIP	GEN	IMP	LEV	NIT	VAN
1	32	27	9	23	12	23	23	21	25
2	42	36	27	27	12	41	27	22	25
3	32	27	17	24	9	29	24	24	21
4	28	23	24	21	11	21	20	16	22
5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
7	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
10	26	26	16	22	10	26	21	25	20
P.C.	**10**	**10**	**29**	**15**	**8**	**50**	**15**	**15**	**12**

A resistência por Imipenem é bastante preocupante e um desafio a medicina, este antibiótico é utilizado frequentemente, como linha de tratamento para infecções graves, principalmente por bactérias multirresistentes. A resistência a este tipo de antibiótico é bastante preocupante, pois é facilmente transferida por genes localizados no plasmídeo de uma bactéria para outra (Young, et al., 2019). O aumento da densidade de bactérias resistente a Imipenem, tornando-se um risco a saúde pública (Dos Anjos et al., 2024).

A presença de bactérias resistentes a antibióticos no ecossistema marinho, são relevantes não apenas do ponto de vista da saúde pública, mas também quando considerado os organismos presentes nesses ambientes, principalmente se tratando de áreas protegidas pela legislação como o PEMLS.

A resistência bacteriana é uma consequência do uso inadequado de antibióticos, permitindo que as bactérias desenvolvam mecanismos de adaptação ao antibiótico e, devido a isso, tornando esses medicamentos ineficazes nos tratamentos empregados, e surgindo a necessidade de novos medicamentos (Rodrigues et al., 2020, Pinho et al., 2024).

Segundo o Ministério da saúde, atualmente cerca de 70% dos microrganismos que ocasionam infecções no Brasil, são resistentes a pelo menos um dos antibióticos comumente utilizados no tratamento (Prates et al., 2020).

3.4 Diversidade Bacteriana

A técnica da metagenômica permite a análise das sequências de DNA coletadas diretamente da amostra ambiental, fornecendo informações biológicas fundamentais para a compreensão da comunidade microbiana como um todo (Garza & Dutilh, 2015). O sequenciamento "shotgun" do genoma inteiro (Whole Genome Shotgun Sequencing -WGS) é uma técnica que envolve a fragmentação completa das moléculas de DNA coletadas diretamente do ambiente em pequenos pedaços, que são sequenciados de forma completamente aleatória. Dessa maneira, é possível não apenas avaliar a diversidade microbiana e a abundância de microrganismos nos respectivos ambientes, mas também montar genomas completos, prever genes, identificar enzimas e vias metabólicas, e quantificar elementos genômicos funcionais (Kunin et al., 2008; Huws et al., 2018).

Depois do sequenciamento metagenômico da amostra, é necessário analisar o conteúdo gerado, utilizando ferramentas de bioinformática, que auxiliam na geração de grandes volumes de dados (Dudhagara et al., 2015).

A avaliação de diversidade bacteriana, em todos os 10 pontos coletado, foi realizada pelo programa de bioinformática Illumina, sendo possível obter os perfis taxonômicos de todos os pontos coletados (Figura 8).

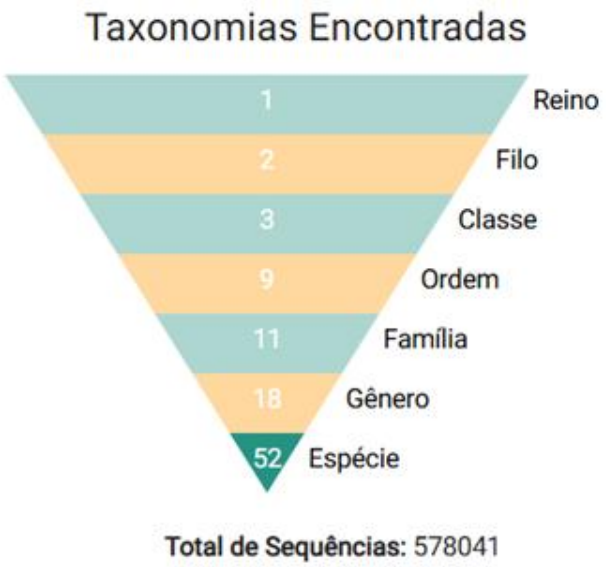


Figura 8: Resultado total dos níveis taxonômicos encontrados na avaliação da diversidade bacteriana de todos os pontos.

Com a taxonomia, chegou a 52 espécies identificadas, a Figura 9 exibe a identificação das espécies de forma proporcional. As sequências de todas as espécies em todos os pontos (Abundância das amostras e Abundância de microrganismos) estão descritas no Anexo 1.

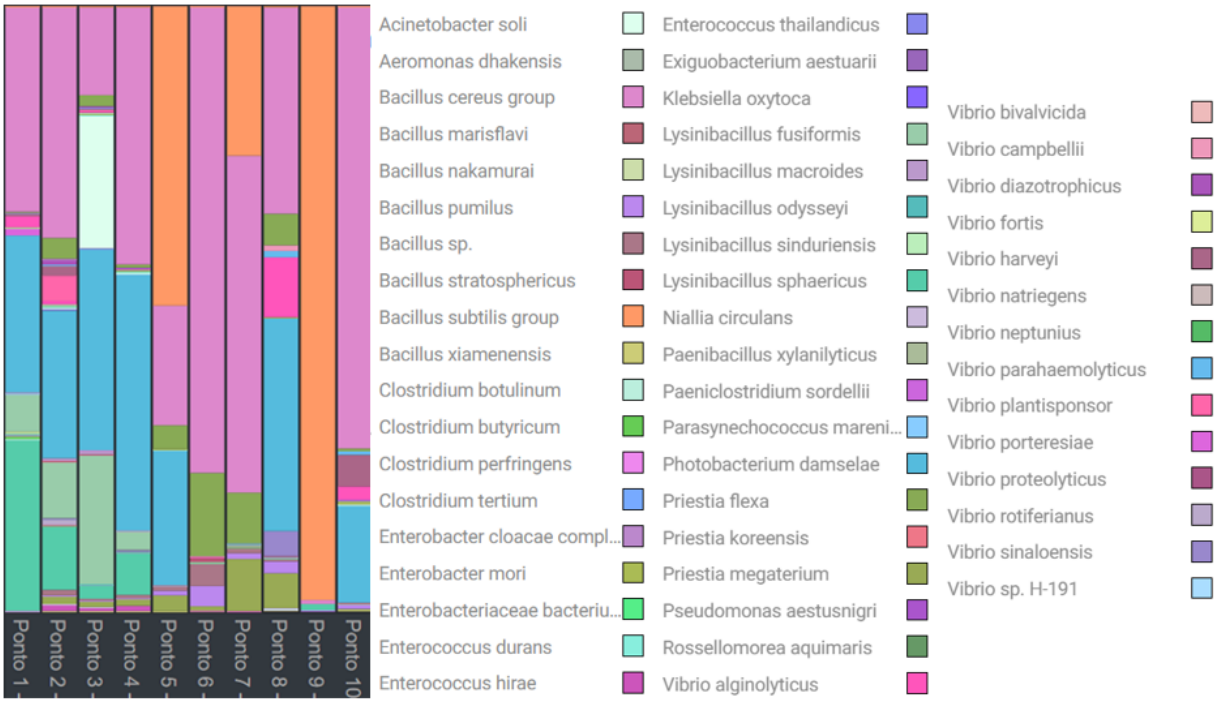


Figura 9: Identificação das 52 espécies de forma proporcional. No gráfico é possível verificar as diferentes cores e proporções referentes a cada espécie.

Por meio do programa de bioinformática Illumina, foi possível verificar os pontos

com maior abundância (Figura 10) e maior diversidade (Figura 11).



Figura 10: Representação dos 6 pontos com maior diversidade de água superficial (1 metro). Ponto 4 - Saída da Baía; Ponto 3 – Emissário; Ponto 10 – Boca da Baleia; Ponto 1 - Urubuqueçaba e Ponto 5 – Fundeio.

A abundância é a proporção de bactérias em relação ao total de bactérias em cada Ponto. O conhecimento da abundância bacteriana é bastante importante pra entender a dinâmica dos ecossistemas.

As bactérias mais abundantes foram as pertencentes à família *Bacillaceae*, os microrganismos desta família, são amplamente estudados, por possuírem potencial biotecnológico (Mullis et al., 2019; Sayed et al., 2020).

Este grupo são anaeróbicas facultativas, com forma de bastonete, e móveis, são Gram-positivas (possuem camada espessa de peptidoglicano em sua parede celular) e produzem endósporos resistentes que podem permanecer viáveis por longos períodos sobrevivendo em condições extremas de temperatura, dessecamento, pH e radiação solar (Tan & Ramamurthi, 2014; Errington & Wu, 2017; Lee et al., 2023).

A água superficial, principalmente na área da Baía é enriquecida de material orgânico, e isso pode estimular o crescimento bacteriano e o desenvolvimente de cadeias alimentares microbianas (Agogué et al., 2005). No entanto, apesar do estresse provocado pela radiação ultravioleta (UV) às bactérias patogênicas principalmente, o material orgânico pode representar um escudo protetor para estes microrganismos, desta forma apresentando maior abundância de microrganismos em relação à coluna d'água (Alves, 2014).



Figura 11: Representação dos 6 pontos com maior diversidade de água superficial (1 metro). Ponto 2 – Meio do emissário: 35 espécies; Ponto 3 – Emissário: 32 espécies; Ponto 1 -Urubuqueçaba: 29 espécies; Ponto 4 – Saida da Baía: 28 espécies; Ponto 8 – Portinho (PEMLS): 21 espécies; Ponto 10 – Boca da Baleia (PEMLS): 18 espécies.

Os pontos dentro da Baía de Santos apresentam maior diversidade Ponto 2 (35 espécies), Ponto 3 (32 espécies), Ponto 1 (29 espécies) e o Ponto 4 (28 espécies) que apesar de não se exatamente dentro da Baía, sofre influência em maré vazante.

Segundo Le VV., et.al (2023) descobriu um aumento na riqueza da comunidade bacteriana ao longo de uma seção de rio que recebe esgoto bruto, mas que é misturado com esgoto tratado, bem como outros aportes hídricos de outros rios que contribui para o aumento da diversidade microbiana. No entanto outros autores associaram a eutrofização e o lançamento de esgoto com a diminuição da diversidade bacteriana (Shen et al., 2019**;** Wang et al., 2022**).**

As 10 bactérias mais frequentes nas amostras, são aquelas que aparecem em um número maior de amostras, na Figura 12 é possível observar em quantas amostras cada bactéria é possível ser encontrada.

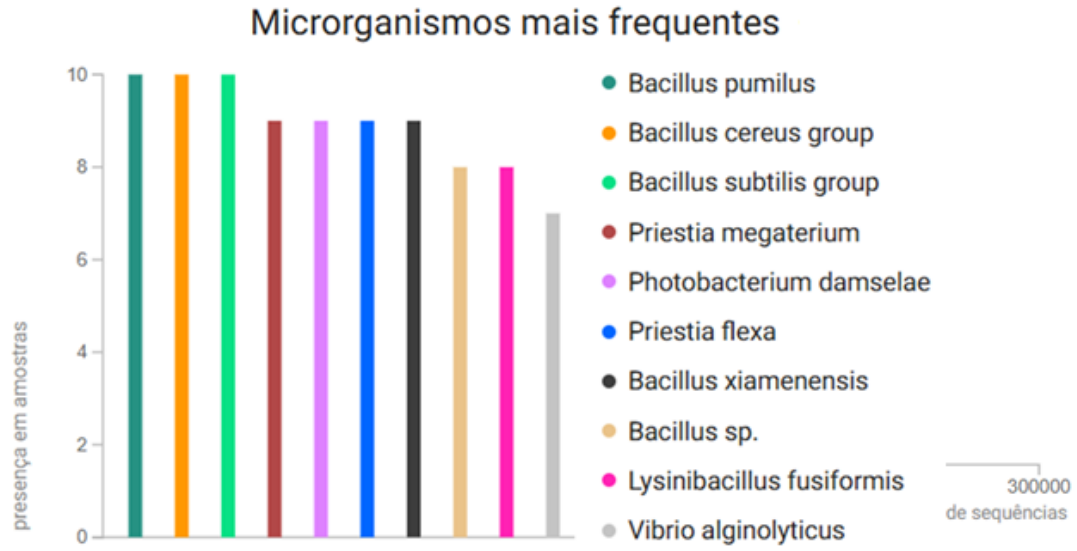


Figura 12: Resultado das bactérias mais frequentes nas amostras. Dentre as espécies estão *Bacillus pumillus, Bacillus cereus group, Bacillus subtilis group, Priestia megaterium, Photobacterium damselae, Priestia flexa, Bacillus xiamenesis, Bacillus sp. Lysinibacillus fusiformis, Vibrio algnolyticus.*

Dentre as 10 bactérias mais frequentes estão, *Bacillus pumillus,* presente nos 10

pontos, *Bacillus cereus group,* presente nos 10 pontos, *Bacillus subtilis group,* presente nos 10 pontos, *Priestia megaterium,* presente nos 9 pontos, *Photobacterium damselae,* presente nos 9 pontos, *Priestia flexa,* presente nos 9 pontos, *Bacillus xiamenesis,* presente nos 9 pontos, *Bacillus sp.,* presente nos 8 pontos, *Lysinibacillus fusiformis* presente nos 8 pontos, *e Vibrio algnolyticus,* presente nos 7 pontos.

Os microrganismos mais abundantes são aqueles com maior número de sequências identificadas (Figura 13), o número de leituras é geralmente considerado uma aproximação da abundância relativa, refletindo a "presença relativa" de um microrganismo na comunidade microbiana após a sequenciação (Maghini, et al., 2024).



Figura 13: Resultado das bactérias mais abundantes nas amostras. Dentre as espécies estão *Bacillus cereus group, Photobacterium damselae, Bacillus subtilis group, Lysinibacillus sphaericus, Lysinibacillus fusiformis, Acinetobacter soli, Priestia flexa, Priestia megaterium, Vibrio algnolyticus, Vibrio harveyi.*

Os 10 microrganismos mais abundantes apresentados seguem a ordem, *Bacillus cereus group* – 234.030 sequências, *Photobacterium damselae* – 147.860 sequências, *Bacillus subtilis group* – 42.896 sequências, *Lysinibacillus sphaericus* – 33.487 sequências, *Lysinibacillus fusiformis* – 31.792 sequências, *Acinetobacter soli* – 20.326 sequências, *Priestia flexa* – 17.626 sequências, *Priestia megaterium* – 11.913 sequências, *Vibrio algnolyticus* – 8.588 sequências, *Vibrio harveyi* – 5.347 sequências.

A abundância, descreve a representação proporcional de cada microrganismo dentro da amostra. A informação de abundância fornece uma compreensão abrangente, estrutura da comunidade microbiana e comparar as proporções de diferentes microrganismos dentro de uma amostra (como em estudos ecológicos de populações

microbianas), a abundância relativa é frequentemente preferida (Maghini, et al., 2024).

Conclusão

Os Resultados indicam que o Emissário Submarino de Santos exerce influência direta e significativa sobre a qualidade microbiológica, na região da Baía de Santos, principalmente na alta temporada de verão.

Na região do Parque Estadual Marinho da Laje de Santos (PEMLS), não influência de contaminação microbiológica do Emissário Submarino, ambiente de mar aberto, consegue diluir e depurar o efluente do Emissário. As cepas encontradas na região do Parque, são de baixa densidade indicando que a presença destas cepas é das aves que se abrigam na Pedra do Parque.

Desta forma conclui-se que um melhor redimensionamento do Emissário, melhoraria a balneabilidade na Baía de Santos.

Observou-se também a presença de bactérias resistentes a antibióticos de classes mais recentes e potentes, como os carbapenêmicos, o que evidencia um cenário preocupante de resistência microbiana no ambiente marinho, principalmente na região do Parque.

O estudo apresentou uma diversidade bacteriana importante, com um total de 52 espécies em amostras de água superficial. Destes dados foi possível conhecer mais sobre as bactérias presentes na região do Parque, assim como identificar possíveis patógenos em todos os pontos.

Referências Bibliográficas

Abessa, D. M. S., Carr, R. S., Rachid, B. R. F., Sousa, E. C. P. M., Hortelani, M. A., Sarkis, J. E.. Influence of a Brazilian sewage outfall on the toxicity and contamination of adjacent sediments. Marine Pollution Bulletin, 50, 875 - 885. 2005.

Abessa, D. M. S., Rachid, B. R. F., Moser, G. A. O., Oliveira, A. J. F. C.. Efeitos ambientais da disposição oceânica de esgotos por meio de emissários submarinos: uma revisão. O Mundo da Saúde, v. 36, n. 4, p. 643–661, 30 dez. 2012.

Agogué, H., Joux, F., Obernosterer, I., & LEBARON, P. Resistance of marine bacterioneuston to solar radiation. Applied and Environmental Microbiology. p. 5282-5289, 2005.

Alves, C.A. Química entre a microcamada superficial oceânica e os aerossóis marinhos. Química Nova. v. 37, n. 8, p. 1382-1400, 2014.

APHA, American Public Health Association, 2022. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APH, AWWA, WEF. 22th Edition. 1120p. 2022.

Almeida, N. C., Barros, A. L. R., Arouche, S. P., Ferro, T. A. F., Moraes, F. H. R., Neto, V. M., Figueiredo, P. M. S., 2012. Detecção de enteropatogenos e teste de suceptibilidade a agentes sanitizantes de cepas diarreiogênicas de *Escherichia coli* isoladas das praias de São Luís Maranhão. Revista de Patologia Tropical, 41 (3), 304–318. 2012.

Aloson. A., Sancchéz. P., Martínez. J. L. Environmental selection of antibiotic resistance genes. Environmental Microbiology, v.3, p.1-9, 2001.

Andrade, V. C.; Zampieri, B. D. B.; Ballesteros, E. R.; Pinto, A. B.; Oliveira, A. J. F. C.. Densities and antimicrobial resistance of Escherichia coli isolated from marine waters and beach sands.. Environmental Monitoring and Assessment. v. 187, p. 342, 2015.

Andrade, V. C.; Caetano, T.; Mendo, S.; Oliveira, A. J. F. C.. Carbapenem resistant Enterobacteriaceae from port areas in São Paulo State (Brazil): Isolation and molecular characterization. Marine Pollution Bulletin. v. 159, p. 111329, 2020.

Azam, F.; Worden, A. Z. Microbes, moleculares and marine ecosystems. Science, v. 303, p. 1622-1624, 2004.

Batista, S. S.; Harari, J.. Modelagem da dispersão de coliformes termotolerantes e enterococos em duas enseadas na regi~]ao costeira de Ubatuba (SP), Brasil. Engenheria Sanitária e Ambiental, v. 22, p. 403-41, 2016.

Berger-Bachi,B. Resistance mechanism of Gram-positive bacteria. International Journal of Medical Microbiology, v. 292, p. 27-35, 2002.

Ballesteros, E. R., da Costa ANDRADE, V., Barbieri, E., Pinto, A. B., de OLIVEIRA, R. S., & De Oliveira, A. J. F. C.. Qualidade microbiológica de ostras (Crassostrea sp) e de águas coletadas em cultivos e em bancos naturais de Cananéia (SP). *Boletim do Instituto de Pesca*, *42*(1), 134-144. 2016.

Brasil. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução n. 274, de novembro de 2000.

Brasil, Ministério da Saúde – Portaria 64 de 11 de dezembro de 2018: Dispõe sobre a utilização das normas de interpretação para os testes de sensibilidade aos antimicrobianos

(TSA), tendo como base os documentos da versão brasileira do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*. 2018.

BrCAST, 2025. Tabelas de pontos de corte para interpretacao de CIMs e diâmetros de halos. Based on: EUCAST, 2025. Breakingpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters.

Buruaem, L. M., Castro, I. B., Hortellani, M. A., Taniguchi, S., Fillmann, G., Sasaki, S. T., Petit, M. A. V., Sarkis, J. E. S., Bícego, M. C., Maranho, L. A., Davanso, M. B., Nonato, E. F., Cesar, A., Costalotufo, L. V., Abessa, D. M. S.,. Integrated quality assessment of sediments from harbor areas in Santos – Sao Vicente Estuarine System, Southern Brazil. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 130, 179–189. 2013.

Byappanahalli. M. N., Nevers. M. B., Korajkic. A. Staley. Z.R., Harwood. V. J. Enterococci in the Environment. Microbiology and Molecular Biology Reviews, v.76, p. 685 -706. 2012.

Cardenas, V.; Martha Consuelo. Eficacia antibacteriana de los compuestos de hidróxido de calcio con levofloxacino e hidróxido de calcio con Azitromicina sobre Enterococcus Faecalis, Arequipa. 2019. 2020.

CETESB - COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. Qualidade das praias litorâneas no estado de São Paulo 2020. CETESB: São Paulo, 2021. ISBN 978-65-5577-019-3.

CETESB - COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. Relatorio de Balneabilidade das praias paulistas, São Paulo, 1997. Colwell RR, Belkin S. Oceans and Health: Pathogens in the Marine Envirinment. USA: Springer; 2006.

CLSI, 2023. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Colweel, R. R. Microbial diversity: the importance of exploration and conservation. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., v. 18 p. 302-307, 1997.

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.

Cunliffe, M.; Murrell, J. C. The sea-surface microlayer is a gelatinous biofilm. The ISME Journal. v. 3, p. 1001-1003, 2009.

Da Silva, V. D. et al.. Perfil microbiológico e físico-quimico do sedimento da região do mangue seco. Caderno Pedagogico, v. 22, n. 8. 2025.

Dalfior, J. S., 2005. Avaliação da eficiência do grupo coliforme fecal como indicador de balneabilidade de praias quando comparado com Enterococos: estudo 121 de caso da praia da Curva da Jurema (Vitoria, ES). Monografia de Graduação em Oceanografia - UFES, Vitórias (ES). 2005.

Dame, R. F.. Organism level processes. In: DAME, R. F., Ecology of marine bivalves: an ecosystem approach. New York: CRC, p. 35 -74. 1996.

Davin -Regli. A., Lanevig, J. P., Pagès, J. M.,. *Enterobacter* spp.: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emergin Antimicrobial Resistance. Clinical Microbiology, 32 (4), 1–32. 2019.

Destro, J. O.; Rosa, V. T.; Pinto, F. S. T.; Soares, C. J. Qualidade Microbiológica das Areias de Praia do Litoral Norte Gaúcho. Scientia Prima: Rio Grande do Sul, v. 6, n. 1, p. 48-58, 2020.

Doi, S. A.; Contaminação fecal da água e do sedimento da baía do araçá, São Sebastião (sp), sua relação com parâmetros bióticos/abióticos e análise da densidade de fungos filamentosos, Dissertação (Doutorado) 162p, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, 2018.

Dos Anjos, Cláudio Vinicius Oliveira et al. PATÓGENOS ESKAPEE:: DESAFIOS E CONSEQUÊNCIAS PARA A SAÚDE HUMANA. Revista Eletrônica da Estácio Recife, v. 11, n. 2, 2024.

Dudhagara, P. et al. Web resources for metagenomics studies. Genomics, Proteomics & Bioinformatics, v. 13, n. 5, p. 296-303, 2015.
Errington, J. & Wu, L. J. (2017). Máquinas do Ciclo Celular em *Bacilus subtilis*. *Bioquímica Subcelular*, 84, 67-101. 2017.

Fagundes, L., Tomás, A. R. G., Casarini, L. M., Bueno, E. F., Lopes, G. M., Machado, D. A. L., Rosa, R. A., Braga, A. C. A., Camargo, F. B. F., Oberg, I. M. F., Pellegrini, S. O. P.,. A pesca de arrasto-de-praia na ilha de São Vicente, Sao Paulo, Brasil. Série Relatórios Técnicos, São Paulo, 29, 1–43. 2007.

Farinnaccio, Alessandro & Goya, S.C. & Tessler, Moysés. (2009). Variações da linha de costa nas baías de Santos e São Vicente. Quaternary and Environmental Geosciences. 1. 10.5380/abequa.v1i1.14389.2009.

Fey, J. D., Neves, T. S., Baraldo, K. B., Peppes, F.,. A preliminary analysis of the distribution and spatial/temporal patterns of seabirds in the Laje de Santos Marine State Park (Santos, Brazil) and surrounding waters. Braz. j. oceanogr. vol.65, n°.4: 576-587. São Paulo.2016.

Fontes, M.K., Campos, B.G., Cortez, F.S., Pusceddu, F.H., Moreno, B.B., Maranho, L.A., Lebre, D.T., Guimarães, L.L., Pereira, C.D.S. Seasonal monitoring of cocaine and benzoylecgonine in a subtropical coastalzone (Santos Bay, Brazil). Marine Pollution Bulletin, 149. 2019.

Garza, D. R., & Dutilh, B. E.. From cultured to uncultured Genome sequences: metagenomics and modeling microbial ecosystems. Cellular anda Molecular Life Sciences, 72 (22), 4287-4308. 2015.

Grillo, V., Parsons, E. C. M., Shrimpton, J. H., 2001. A review of sewage pollution and cetaceans: a Scottish perspective. Paper presented to the Scientific Committee at the 53rd Meeting of the International Whaling Commission, 3 - 16July London (UK). 2001.

Henrique, M.B.; Pereira, O.M.; Zamariolli, L.A.; Faustino, J.S.. Contaminação bacteriológica no tecido mole do mexilhão perna-perna (Linnaeus, 1758) coletado nos bancos naturais do litoral da Baixada Santista. Arquivos de Ciências do Mar, UFCE – LABOMAR, Fortaleza, 33: 69-76. 2000.

Hernández, B. Variabilidad interanual de las anomalias de la temperatura superficial del mar em aguas cubanas y su relación com eventos El Niño-Oscilación del Sur (ENOS). Investigaciones marinas, v. 30, n. 2, p. 21-31, 2002.

Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K., Kratz, K. L.,. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. The Science of the Total Environment, 225, 109 - 118.1999.

Hunter-Cevera, J. C. The value of microbiol. Diversity. Curr. Opin. Microbiol., v. 1, p. 278-285, 1998.

Huws, S. A. et al. Addressing global ruminant agricultural challenges through understanding the rumen microbiome: past, present, and future. Frontiers in microbiology, v. 9, p. 2161, 2018.

IBAMA,. Catalogo das artes de pesca artesanal do Estado de Santa Catarina. 1ª ed. V 1. 120p. 1993.

Instituto Trata Brasil. Ranking do Saneamento, 2020. Disponível em: http://www.tratabrasil.org.br/images/estudos/itb/ranking_2020/Relatorio_Ranking_Trata_Brasil_2020_Julho_.pdf. Acesso em: 18 de novembro de 2023.

Islam, S., Tanaka, M.,. Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: a review and synthesis. Marine Pollution Bulletin 48, 624 – 649. 2004.

Kelly. E. A., Feng. Z., Gidley. M. Z., Sinigalliano. C. D., Kumar. N., Donahue. A. G., Reniers. A. J. H. M., Solo-Gabriele. H.M. Effect of beach management policies on recreational water quality. Journal of Environmental Management, v. 212, p.266-277, 2018.

Kirchman, D. L. Introduction and overview. In: Kirchman, D. L. (Ed.). Microbial Ecology of the Oceans. 2nd ed. New Jersey: Wiley-Blackwell, p. 1-26. 2008.

Kolm. H. E., Gomes. K. V., Ishii. F. K., Martins. C.C. An integrated appraisement of multiple faecal indicator bacteria and sterols in the detection of sewage contamination in subtropical tidal creeks. International Journal of Hygiene and Environmnetal Health, v. 221, p. 1032-1039, 2018.

Kunin, V. et al. A bioinformatician's guide to metagenomics. Microbiology and Molecular Biology Reviews, v. 72, n. 4, p. 557-578, 2008.

Lamparelli, M. C., Costa, M. P., Prósperi, V. A., Becilacqua, J. E., Araújo, R. P. A., Eysink, G. G. J., Pompeia, S.,. Sistema estuarino de Santos e São Vicente. São Paulo: Relatório Técnico CETESB. 183pp. 2001.

Le VV, Ko S, Kang M, Jeong S, Oh H, Ahn C. Comparative Genome analysis of the Genus Curvibacter and the Description of Curvibacter microcysteis sp. nov. and Curvibacter cyanobacteriorum sp. nov., Isolated from Fresh Water during the Cyanobacterial Bloom Period. J. Microbiol. Biotechnol. 2023.

Lee, J. et al. Exploiting bacterial genera as biocontrol agents: Mechanisms, interactions and applications in sustainable agriculture. Journal of Plant Biology, [s. l.], v. 66, n. 6, p. 485-498, 6 jul. 2023.

Lescreck, M. C. et al. Análise da qualidade sanitária da areia das praias de Santos, litoral do estado de São Paulo. Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 21, n. 4, p. 777-782, 2016.

Maghini, D.G., Dvorak, M., Dahlen, A. et al. Quantificação do viés introduzido pela coleta de amostras em medições microbiómicas relativas e absolutas. Nat Biotechnol 42, 328–338 (2024).

Makowiecky, V. T. Investigação de bactérias resistentes aos antimicrobianos em ostras comercializadas em Florianópolis, SC. Ufsc.br, 2023.

Mandaji, D.; Sígolo, J. B.. Emissário Submarino de Santos: Contribuição nos Sedimentos de Fundo para Al, Mg, K, Ca, Fe, Ti, Na, Si, Ba, Cu, Zn, Cr, Mn, Co, Ni e S. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Instituto de Geociências. 2008.

MarineTraffic – Global Ship Tracking Intelligence (www.marinetraffic.com). 2021.

Matthews, C. et al. The rumen microbiome: a crucial consideration when optimising milk and meat production and nitrogen utilisation efficiency. Gut microbes, v. 10, n. 2, p. 115-132, 2019.

Massonetto, M. U. Monitoramento da resistência de bioindicadores fecais nos canais de Santos-SP. Unesp - São Vicente. Dissertação (Mestrado). 2020.

Mignani, L., Barbieri, E., Marques, H. L. A., Oliveira, A. J. F. C.. Coliform density in oyster culture waters and its relationship with environmental factors. Pesq. agropec. bras., 48 (8), 833 - 840. 2013.

Moraes, A. S. B.. Correlação entre três métodos de quantificação de matéria orgânica: demanda bioquímica de oxigênio, demanda química de oxigênio e carbono total, para análise de biofertilizante derivado da biodigestão anaeróbica. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

Moser, G. A. O.. Aspectos da eutrofização no Sistema Estuarino de São Vicente-Santos: distribuição espaço temporal da biomassa e produtividade primária fitoplanctônica e transporte instantâneo de sal, clorofila-a, material em suspensão e nutrientes. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico. São Paulo, SP. 426p. 2002.

Mota, R.A.; Silva, K.P.C.; Freitas, M.F.L.; Porto, W.J.N.; Silva, L.B.G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v.42, n.6, p.465-470, 2005.

Mullis, M. M. et al. Diversity, ecology, and prevalence of antimicrobials in nature. Frontiers in microbiology, [s. l.], v. 10, p. 2518, 13 set. 2019.

Nordmann, P.; Cuzon, G.; Naas, T.. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. The Lancet Infectious Diseases. 9(4). 228-236. 2012.

Occhipinti, A. G.. Estudos para o sistema de disposição oceânica dos esgotos de Santos e São Vicente. Revista DAE 86, 155–176. 1972

Oliveira, A. F. C., França, P. T. R., Pinto, A. B.,. Antimicrobial resistance of heterotrophic marine bacteria isolated from seawater and sands of recreational beaches with different organic pollution levels in southeastern Brazil: evidences of resistance dissemination. Environ Monit Assess, 169, 375-384.2012.

Oliveira, R. S.. 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. Dissertação (Mestrado). 2016.

Olivieri, P. G.,. Bacterial indicators of pollution. In: Pipes, W.O. (Ed.), Bacterial Indicators of Pollution. CRC Press, Boca Raton (FL), 21–41.1982.

Pavez. S., Khan. A.U. Hospital sewage water: a reservoir for variants of New Delhi metallo-β-lactamase (NDM) – and extended -spectrum β- lactamase (ESBL) – producing *Enterobacteriacea.* International Journal of Antimicrobial, v.51, n.1, p. 82-88, 2018.

Pereira, Gustavo José Vasco *et al.* Aumento da resistência bacteriana de antibióticos na pandemia da COVID-19: uma revisão narrativa. Research, Society and Development, v. 13, n. 6, 2024.

Pinho, Lucimary Leite *et al*. Uso indiscriminado de antibióticos e o risco de resistência bacteriana: revisão de literatura. Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences, [S.l.], v. 6, issue 1, p. 438–452, 2024.

Plano de Manejo – Parque Estadual Marinho da Laje de Santos. Fundação Florestal. 2018.

Pereira, C.D.S., Maranho, L.A., Cortez, F.S., Pusceddu, F.H., Santos, A.R., Ribeiro, D.A., Cesar, A., Guimarães, L.L. Occurrence of pharmaceuticals and cocaine in a Brazilian coastal zone. Science of the Total Environment 548, 148-154. 2016.

Prates et. al.. AGRAVOS PROVOCADOS PELA RESISTÊNCIA BACTERIANA: UM PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA MUNDIAL. Brazilian Journal of Surgery & Clinical Research, 2020,

Proia. L., Anzil. A., Subirats. J., Borrego. C., Farré. M., Llorca. M., Balcazar. J. L., Servais. P. Antibiotic resistance along an urban river impacted by treated wastewaters. Science of the Total Environment, v. 629, p. 453-466, 2018.

Rachid, B. R. F.. Avaliação ecotoxicológica dos efluentes domésticos lançados pelos sistemas de disposição oceânica da Baixada Santista. Tese de Doutorado. São Paulo: Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, 286pp. 2002.

Riviera, I. N. G.; Paula, C. R.; Souza, C. P. Microbiologia aquática marinha. In: Melo, I.S.; Azevedo, J.L. Microbiologia Ambiental. 2rd. Jaguariuna: Embrapa Meio Ambiente. P. 609-627. 2008.

Rodrigues, A. L. A.; Lima, R. X.; Siqueira, P. L. Análise do perfil de usuários de antimicrobianos em uma drogaria do Município de Bonito-PE. Brazilian Journal of Development: Curitiba, v. 6, n. 12, p. 95853-95865, 2020.

Rosselló-Mora, R; Amann, R. The species concept for prokaryotes. FEMS microbiology Reviews, v. 25, p. 36-67, 2001.

SÃO PAULO - 1993. Decreto n° 37.537, de 27 de setembro de 1993. Cria o Parque Estadual Marinho da Laje de Santos e dá providências correlatas. 1993.

Sayed, A. M. et al. Extreme environments: microbiology leading to specialized metabolites. Journal of Applied Microbiology, [s. l.], v. 128, n. 3, p. 630-657, 1 mar. 2020.

Schepis, W.R., Medeiros, T.V., Silva, S.A., Abessa, D.M.S. Toxicidade Aguda e Contaminação por Metais em Sedimentos do Rio dos Bugres, Ilha de São Vicente, Sp. Braz. J. Aquat. Sci. Technol. 20(1), 42-53. 2016.

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.

Stradiotto, G. C. Densidade e resistência a antimicrobianos de Enterococcus sp e Escherichia coli isoladas de águas , areias e algas do gênero Sargassum de praias recreacionais do Litoral Norte do Estado de São Paulo. 2013. 97 p. Dissertação (Mestrado) -Curso de Ciências Biológicas, Unesp - Campus do Litoral Paulista, Rio Claro, 2013.

Soares, F. M. P. *et al.* Análise microbiológica da areia nas praias urbanas do município de Ilhéus, Bahia, Brasil. Conjecturas: Especial Novos Estudos, v. 22, n. 6, p. 333-343, 2022.

Souza, J. L.; Silva, I. R. Avaliação da qualidade ambiental das praias da Ilha de Itaparica, Baía de Todos os Santos, Bahia. Rev. Soc. & Nat., v. 27, n. 3, p. 469-484, set./dez., 2015.

Souto. J. P., Lira. A. G. S., Figueira. J. S., Silva. A. N., Silva. E. S. Poluição Fecal da Água: Microorganismos indicadores. VI Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental. Porto Alegre- RS. 2015.

Subtil, E. L.; Mierzwa, J. C.; Ortiz, J. P.. Influência do nível de tratamento de esgoto na qualidade da água do mar na região de lançamento do Emissário Submarino de Santos. Revista Ambiente & Água, v. 7, p. 72-86, 2012.

Tan, I. S. & Ramamurthi, K. S. (2014). Formação de esporos em *Bacillus subtilis*. *Relatórios de Microbiologia Ambiental*, 6, 212-225. 2014.

WANG, J.; WANG C.; LI J.; BAI P.; LI Q.; SHEN M.; LI R.; LI T. ZHAO J. - Comparative Genomics of Degradative Novosphingobium Strains With Special Reference to Microcystin-Degrading Novosphingobium sp. THN1 Front Microbiol. 2020.

Whitman, W. B.; Coleman, D. C.; Wiebe, W. J. Prokaryotes: the unseen majority. The Proceedings of the National Academy of Science USA, v. 95, p. 6578-6583, 1998.

Who. Guidelines for Safe Recreational waters – Water Environments. Volume 1: Coastal and Fresh-Waters. WHO/EOS/98.14, World Health Organization, Geneva, 208p. 1998.

Who (World Health Organization). Guidelines for Drinking-Water Quality. WHO,Geneva. 2012.

Young, K., Painter,R.E., Raghoobar,S.L., Hairston, N.N., Racine,F., Wisniewski,D., Balibar,C.J., Villafania, A., Zhang, R., Sahm, D.F., Blizzard,T., Murgolo, N., Hammond, M.L., Motyl,M.R. (2019). In vitro studies evaluating the activity of imipenem in combination with relebactam against Pseudomonas aeruginosa. *BMC Microbiol* 19:150. 10.1186/s12866-019-1522-7. Crossref. PubMed. 2019.

Zampieri, B. & Siems, T.L. & Oliveira, R.S. & Pinto, Aline & Oliveira, A. J. F. C.. Prevalence of bacteria and fungi in respiratory tracts of seabirds rescued along the São Paulo Southeastern Coast (Brazil) and some blood parameter information. 35. 11-20. 2015.

Zampieri, B. D. B.; Pinto, A. B.; Schultz, L.; Oliveira, M. A.; Oliveira, A. J. F. C.. Diversity and Distribution of Heavy Metal-Resistant Bacteria in Polluted Sediments of Araca Bay, Sao Sebastiao (SP), and the Relationship Between Heavy Metals and Organic Matter Concentrations. Microb Ecol 72, 582-594. 2017.

Zampieri, B. D. B. ; Oliveira, R. S. ; Pinto, A. B. ; Andrade, V. C. ; Barbieri, E.; Merguizo, R A C ; Oliveira, A. J. F. C.. Comparison of bacterial densities and

resistance in different beach compartments: should water be our main concern?. v. 40, p. 461-482, 2017.