



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(MICROBIOLOGIA APLICADA)**

**MONITORAMENTO DA RESISTÊNCIA DOS BIOINDICADORES FECAIS NOS
CANAIS DE SANTOS- SP**

MIRELLA MASSONETTO

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas- Microbiologia Aplicada

**Rio Claro
2020**

MIRELLA MASSONETTO

**MONITORAMENTO DA RESISTÊNCIA DOS BIOINDICADORES FECAIS NOS CANAIS
DE SANTOS-SP**

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências do Campus
de Rio Claro, Universidade
Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título
de Mestre em Ciências Biológicas-
Microbiologia Aplicada

Rio Claro
2020

M421m	Massonetto, Mirella Monitoramento da Resistência de Bioindicadores Fecais nos Canais de Santos-SP / Mirella Massonetto. -- Rio Claro, 2020 64 p. : il., tabs., mapas Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro Orientadora: Ana Júlia Cardoso de Oliveira 1. Microbiologia Aplicada. 2. Saneamento Ambiental. 3. Saúde Ambiental. 4. Microbiologia Ambiental. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Rio Claro



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: MONITORAMENTO DA RESISTÊNCIA DOS BIOINDICADORES FECAIS
NOS CANAIS DE SANTOS - SP

AUTORA: MIRELLA MASSONETTO BASILIO

ORIENTADORA: ANA JULIA FERNANDES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(MICROBIOLOGIA APLICADA), área: Microbiologia Aplicada pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ANA JULIA FERNANDES
Instituto de Biociências / UNESP - Campus do Litoral Paulista

Profa. Dra. CRISTIANE ANGÉLICA OTTONI
Instituto de Biociências / UNESP - Campus do Litoral Paulista

Prof. Dr. JOSE JUAN BARRERA ALBA
Campus Baixada Santista / Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP

Rio Claro, 17 de fevereiro de 2020

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a minha mãe que sempre me incentivou e fez muitos sacrifícios para que eu chegasse até aqui.

Agradeço também a Professora Doutora Ana Júlia, que é minha orientadora desde a graduação e sempre extraiu o melhor de mim para que eu pudesse evoluir tanto como profissional, quanto como pessoa. Sou eternamente grata a todas oportunidades que me foram dadas.

Meu muitíssimo obrigada a todos os amigos que, com suas palavras, não me deixaram desistir. Juliana (pelas conversas a beira mar), Denise (que além de tudo contribuiu de forma ativa com esse trabalho), Carol (que torceu, rezou, me abrigou para fazer prova e me deu a notícia de que tinha passado no mestrado), Juan (que sempre me acalmou), Luís Felipe(que chorou comigo e vibrou pelas minhas conquistas). Aos amigos de Rio Claro (a todas as meninas da República, agradeço, por tornarem a rotina mais leve), aos colegas da pós-graduação, em especial a amiga Karina Bueno pela parceria nos trabalhos e nas aulas.

Gostaria de agradecer também a todos os componentes do Laboratório de Microbiologia Marinha- MICROMAR- que ajudaram direta ou indiretamente nesse trabalho. Em especial agradeço ao Augusto, sem o qual seria impossível realizar coletas. Meu muitíssimo obrigada a estrutura do Programa de Pós -Graduação em Microbiologia Aplicada- UNESP de Rio Claro.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

“A árvore do Futuro lançando raízes no Passado germinará no Presente, e quando se tornar universal essa convicção: que o Passado se erga diante do Presente para ser venerado como sua fonte e como base para preparação de um Futuro”

Saturnino de Brito

Monitoramento da Resistência de Bioindicadores Fecais nos Canais de Santos-SP

O despejo de esgoto sem tratamento nas áreas costeiras do Brasil são uma realidade persistente, sendo responsável pela maioria dos impactos ambientais no litoral. Devido a isso, o Estado de São Paulo, efetua monitoramentos semanais para acompanhar a qualidade das águas recreacionais nas praias. Nesse contexto, Santos apresenta 6 canais de drenagem ao longo de toda baía que são fontes poluidoras, por apresentarem ligações clandestinas de efluente doméstico. Esse estudo objetivou avaliar a densidade de bioindicadores fecais(*Escherichia coli* e *Enterococcus* sp) e sua resistência a antimicrobianos. As cepas foram isoladas de amostras de água e sedimento de 3 pontos por canal (n=18). As coletas bimestrais foram realizadas em maré baixa, para avaliar apenas o conteúdo dos canais. Foi efetuada a Técnica de Membrana Filtrante usando meios específicos. As cepas positivas foram submetidas a Suscetibilidade por disco-difusão segundo os padrões do BrCAST para os seguintes antibióticos: amoxicilina, amoxicilina + clavulanato, ampicilina, levofloxacino, gentamicina, tetraciclina, amicacina e ciprofloxacino. Todas as cepas(n=144) foram resistentes a todos os antibióticos. De acordo com os resultados, as amostras de água demonstraram densidades médias dez vezes maiores(20000 UFC/100mL) do que permitido pela legislação. O sedimento não está incluso na avaliação realizada pelos órgãos de fiscalização, evidenciando negligência das autoridades. Isso é preocupante, pois as águas desembocam na praia interferindo na qualidade do ambiente e sendo um sério risco para os banhistas. Outro ponto é que a alta resistência pode funcionar como resistomas no ambiente. Assim, para que haja mudança efetiva na qualidade sanitária dessas praias, deve-se investigar e eliminar fontes poluidoras e também investir em tratamento de esgoto.

Palavras-chave: Antibiótico, Enterococcus, Multirresistente, Sedimento, Legislação Ambiental

Resistance Monitoring of Faecal Bioindicators of Santos-SP Channels

The discharge of untreated sewage in the coastal areas of Brazil is a persistent reality, being responsible for most of the environmental impacts on the coast. Because of this, the State of São Paulo conducts weekly monitoring to monitor the quality of recreational waters on the beaches. In this context, Santos has 6 drainage channels throughout the bay that are polluting sources, as they have clandestine connections of domestic effluent. This study aimed to evaluate the density of fecal bioindicators (*Escherichia coli* and *Enterococcus* sp) and their resistance to antimicrobials. The strains were isolated from water and sediment samples of 3 points per channel ($n = 18$). The bimonthly collections were carried out at low tide, to evaluate only the content of the channels. The Filter Membrane Technique was performed using specific means. Positive strains were subjected to Susceptibility by disk-diffusion according to BrCAST standards for the following antibiotics: amoxicillin, amoxicillin + clavulanate, ampicillin, levofloxacin, gentamicin, tetracycline, amikacin and ciprofloxacin. All strains ($n = 144$) were resistant to all antibiotics. According to the results, the water samples showed average densities ten times higher (20000 UFC / 100mL) than allowed by the legislation. The sediment is not included in the assessment carried out by the inspection bodies, showing negligence by the authorities. This is worrying, as the water flows into the beach, interfering with the quality of the environment and being a serious risk for bathers. Another point is that high resistance can function as resistomas in the environment. Thus, for there to be an effective change in the sanitary quality of these beaches, it is necessary to investigate and eliminate polluting sources and also to invest in sewage treatment.

Key words: Antibiotic, *Enterococcus*, Multidrug-resistant, Sediment, Environmental Legislation

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO.....	10
2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
2.1- Sobre os canais.....	11
2.2- Balneabilidade e os Corpos d'água Afluentes à Praia	13
2.3-Bioindicadores de Contaminação Fecal e Resistência Microbiana.....	16
3- OBJETIVO.....	18
4- MÉTODOS	
4.1- Área de Estudo.....	18
4.2- Coletas.....	19
4.3- Processamento de Amostras.....	20
4.3.1- Técnica de Membrana Filtrante.....	20
4.3.1.1- <i>Enterococcus</i> spp	20
4.3.1.2- <i>Escherichia coli</i>	21
4.4- Isolamento das Cepas	21
4.5- Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos.....	21
5- RESULTADOS	
5.1- Danos Abióticos.....	22
5.2- Densidades Microbianas	
5.2.1- <i>Escherichia coli</i> em água.....	23
5.2.2- <i>Escherichia coli</i> em sedimento.....	30
5.2.3- <i>Enterococcus</i> spp em água.....	36
5.2.4- <i>Enterococcus</i> spp em sedimento.....	42
6-DISSCUSSÃO	
6.1- Dados Abióticos.....	48
6.2- Contaminação Fecal	49
6.3- Resistência a Antimicrobianos.....	50
7- CONCLUSÃO.....	52
8- REFERÊNCIAS	54

1-INTRODUÇÃO

Cerca de 96,5% da água do planeta é representada pelos oceanos os quais abrigam uma grande biodiversidade ainda pouco conhecida., entretanto habitats marinhos estão contaminados por substâncias artificiais, de maneira global, sendo 80% dos poluentes de origem terrestre, como plásticos, rejeitos agrícolas, pesticidas e esgoto não tratado. Toda essa carga bioquímica colabora para o aumento das áreas hipóxicas que contribuindo para o aumento das chamadas “zonas mortas”, resultado do colapso de ecossistemas(UNESCO., 2017; ROMAN et al.,2019; HAWARD., 2018).

No caso do Brasil, os impactos ambientais seguem uma tendência histórica, uma vez que as primeiras ocupações europeias, assim como a exploração dos recursos naturais ocorreram na área costeira. Outro fato contemporâneo foi o chamado evento de “segunda residência” durante os anos 1960, que agravou a situação das áreas litorâneas no Estado de São Paulo. Residentes do interior do estado e da capital migravam sazonalmente para o litoral Norte e Baixada Santista nos meses de férias e feriados, principalmente no verão. O aumento da população flutuante e, conseqüentemente, da carga orgânica de esgotos produzida, associado a falta de investimento do poder público (Estado) em tratamento de esgoto terciário nessas áreas, resultaram na baixa qualidade da água em áreas nas quais são lançados estes esgotos (MACEDO, 1998; ABESSA et al., 2005)

Tendo em vista que os esgotos domésticos podem carrear diversos contaminantes orgânicos, incluindo microrganismos patogênicos, é possível afirmar que, a baixa qualidade de águas marinhas costeiras pode representar um grave problema de saúde pública (PINTO et al., 2012). Nos meses de verão é comum, no Brasil, o aumento de casos de doenças de veiculação hídrica, associado a ingestão e ao contato com água contaminada (BILA et al., 2003; RODRIGUES et al.,2016). Dessa maneira, há muito tempo se reconhece no Brasil e no Estado de São Paulo a necessidade e a importância do monitoramento da qualidade de águas marinhas costeiras utilizando padrões físicoquímicos e biológicos (TOMMASI et al.,1987; ABESSA et al., 2005; ABESSA et al., 2012; KACAR et al., 2016).

Essas águas são classificadas como “águas recreacionais” e assim como prevê o artigo 274 de 29/11/2000 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), devem ter sua qualidade monitorada(WADE et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2008). No caso do Estado de São Paulo, o monitoramento é de competência da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), tendo por objetivos verificar a qualidades das praias do Estado, bem como alertar sobre quais delas oferecem riscos a saúde da população, através de boletins semanais (CETESB, 2018).

A legislação prevê o uso de 3 indicadores microbiológicos, sendo eles Coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e *Enterococcus* sp. No caso de *Enterococcus* sp valores superiores a 400 Unidades Formadoras de Colônia UFC/100m L em uma amostragem final caracterizam a praia

como imprópria para o uso, o mesmo ocorre quando há densidades maiores a 2000UFC/100mL para *E. coli*(CONAMA 274/00).

O efluente doméstico também pode conter substâncias farmacológicas como medicamento de uso contínuo e também antibióticos e antimicrobianos. Os bioindicadores de contaminação fecal sofrem pressão seletiva em contato com antimicrobianos, após serem despejados no ambiente adquirindo genes de resistência, que por sua vez, poderão voltar ao contato humano mais fortes(KOLM et al., 2018; MARTI et al.,2014).

Além das águas de regiões costeiras, outros compartimentos também devem ser considerados quanto à contaminação e suas consequências para saúde dos usuários de praias, como é o caso dos sedimentos. De acordo com a legislação vigente, as praias recebem classificação positiva ou negativa baseada apenas na qualidade de suas águas, porém é na areia em que o banhista permanece por mais tempo. Estudos prévios já demonstraram que é no sedimento que está a maior quantidade de microrganismos, pois este oferece abrigo, melhor fixação, nutrientes e ainda mantém temperatura ideal, como uma estufa. Porém o litoral Paulista não possui legislação que qualifique o sedimento (OLIVEIRA et al., 2008; WHEELER et al., 2003; WEISKERGER et al., 2019).

Outro fator importante é monitorar áreas adjacentes as praias, pois segundo a CETESB, águas afluentes às praias também são avaliadas, pois elas podem comprometer a qualidade sanitária dos mares e é fundamental para melhor entendimento dos resultados observados no “Programa de Balneabilidade das Praias Paulistas” e são apenas 600 pontos ao longo de todo o estado, monitorados semestralmente.

Corpos d’água específicos ou sem nomenclatura tem sido negligenciados quanto a avaliação da qualidade, embora possam ser potenciais focos de poluição e de microrganismos resistentes ao chegarem em mares e rios(KOLM et al.,2018). Dessa maneira, se faz cada vez mais necessário o desenvolvimento de estudos nas áreas adjacentes as praias não apenas para identificar fontes poluidoras, mas também para controlá-las e avaliar seu impacto negativo quanto a balneabilidade.

2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1- Sobre os Canais

No final do século XIX, Santos era considerada uma cidade totalmente insalubre com valões de esgoto a céu aberto percorrendo todas ruas. A situação era ainda pior nas áreas de alagadiço, pois a maré subia trazendo sedimento fino produzindo bancos de areia que impediam o escoamento da água e materiais em putrefação e também pelo excessivo número de cocheiras, já que no auge da cultura cafeeira, a produção era trazida para o porto em carroças. Do Valongo até o Outeiro de Santa Catarina (trecho onde hoje se localiza a zona portuária) todo lixo da cidade era reunido exalando mal cheiro (FAMS, 2019).

A cidade se transformava no porto do Café e abrigando uma superpopulação de trabalhadores envolvidos na construção da ferrovia, do cais e escoamento da produção agrícola; que residiam em cortiços, quintais e cocheiras e todo os dejetos eram destinados para via pública na região central(CARRIÇO, 2016).

A insalubridade começou gerar prejuízo econômico, havendo avisos nos portos Europeus de que os navios não atracariam no litoral paulista, tranquilizando trabalhadores com medo das doenças. A população local também sofria com o “Porto Maldito”, apenas trabalhadores que necessitavam permaneciam na região(FAMS, 2019).

Entre 1890 a 1900, 22.600 pessoas morreram pelas epidemias santistas. Assim deparando-se com esse cenário de caos, a situação sanitária começou a mudar já com a construção da murada do Porto, construída pela Companhia Docas de Santos em 1892, que substituiu um porto feito de trapiches de madeira, pela estrutura de concreto com terminais, guindastes e armazéns. Posteriormente com a sua ampliação e a dragagem do lodo negro essa obra foi nomeada como Cinturão Sanitário(FAMS,2019).

Assim, os canais de Santos foram projetados em 1898 pelo pioneiro engenheiro sanitaria Francisco Saturnino Rodrigues de Brito, porém apenas construídos efetivamente em 1905 já que o projeto era considerado utópico. A pedido do Governo do Estado de São Paulo, Saturnino foi chamado para ajudar a conter a epidemia de febre-amarela que assolava não apenas o litoral paulista, mas que já de disseminava atingindo capital e os trabalhadores da lavoura de café no interior(FAMS, 2019; FARIA, 2015).

Após assumir o cargo de engenheiro chefe da Comissão de Saneamento de Santos, a construção dos canais se iniciou com o objetivo de drenar a água das áreas alagadas por riachos, destinar esgoto doméstico e águas pluviais. O projeto possuía três pilares em uma só estrutura: a captação de esgoto sanitário e sua depuração, modificação das instalações domiciliares (já que as casas não possuíam banheiro) e destinação de esgotos pluviais das sarjetas, galerias e canais de drenagem (FAMS, 2019; ANDRADE, 1992).

A estrutura dos canais diferem entre si, uma vez que dependiam das condições locais. Foram projetados para esgotar a drenagem das águas que desciam dos morros e que espalhariam pelos bairros futuros. Os canais foram construídos da faixa de areia até a extensão do cais de modo que pela subida e descidas das marés houvesse renovação do fluxo de água (FAMS, 2019).

Em 1907 é inaugurado o canal 1 e as obras são acompanhadas de melhorias urbanas como grandes avenidas, calçamento e arborização para diminuir os danos do calor. Um dos desafios desta obra foi o acordo feito entre proprietários e prefeitura para que estes liberassem terrenos. Saturnino motivado pelo resultado dos acordos não apenas realizou o projeto de saneamento, mas um projeto inovador de urbanização geral da cidade, respeitando o traçado das ruas já existentes, porém houve

rejeição dos donos de grandes chácaras e o governo preferiu seguir o projeto urbanístico de 1890(ANDRADE,1992; FAMS, 2019; BERTONI, 2015).

Com o problema sanitário resolvido, a cidade foi se expandindo para a zona leste (orla de Santos) e novos bairros foram surgindo e a Santos dos anos 1920 não assustando mais moradores e europeus. A cidade passou a atrair turistas da capital e projetos complementares ao projeto de arborização de Saturnino foram implementados. Foram construídos os Jardins da Orla em 1936 e o Orquidário em 1945(LOPES, 2013; FAMS,2019).

Hoje os canais fazem parte do contexto urbano e estão presentes no cotidiano dos santistas por abrigarem as principais avenidas, atravessarem a cidade da Orla até o Cais, fazendo parte desde a zona mais nobre até os cortiços na porção central. As suas águas não recebem monitoramento e não há empregado nenhum padrão de qualidade, por isso é um cenário de descaso havendo deposição de toda sorte de resíduos. As informações divulgadas sobre saneamento pela prefeitura, são baseadas em pesquisas feitas por instituições particulares e colocam Santos como referência no assunto, porém nada é mencionado sobre os canais já que tudo a seu respeito é suposto.

2.2- Balneabilidade e os corpos d'água afluentes à praia

As 6 praias de Santos são contempladas pelo programa de monitoramento realizado pela CETESB desde 1970, pois se enquadram nas diretrizes por possuírem alta frequência de banhistas e/ou presença de adensamento urbano próximo que apresente forte contaminação fecal.

De acordo com CETESB (2018) as amostras de água do mar são coletadas semanalmente aos domingos a 1m de profundidade, local em que a maioria dos banhistas permanece ao tomar banho de mar. As análises são realizadas em laboratório através da técnica de membrana filtrante, que consiste na retenção dos microrganismos em membrana de porosidade inferior ao tamanho das bactérias. A membrana então é colocada em placas com meio de cultura específico e incubadas por 24 horas e então é realizada a leitura.

Semanalmente é divulgado um boletim online com a qualidade das praias e é estabelecida a bandeira, colocada em frente ao ponto de amostragem, que indicará se a praia é própria para o banho (bandeira verde) ou imprópria (bandeira vermelha). Os resultados anuais são compilados em um relatório geral e uma nova classificação é dada a praia, baseado na quantidade de vezes que ela esteve com qualidade boa ou ruim. (CETESB, 2018).

Com o intuito de determinar de uma maneira mais clara a tendência da qualidade das praias, a CETESB desenvolveu um compilado das amostragens semanais e desenvolveu a Qualificação Anual (figura 1). Baseada em critérios estatísticos, essa análise leva em consideração a qualidade que a praia apresentou mais constantemente, ao longo do tempo (CETESB, 2000).

QUALIFICAÇÃO ANUAL	ESPECIFICAÇÃO
ÓTIMA	Praias classificadas como EXCELENTE em 100% do ano
BOA	Praias PRÓPRIAS em 100% do ano, exceto as classificadas como EXCELENTE em 100% do ano
REGULAR	Praias classificadas como IMPRÓPRIAS em porcentagem de tempo inferior a 50% do ano
MÁ	Praias classificadas como IMPRÓPRIAS em porcentagem de tempo igual ou superior a 50% do ano

Figura 1: fonte: Relatório de Balneabilidade de Praias - CETESB 2000

Em um compilado de 31 anos de

relatórios podemos traçar um panorama da situação sanitária de Santos. Em relatório de 1988 divulgado pela CETESB, é mencionado que após má qualidade das praias em décadas anteriores, grandes investimentos foram feitos na área de saneamento, implementando sistema de coleta e interceptação de esgoto, bem como a construção do emissário submarino. Essas obras e a tentativa de extinção das ligações clandestinas de esgoto nos canais contribuíram para uma certa melhoria, embora ainda persista uma má qualidade na maior parte do tempo em todas as praias.

O mesmo relatório citou fatores que contribuíram para o estado sanitário da localidade, sendo estes os esgotos sanitários oriundos de Cubatão que comprometem a qualidade da cabeceira do Estuário de Santos, descarga de esgotos de São Vicente, Vicente de Carvalho e outras áreas adjacentes. Entretanto, o principal fator apontado foi a influência imediata dos 7 canais na qualidade das praias de Santos, predominantemente em maré vazante e durante os períodos de chuva. As águas pluviais provocaram extravasamento do sistema de esgoto carreando detritos acumulados nas galerias até a praia, os quais com o aumento da população nos meses de janeiro e fevereiro provocou aumento de 3 a 4 vezes nas densidades de coliformes (CETESB, 1988).

De 1989 a 1990, pelo menos duas, das 6 praias monitoradas, ficaram 100% do tempo como impróprias para banho, porém no compilado geral a péssima qualidade se manteve. Já em 1991 ocorreu uma melhora, uma vez que todas as praias ficaram, algum tempo, próprias para banho, embora conclusão anual tenha sido imprópria (CETESB, 1989; CETESB, 1990).

No período de 1992 a 1996 uma melhora foi notada devido a reversão de água de todos os canais para o emissário Submarino, bem como à ativação das comportas. As praias mais centrais (Embaré, Boqueirão e Gonzaga) foram classificadas como regulares, demonstrando os benefícios dessas medidas. (CETESB, 1992; CETESB, 1993; CETESB, 1994; CETESB, 1995; CETESB, 1996).

Em 1997, o “Programa de Balneabilidade das Praias Paulistas” divulgou pela primeira vez os dados dos corpos d’água afluentes as praias (figura 2), no qual um monitoramento semestral contemplou os 7 canais. Em março e novembro todos os canais apresentaram densidade de coliformes fecais muito acima do permitido, não atendendo à legislação em 90% dos pontos não atendia a legislação CONAMA 20/86 (1000NMP coliforme fecal/100mL). O mesmo perfil se manteve de 1998

a 2007.CETESB, 1997; CETESB, 1998; CETESB,1999; CETESB, 2000; CETESB, 2001; CETESB, 2002; CETESB, 2003; CETESB, 2004; CETESB, 2005; CETESB, 2006; CETESB 2007).

CORPOS D' ÁGUA AFLUENTES ÀS PRAIAS			
PRAIA	LOCAL	Coliforme fecal	
		Março	Novembro
	CANAL 7	300000	23000
	CANAL 6	500000	80000
	CANAL 5	17000000	2400000
	CANAL 4	2300000	300000
	CANAL 3	30000000	1300000
	CANAL 2	240000000	1300000
	CANAL 1	5000000	23000
	BACIA DO MACUÇO	50000	300000
	BACIA DO MERCADO	1100000	500000
	JOSÉ MENINO - DIVISA SANTOS/SÃO VICENTE	< 2	1800000

 Não atenderam ao padrão estabelecido pela legislação CONAMA 20/86 (1000 NMP coliforme fecal/100 mL)

Figura 2: Primeiros dados sobre a qualidade dos corpos d'água afluentes as praias. Fonte: Relatório de Balneabilidade das Praias Paulistas- CETESB, 1997

O relatório de 2008 realizou um comparativo a respeito dos resultados de corpos d'água afluentes as praias e afirmou que, o não atendimento da legislação, segundo a amostragem de águas nesses locais, foi devido ao grande volume de efluente doméstico que esses pontos receberam, sendo importantes fontes poluidoras das praias. No mesmo relatório foi salientada uma piora na qualidade das praias classificadas no relatório anterior como regulares uma vez que em 2007 as mesmas foram classificadas como péssimas. Essa situação perdurou até 2011. (CETESB, 2008; CETESB,2009; CETESB, 2010; CETESB, 2011).

Uma melhora na qualidade das praias foi observada, de modo geral, em 2012, foi devida a baixa pluviosidade. Em 2013 entretanto, a melhora não se manteve devido e, segundo o relatório CETESB, a piora foi devida a situação dos canais, os quais, segundo os resultados das análises microbiológicas, não atenderam a legislação em 100% dos pontos, evidenciando uma contaminação na grandeza de 10^4 a 10^6 em coliformes termotolerantes (CETESB, 2012; CETESB, 2013). No período entre 2014 e 2015 houve uma oscilação na qualidade das praias, de modo que as praias se mantiveram regulares no primeiro ano e péssimas no segundo (CETESB, 2014; CETESB, 2015).

Nos relatórios de 2016 a 2018 a tendência no que diz respeito as águas dos canais se mantiveram iguais, de modo que a melhora foi praticamente imperceptível já que o não atendimento da legislação perdurou em 90% dos pontos com elevadas densidades de coliformes termotolerantes. Apesar da qualidade ruim das águas dos canais de Santos a qualidade das praias se manteve regular, com leve aumento na porcentagem de tempo que se mantiveram próprias ao banho(CETESB, 2016; CETESB, 2017, CETESB,2018).

Assim, observa-se que as praias de Santos estiveram e se mantiveram impróprias para banho de 1988 a 2018.

2.3- Bioindicadores de Contaminação Fecal e Resistência Microbiana

A resolução 274/00 do CONAMA indica o uso de coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp como indicadores de contaminação de origem fecal. A *Escherichia coli* é utilizada como indicador de contaminação fecal não apenas por ser colonizadora do trato gastrointestinal de humanos, mas também de animais homeotérmicos. Apesar dessa Gram-negativa ser comensal, há ocorrência de cepas patogênicas ainda que estejam em minoria; que podem provocar diarreia, colite hemolítica, meningite neonatal, septicemia nosocomial, entre outras doenças que podem ser veiculadas pela água (MASTERS et al., 2011).

A agência ambiental americana, United States Environmental Protection Agency (USEPA) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) defendem o uso de outro microrganismo para estimar contaminação fecal das águas marinhas, bactérias do grupo Enterococos *Enterococcus* spp.

Assim como a *E. coli*, estas bactérias são parte da microbiota do trato intestinal de homeotérmicos (USEPA.2017; CHEUNG et al., 2015) sendo consideradas bioindicadoras ideais para águas salinas por crescerem em temperaturas entre 10°C e 45°C , em na presença de 6.5% NaCl e pH 9.6 (BYAPPANAHALLI et al., 2012).

A resistência microbiana é relatada como um fenômeno natural acontecendo, independentemente, da descarga de antibióticos sintéticos no ambiente, porém o uso indiscriminado dessas fármacos pela população acelerou esse processo de certas cepas patogênicas têm ficado mais difíceis de tratar. Além disto, a transferência de genes de resistência entre bactérias acabam modificando a comunidade bacteriana autóctone como um todo, alterando seus padrões natos de resistência (ABRAHAN et al., 1940; MARTÍNEZ, 2012; DODD, 2012; COWAN et al., 2011).

O aumento global da resistência bacteriana se deve, entre outros fatores, ao uso de antimicrobianos como medicamentos para humanos e como preventivos nas atividades de aquicultura e agropecuária. Os antimicrobianos, entre eles os antibióticos, independentemente de onde sejam utilizados, contaminam os corpos d'água quando são eliminados junto com as fezes e urina e não são retirados de águas residuais pelo tratamento oferecido (RANG et al., 2016; MICHAEL et al., 2013; ROMAN et al., 2019).

Além disto, a precipitação (fluxo de chuvas) que tem influencia direta na densidade de bactérias nas águas, também pode aumentar de 1 a 2 ordens de grandeza a abundância de genes de resistência nos mares. Esses genes conferem resistência aos antibióticos de primeira linha de uso, como por exemplo: quinolonas, trimetoprim, sulfonamidas e tetraciclina; bem como antibióticos de último uso como vancomicina e carbapenêmicos (CARNEY et al., 2019).

De fato, a existência e a permanência, em diversos comportamentos ambientais, de cepas bacterianas resistentes a antimicrobianos tem sido demonstrada por vários autores. PROIA et al. (2018) detectaram em águas doces receptoras de efluentes, a presença de cepas de *E. coli* resistentes à Amoxicilina, Sulfametoxazol, Ácido Nalidíxico e Tetraciclina, selecionadas pela presença destes fármacos nestas águas.

Em outro estudo realizado em águas de tanques de cultivo de trutas, foram isoladas cepas de *Enterococcus* sp. resistentes a Tetraciclina, Eritromicina, Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Quinupristina-Dalfopristina, Nitrofurantoína e aminoglicosídeos. Em relação às cepas resistentes isoladas, cabe ressaltar que mesmo não sendo patogênicas estritas e tão pouco causadoras de doenças veiculadas por água e alimentos, sua ocorrência demonstra que ambientes aquáticos contaminados podem ser fontes da disseminação de bactérias resistentes tanto para a biota do local quanto para humanos (NOVAIS et al., 2018).

Estudos realizados em São Vicente, cidade vizinha a Santos, revelou cepas de *E. coli* resistentes a Tetraciclina, Ampicilina, Rifampicina e Estreptomicina em amostras de sedimento e água coletados na Praia do Gonzaguinha (COSTA ANDRADE et al., 2015).

A existência de bactérias resistentes, em ambientes aquáticos e outros, relatada pela literatura 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; PAVEZ et al., 2018).

De fato há uma tendência científica mundial em tratar a presença de antibióticos em corpos d'água (rios, córregos de maré, mares) e sedimentos como contaminante ambiental, 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).

A Baixada Santista abriga as maiores cidades do litoral Paulista, dentre elas a cidade de Santos. O município abriga o maior porto da América Latina e, embora sofra com as pressões antrópicas locais, também é uma importante estância balneária que recebe turistas durante os meses de verão, tendo sua população aumentada sazonalmente.

Assim, há necessidade de se fazer o monitoramento dessas áreas e o modo mais comum é utilizando a densidade de bactérias indicadoras de poluição fecal (FIB), dentre elas estão a *E. coli* e o *Enterococcus* spp. (SOUTO et al., 2015; KELLY et al., 2018).

Diante dos resultados que vem sendo apresentados pela literatura pertinente, a presença massiva de bactérias resistentes a antibióticos em corpos hídricos contaminados por esgotos domésticos torna evidente a necessidade de se conhecer a diversidade e os fatores que influenciam a distribuição destas bactérias portadoras de genes de resistência a antibióticos (GRA) nestes ambientes. O estudo e o monitoramento de espécies resistentes é de grande importância para saúde pública e ambiental, uma vez que sua presença em águas marinhas interfere no padrão de resistência das

bactérias autóctones, colaborando para disseminação de fatores de resistência e, conseqüentemente aumentando os riscos à saúde de humanos que possam vir a se contaminar com tais bactérias(LUPRANO et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2009).

3-OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho consiste no monitoramento bimestral das densidades microbianas de *Escherichia coli* e *Enterococcus* sp nos 6 Canais de Santos, bem como verificar a sua resistência a 8 antibióticos de amplo espectro.

4-MÉTODOS

4.1- Área de Estudo

A área de estudo consiste nos 6 canais de drenagem que atravessam a zona Leste do município de Santos, Baixada Santista (figura3). Considerada a maior cidade do Litoral Paulista, abriga o maior porto da América Latina e possui 433.311 habitantes residentes. A população oscila durante períodos de férias de verão e feriado, podendo alcançar 1 milhão de habitantes, segundo dados da prefeitura local e do IBGE, em pesquisa realizada em 2019.

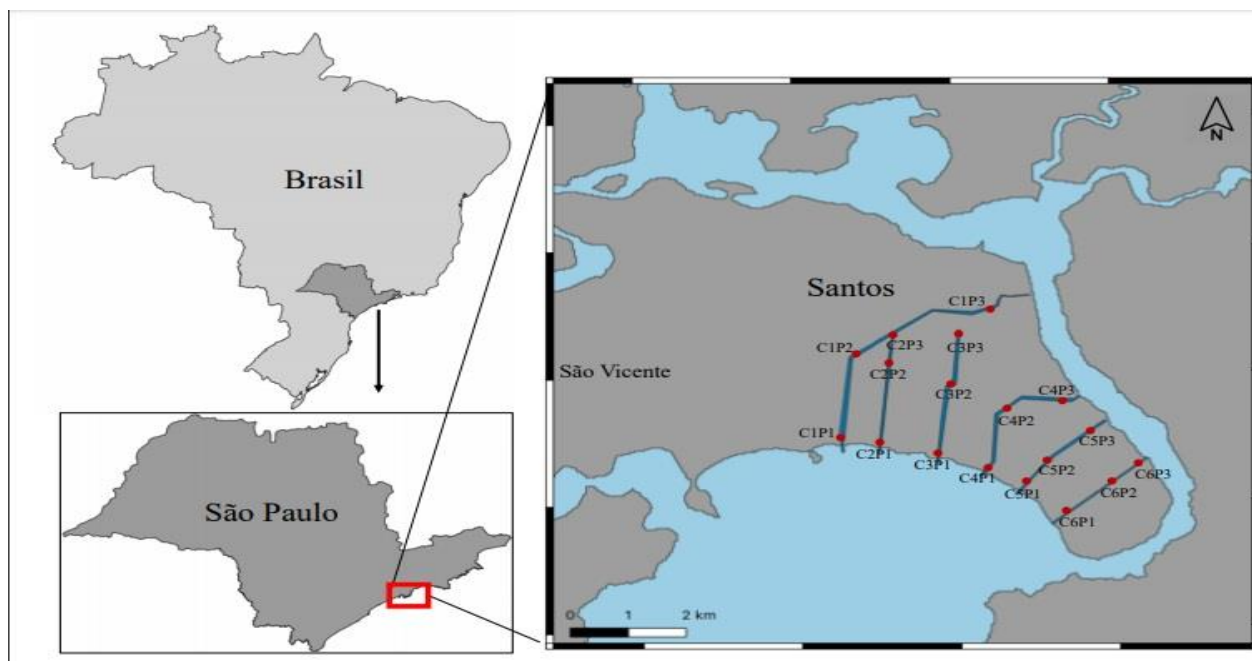


Figura 3: Área de estudo evidenciando o Município de Santos e seus Canais. Em cada canal foram demarcados 3 pontos(P1- mais próximo a praia , P2- na parte do meio e o P3- mais perto do cais) e os canais são nomeados a partir de números de 1 a 6 (C1, C2, C3, C4, C5 e C6).

Atualmente, devido a ação do Governo do Estado de São Paulo com a implantação do Programa Onda Limpa, para ampliar a captação de esgoto nessa área, houve a redução do despejo de efluente doméstico, que é armazenado e conduzido ao mar por meio do Emissário Submarino. O programa, em parceria com a Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP), também visa identificar e reduzir as ligações clandestinas nas galerias pluviais e dessa maneira melhorar a balneabilidade das praias.

Atualmente, devido a ação do Governo do Estado de São Paulo com a implantação do Programa Onda Limpa, para ampliar a captação de esgoto nessa área, houve a redução do despejo de efluentes domésticos, os quais são armazenados e conduzidos ao mar por meio do Emissário Submarino. O programa, em parceria com a Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP), também visa identificar e reduzir as ligações clandestinas nas galerias pluviais e dessa maneira melhorar a balneabilidade das praias.

4.2- Coletas

As coletas foram realizadas em frequência bimestral, na maré baixa compreendendo os meses de setembro e novembro de 2018, e janeiro, Março, Maio e Julho de 2019. Foram coletadas amostras de água e sedimento de três pontos ao longo dos seis canais de drenagem. Esses pontos foram posicionados de modo a contemplar a área urbana (figura 4), excluindo a faixa de areia, sendo posicionados (1) a uma distância mínima de uma quadra da praia, (2) um ponto central em relação a extensão do canal e (3) um ponto mais próximo do cais.

Amostras de sedimento foram coletadas com auxílio de uma draga e, posteriormente, acondicionadas em sacos plásticos estéreis, mantidos sob refrigeração ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) até seu processamento. As amostras de água foram coletadas em frascos estéreis, contendo tiosulfato de sódio e EDTA e mantidos sob refrigeração até processamento no Laboratório de Microbiologia Marinha, no Instituto de Biociências (IB), no Campus do Litoral Paulista- UNESP- São Vicente.

Durante as campanhas também foram coletados dados físico-químicos da água com auxílio de uma sonda Multiparâmetro- HORIBA- séries U-50, em cada um dos pontos.



Figura 4: Registro do Canal 3 em uma manhã de coleta. Fonte: Acervo do autor

4.3- Processamento de amostras

4.3.1-Técnica de Membrana Filtrante

Para a extração dos microrganismos aderidos as partículas de sedimento (Oliveira & Pinhata, 2008), 20g de sedimento foram pesados e acrescidos de 180mL de água destilada esterilizada. Posteriormente, foram submetidas à agitação por 10 minutos em agitador Kline, por duas vezes. O sobrenadante foi analisado a partir da técnica de membrana filtrante.

Tanto as amostras de água quanto as de sedimento foram filtradas em membranas Milipore® de $0,45\mu\text{m}$ de porosidade, as quais foram adicionadas aos meios seletivos específicos para o crescimento de cada bactéria, conforme APHA (2012). Os volumes filtrados para as amostras de sedimento e de água foram de 1mL e 5mL.

4.3.1.1- *Enterococcus* spp

Posteriormente ao procedimento de filtração, as membranas foram posicionadas em placas contendo Ágar mEnterococcus e incubadas a 37°C ($\pm 1^\circ$) por 48 horas. As colônias com tonalidade vermelha-amarronzado foram consideradas características e confirmadas por meio de Caldo Enterococcosel. Os tubos que continham o Caldo Enterococcosel foram incubados em estufa

bacteriológica a 35°C por 4 a 18 horas. Os tubos que apresentaram enegrecimento foram considerados positivos, obtendo assim a confirmação das colônias de *Enterococcus* spp. contabilizadas.

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 foram expressas em Unidades Formadoras de Colônia por grama (UFC g⁻¹).

4.3.1.2- *E. coli*

Após a filtração, as membranas foram colocadas nas placas com meio específico para *E. coli* (Ágar m-TEC) e acomodadas na estufa bacteriológica para depois serem incubadas a 35°C por 2 horas. Após este período, as placas foram retiradas e transferidas para em sacos plásticos e alocadas no banho-maria a 44.5°C $\pm$ 1°C por 24 horas para completar o ciclo de crescimento, como orientado pelo fabricante do meio.

A confirmação foi realizada com a retirada das membranas das placas e colocação sobre o papel-filtro saturado de solução de Uréia (2% Vermelho Difenol) e apenas as colônias verde-amareladas e marrom-amareladas foram contabilizadas como resultado positivo para *E. coli*.

4.4- Isolamento das cepas

As colônias confirmadas de ambos os microrganismos foram isoladas em *Agar Nutriente*, como estipulado pelo protocolo do Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST, 2017). Após a realização de 3 isolamentos para cada cepa, a fim de garantir colônias puras, com auxílio de uma alça de platina, as colônias foram suspensas em solução salina e padronizadas em 0,5 escala *McFarland*. Essa suspensão foi inoculada em meio *Agar Muller-Hinton*, antes de receber os discos de antibiótico.

4.5- Teste de sensibilidade a antimicrobianos

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 *Agar Muller-Hinton*.

As colônias foram testadas em relação aos seguintes antimicrobianos para *Enterococcus* spp e *E.coli*: Amicacina (AMI 30µg), Ampicilina (AMP 10µg), Amoxicilina (AMO 10µg), Amoxicilina+ Clavulanato (AMC 20µg), Ciprofloxacina (CIP 5µg), Tetraciclina (TET 30µg), Gentamicina (GEN 10µg), Levofloxacino (LVX 5µg). A escolha desses se justifica por já terem sua resistência documentada em outros estudos que utilizaram esses mesmos organismos presentes em águas, como é caso da Tetraciclina, Amoxicilina e da Ciprofloxacina (NOVAIS et al., 2018; PROIA et al., 2018; COSTA ANDRADE et al., 2015).

Os discos de antimicrobianos foram distribuídos de forma eqüidistante sobre a superfície da placa de Petri contendo *Agar Müller-Hinton* e 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, incluindo o diâmetro do disco, seguindo o padrão BrCAST.

De acordo com os diâmetros encontrados, pôde-se estabelecer o grau de suscetibilidade das bactérias aos antimicrobianos testados, verificando se os organismos são sensíveis, intermediários ou resistentes.

5-RESULTADOS

5.1- Dados Abióticos

Todos os dados obtidos foram reunidos em tabelas e foi confeccionado um 6 boxplot(figura 5) abrangendo cada parâmetro, em cada campanha por canal.

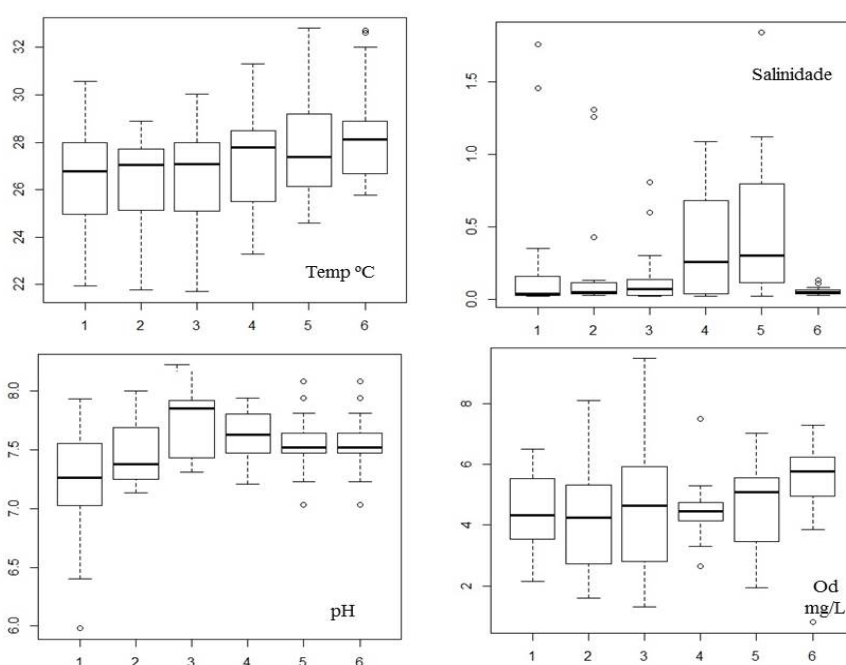


Figura 5: Variação dos parâmetros abióticos coletados em todas as campanhas agrupados por canais, de modo que o eixo X corresponde ao Canais. Temp(temperatura), OD (Oxigênio Dissolvido).

A temperatura (Temp °C) ao longo das coletas variou pouco, mesmo sendo em estações diferentes, assim a mínima ficou em torno de 22 °C nos meses mais frios e a máxima atingiu 32°C nos mais quentes. Importante salientar, que a variação da temperatura da água depende do

sombreamento do ponto e da hora coletada. Todas as coletas foram realizadas a partir das 8 horas, finalizando antes das 13 horas.

Quanto a salinidade as médias oscilaram, pois os canais possuem vazão e volumes diferentes, interferindo nesse sentido. O aporte de água doce é constante, originário das galerias pluviais e drenagem urbana, por isso a média de salinidade geral é 0,03, caracterizando água doce.

O pH se manteve na faixa esperada de 7, apresentando episódios isolados na faixa de 8, no Canal 5 e no Canal 6, porém houve divergências nos pontos C1P1, C1P2 E C6P2.

Por fim, o Oxigênio Dissolvido (OD) (tabela 2), apresentou médias semelhantes em cada um dos canais.

Tabela 1: Acumulado de precipitação mensal. Fonte: Prefeitura Municipal de Santos

Precipitação acumulada (mm)	Setembro/2018	Novembro/2018	Janeiro/2019	Março/2019	Mai/2019	Julho/2019
	81.5	268.7	295.7	327.0	479.2	186.0

Quanto as chuvas (tabela 1), Março teve o segundo maior índice de precipitação das campanhas, o que já era previsto devido as pancadas de chuva no final do Verão. Maio foi o mês com maior índice, contando com um episódio de Ressaca que persistiu por um final de semana, trazendo inclusive transtornos para cidade.

Tabela 2: Compilado dos valores de Oxigênio Dissolvido amostrados em todas as campanhas em todos os pontos

Canais	Setembro/2018	Novembro/2018	Janeiro/2019	Março/2019	Mai/2019	Julho/2019
Oxigênio Dissolvido- mg/L						
C1P1	5,8	4,17	2,39	3,86	5,75	3,20
C1P2	5,3	2,16	3,67	5,23	5,87	3,52
C1P3	3,15	4,33	4,5	3,4	6,5	5,32
C2P1	8,1	2,89	3,6	4,26	7,98	5,83
C2P2	1,6	4,24	4,2	4,41	4,41	4,14
C2P3	2,3	2,57	2,52	6,22	7,13	2,92
C3P1	1,8	3,75	9,49	5,09	5,21	4,52
C3P2	6,38	2,78	3,7	5,49	6,85	3,50
C3P3	1,3	2,85	2,35	4,64	6,73	6,55
C4P1	3,65	3,31	4,47	4,5	5,3	5,34
C4P2	4,19	4,2	2,65	7,5	4,76	3,55
C4P3	4,25	4,1	4,53	5,28	4,76	5,16
C5P1	5,5	5,09	2,63	7,04	5,47	4,16
C5P2	3,45	4,4	2,95	5,23	6,52	4,17
C5P3	3,47	1,93	3,8	5,61	6,13	5,05
C6P1	5,78	0,8	3,9	6,2	6,79	5,49
C6P2	5,85	5,19	3,85	4,71	6,8	8,14
C6P3	6,3	5,5	6,06	5,4	7,3	7,83

5.2- Densidades Microbianas

Os números obtidos nas contagens de bactérias foram transformados e padronizados em Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/ 100mL, seguindo o padrão da CETESB. Dessa maneira, foi confeccionado 1 mapa por campanha, demonstrando as densidades dos microrganismos

analisados em cada ponto de coleta específico em cada parâmetro analisado (água/sedimento). Quanto maior o gradiente de cor avermelhada, maior será a densidade de bactérias e mais longe ela estará do limite estabelecido pelo CONAMA 274/00.

5.2.1.- *Escherichia coli* em Água

No caso de *Escherichia coli*, o CONAMA 274/00 prevê um limite de 2000 UFC/100mL.

Em Setembro de 2018 (figura 6) percebe-se que a maioria dos pontos apresentaram gradiente avermelhado, com destaque a pontos mais críticos como o, C1P3, C2P2, C2P3 (próximo ao Hospital Beneficência Portuguesa), C3P2 e C3P3. Os únicos pontos que se apresentaram dentro dos limites da legislação são: C1P1(2000 UFC) C4P1(1090 UFC).

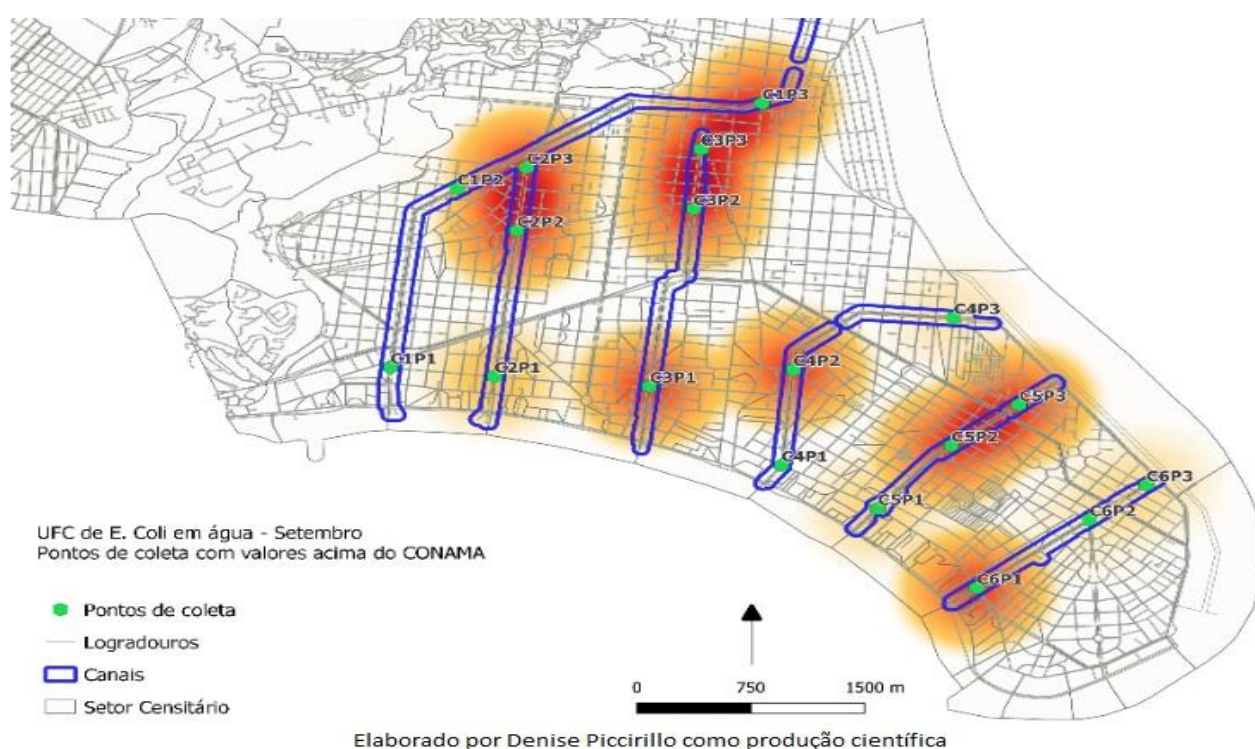


Figura 6: Mapa com gradientes de densidade de *E.coli* em água nos 18 pontos de coleta no mês de Setembro de 2018. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

Na campanha de Novembro de 2018 (figura 7), todos os pontos possuíram alguma tonalidade de gradiente avermelhado, destacando-se os pontos C1P3(30000 UFC/100mL), C3P2(30000 UFC/100mL) e C3P3(30000 UFC/100mL) como que continham maior densidade. Porém assim, como a campanha anterior, nota-se um problema generalizado em toda cidade.

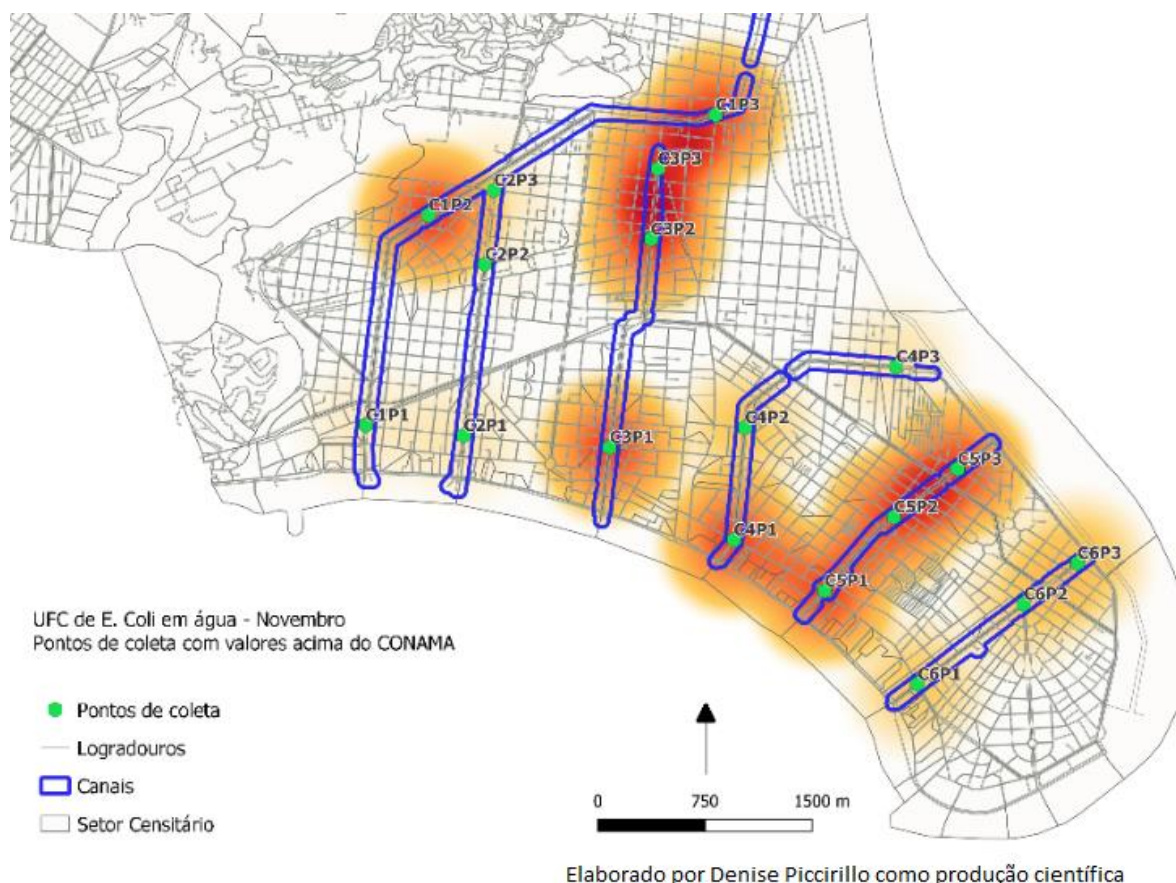


Figura 7: Mapa com gradientes de densidade de *E.coli* em água nos 18 pontos de coleta no mês de Novembro de 2018. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água.

Referente a campanha de Janeiro de 2019 (figura 8), o forte calor de 37°C, nota-se uma diminuição nas tonalidades dos gradientes coloridos, porém ainda persistiram a péssima qualidade das águas dos canais em todos os pontos. Nesse caso não houve nenhum ponto dentro do limite permitido pela legislação. Mais uma vez os piores pontos são: C1P3 e C2P3. Ainda dentro desse mês, talvez atrelado ao aumento populacional na região do Canal (4 e Canal 5, onde há muitas acomodações de veraneio (quitinetes) houve uma piora e destaca-se os pontos: C4P2 (próximo ao Hospital Municipal Guilherme Álvaro- 30000 UFC/100 mL), C4P3 e C5P3(30000 UFC/100mL).

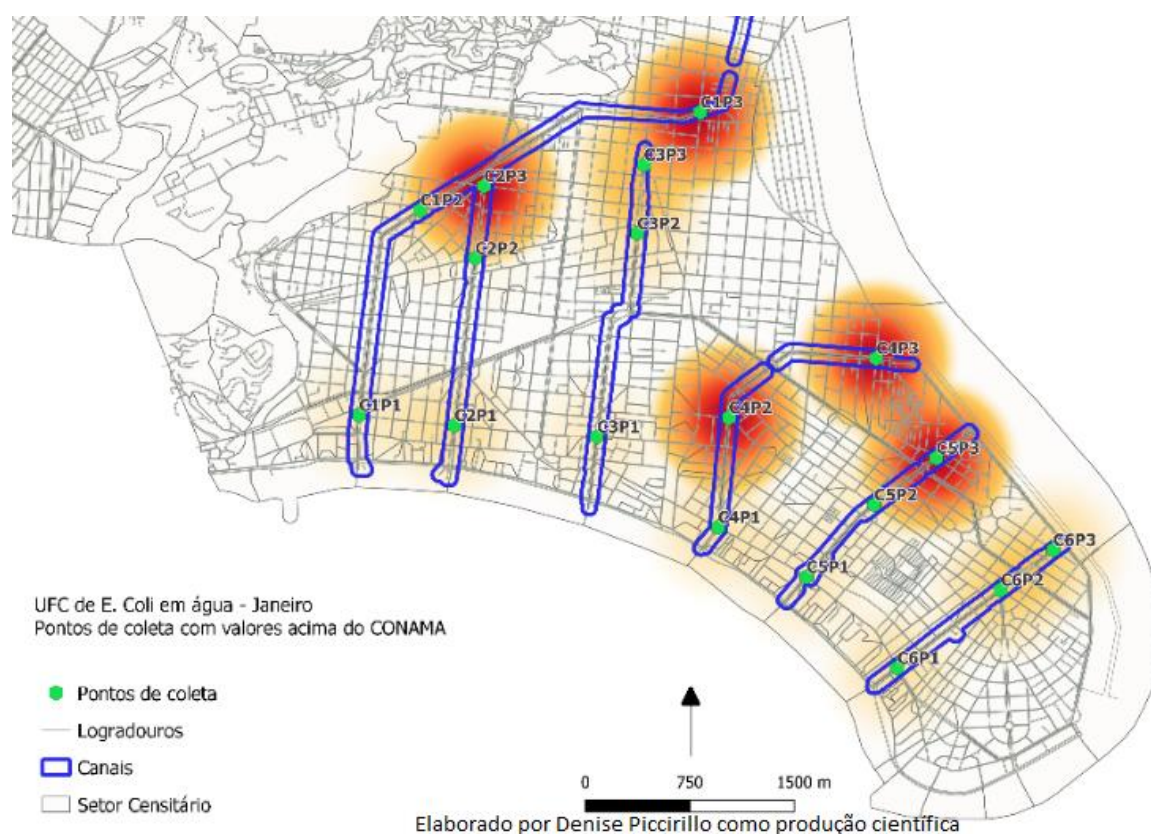


Figura 8: Mapa com gradientes de densidade de *E.coli* em água nos 18 pontos de coleta no mês de Janeiro de 2019. . O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

Em Março de 2019(figura 9), apenas o ponto C3P1 (1600 UFC/100mL) apresentou-se conforme os limites do CONAMA. O ponto C1P3 permaneceu na tendência observada nas campanhas anteriores. E o declínio da qualidade em pontos como C4P1, C4P2, C5P3 e C6P2 pode estar relacionado com o dia chuvoso na coleta. Porém 17, dos 18 pontos de coleta, se apresentaram com densidades elevadas e acima do permitido.

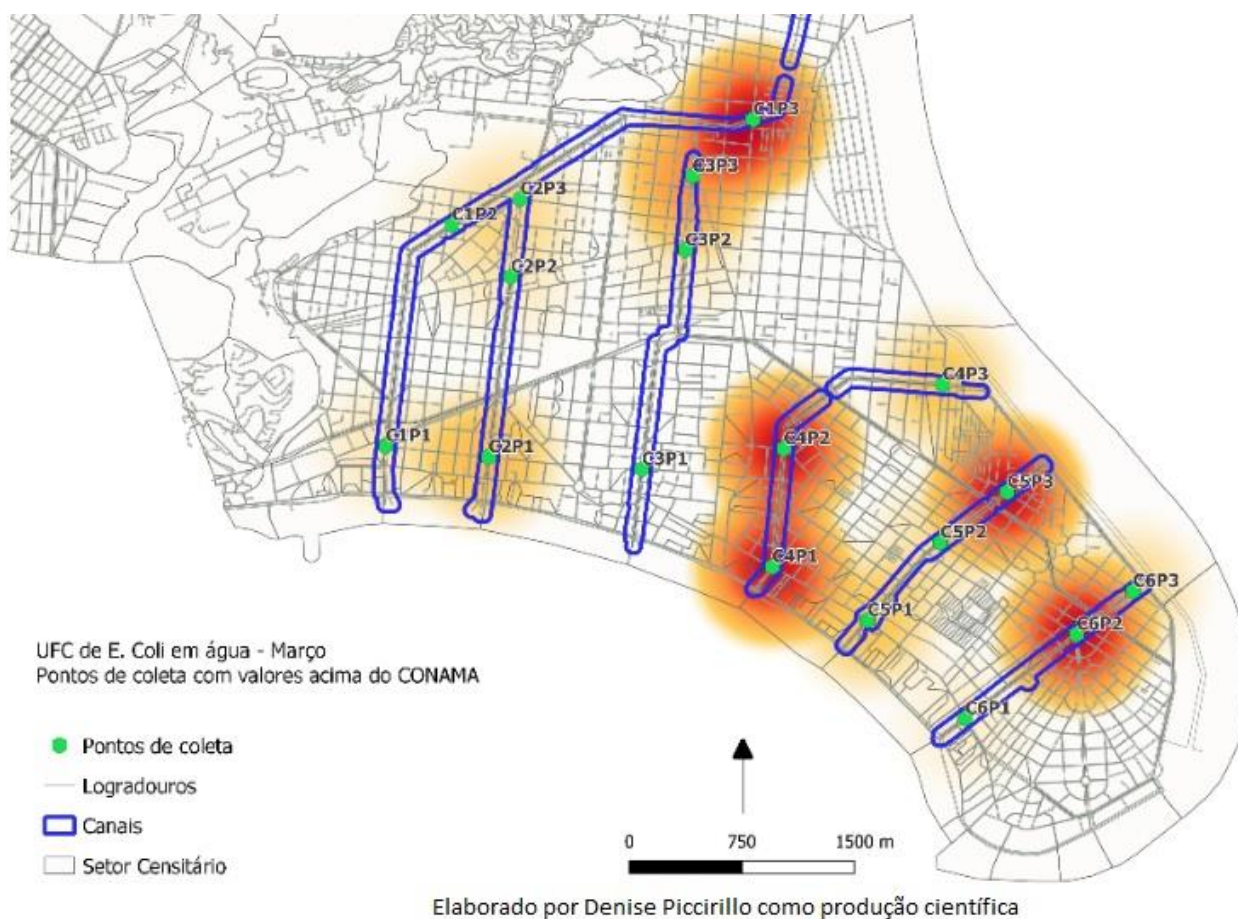


Figura 9: Mapa com gradientes de densidade de *E.coli* em água nos 18 pontos de coleta no mês de Março de 2019. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

A campanha de Maio de 2019 (figura 10) foi realizada após um final de semana de ressaca que podia piorar a qualidade das águas. Apenas 2 pontos se mantiveram dentro da legislação: C1P1 (1500 UFC/100mL), C3P3 (1800 UFC/100mL) e C4P3 (1900 UFC/100mL). O restante dos pontos teve o gradiente avermelhado mais intenso nos pontos: C2P2 e C2P3.

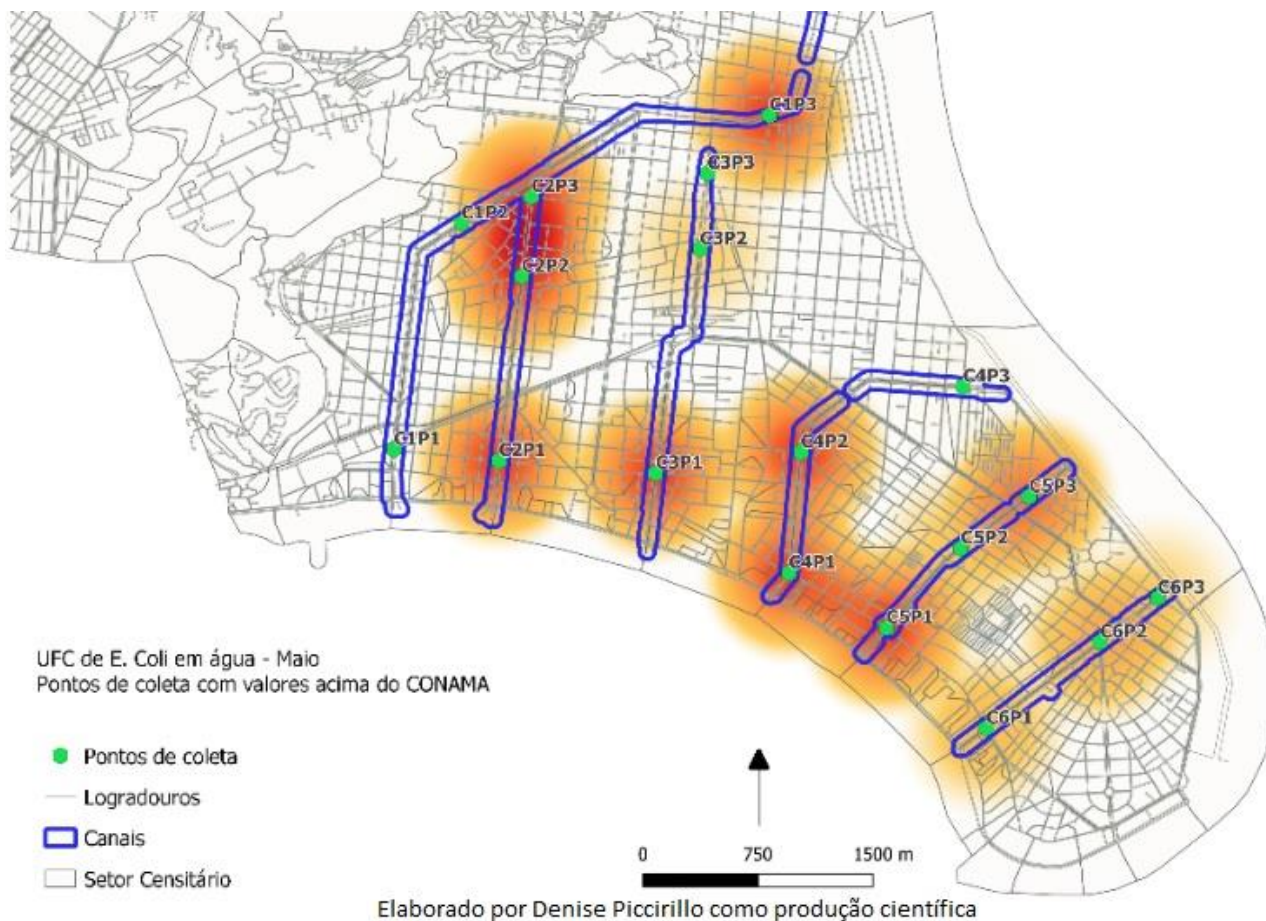


Figura 10: Mapa com gradientes de densidade de *E.coli* em água nos 18 pontos de coleta no mês de Maio de 2019. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

Em Julho de 2019(figura 11), houve 8 pontos críticos em má qualidade da água, sendo: C1P1, C1P2; toda extensão do Canal 2 (C2P1, C2P2, C2P3-próximo ao Hospital Beneficência Portuguesa); C4P1, C4P2(próximo ao Hospital Municipal Guilherme Álvaro) e C5P1.

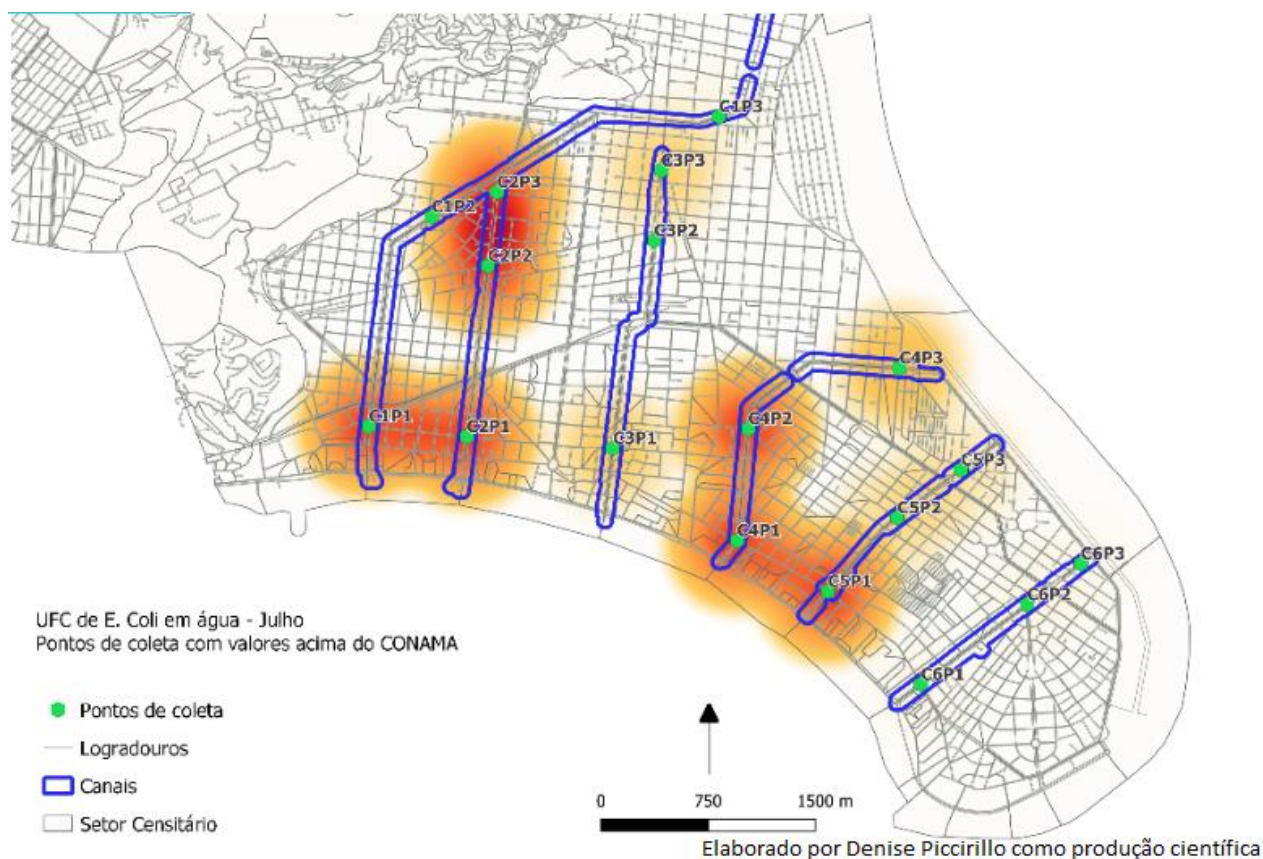


Figura 11: Mapa com gradientes de densidade de *E.coli* em água nos 18 pontos de coleta no mês de Julho de 2019.O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

5.2.2- *Escherichia coli* em sedimento

A legislação atual não prevê padrão de qualidade para sedimentos, então apenas a fim de comparação, será utilizado também o CONAMA 274/00, dessa maneira o gradiente avermelhado aparecerá a partir de valores maiores que 2000UFC/100mL.

Na campanha de Setembro de 2018(figura 12) percebeu-se uma leve tonalidade de gradiente avermelhado em todos os canais, de modo que todos os pontos apresentaram densidades acima do CONAMA. Porém 3 pontos se destacam: C1P3 (30000 UFC/100mL), C2P2 (45300 UFC/100mL) e C5P3 (30000 UFC/100mL).

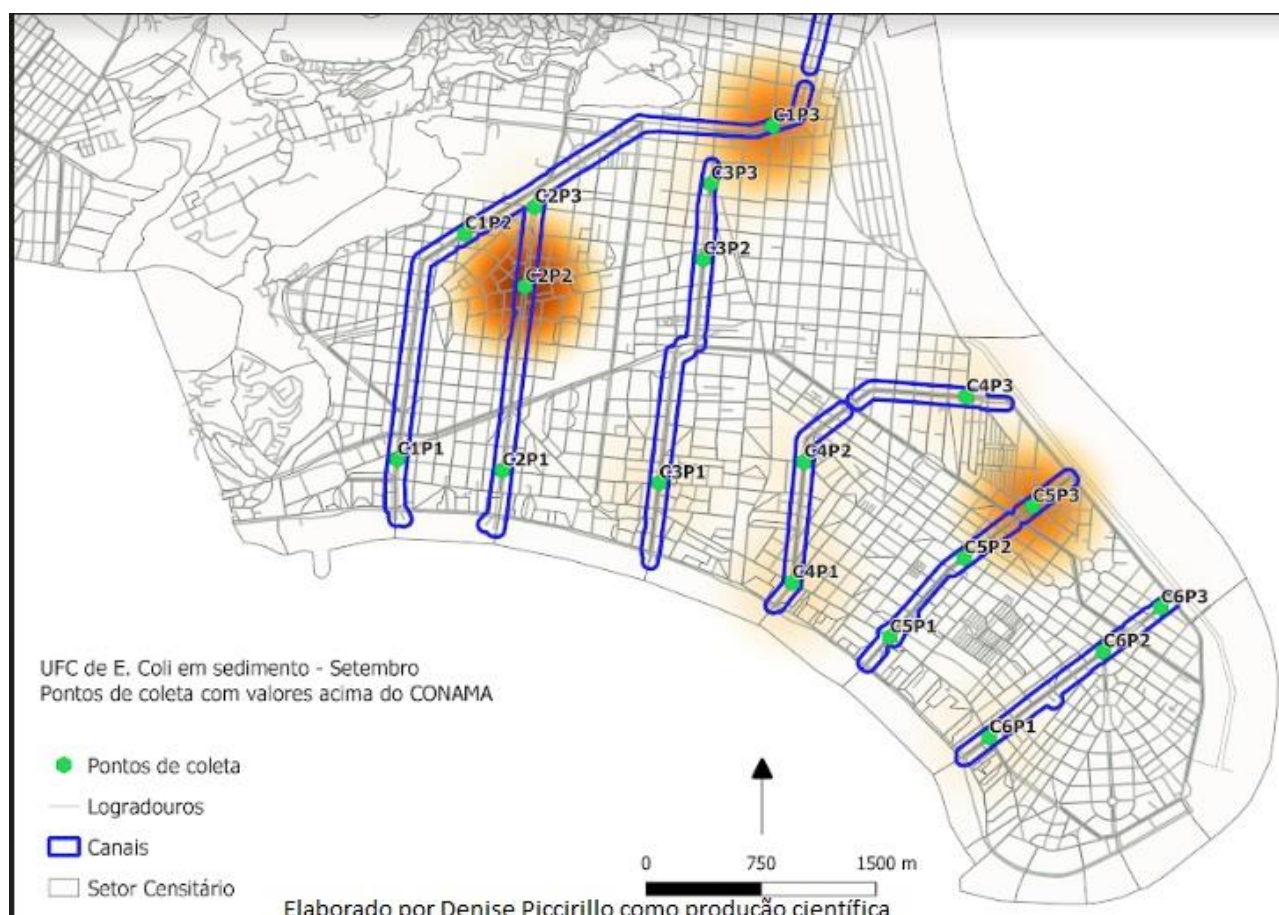


Figura 12: Mapa com gradientes de densidade de *E.coli* em sedimento nos 18 pontos de coleta no mês de Setembro de 2018. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

Na campanha de Novembro de 2018(figura 13), apesar de apresentarem gradientes claros, o único ponto com valor abaixo de 2000UFC/100mL é o C6P1 (1400 UFC/100mL). Os pontos C1P1, C1P3, C3P1 foram os quais apresentaram a pior qualidade.

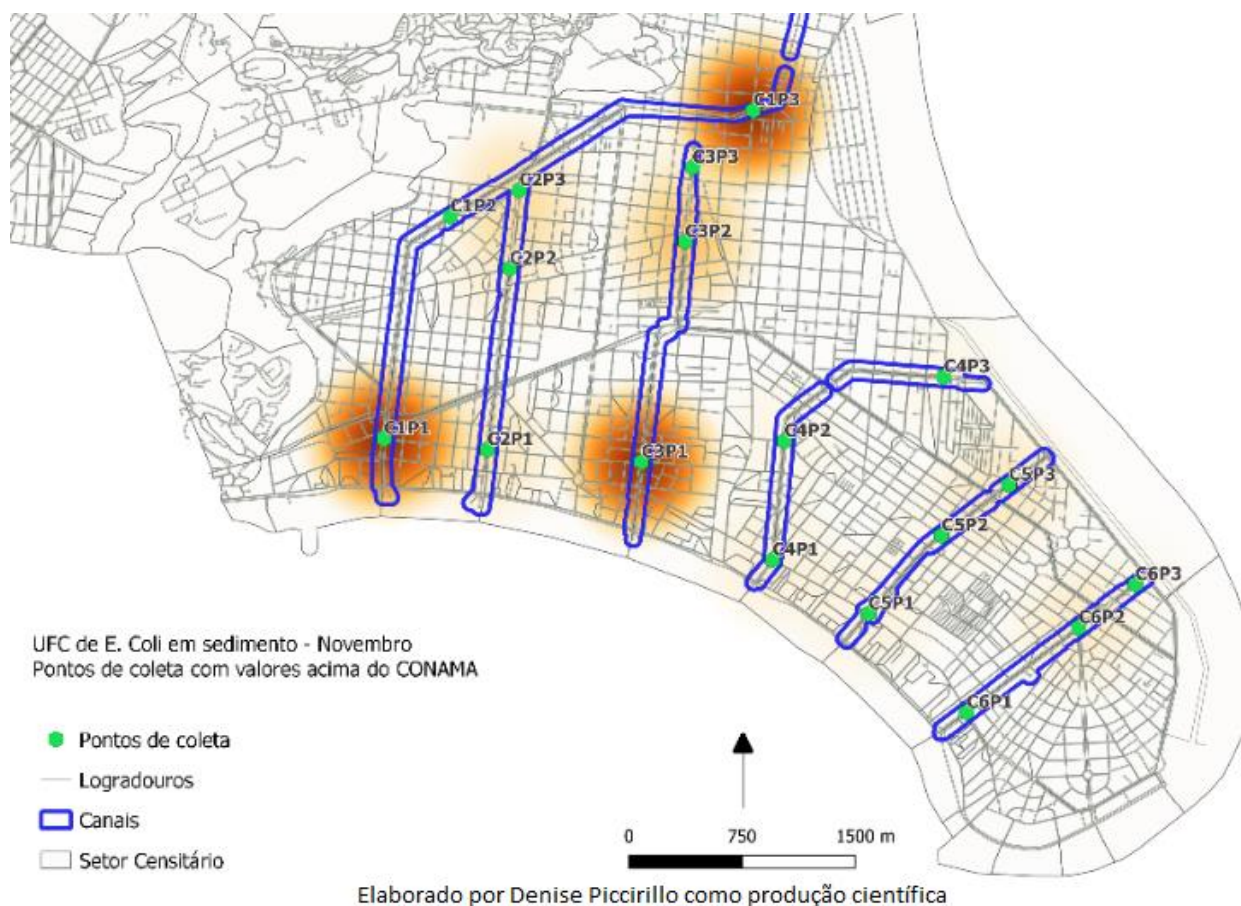


Figura 13: Mapa com gradientes de densidade de *E.coli* em sedimento nos 18 pontos de coleta no mês de Novembro de 2018. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

Na campanha de Janeiro de 2019 (figura 14), novamente todos os pontos apresentaram densidades acima do permitido, com destaque para os pontos C1P3, C3P1, C4P1 e C5P3 todo com 30000UFC/100mL.

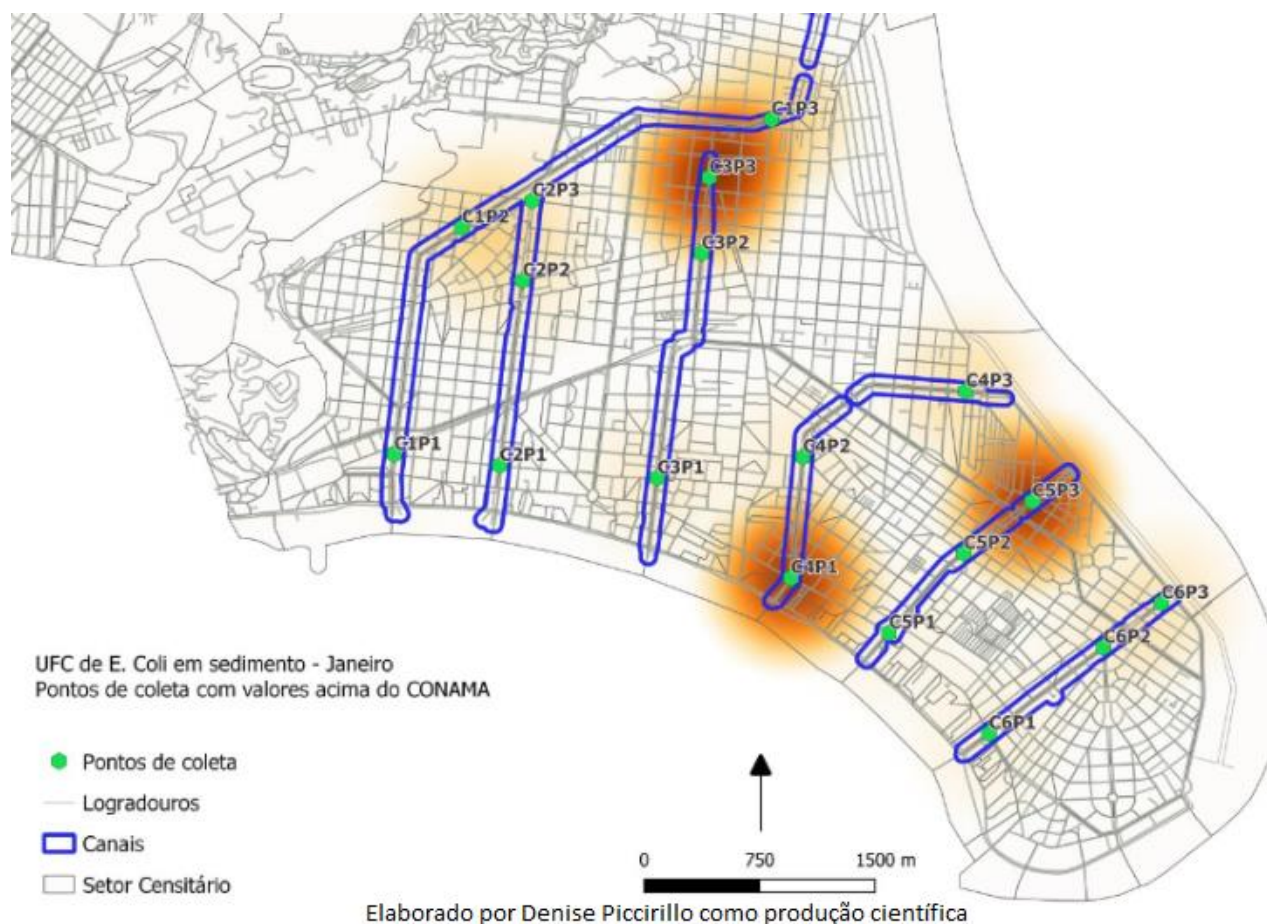


Figura 14: Mapa com gradientes de densidade de *E. coli* em sedimento nos 18 pontos de coleta no mês de Janeiro de 2019. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

Em Março de 2019 (figura 15), podemos ver que há menos intensidade nos gradientes avermelhados em cada um dos pontos, que evidencia que os pontos apresentam densidades superiores ao esperado na legislação. O ponto C6P2 foi o que apresentou a maior densidade.

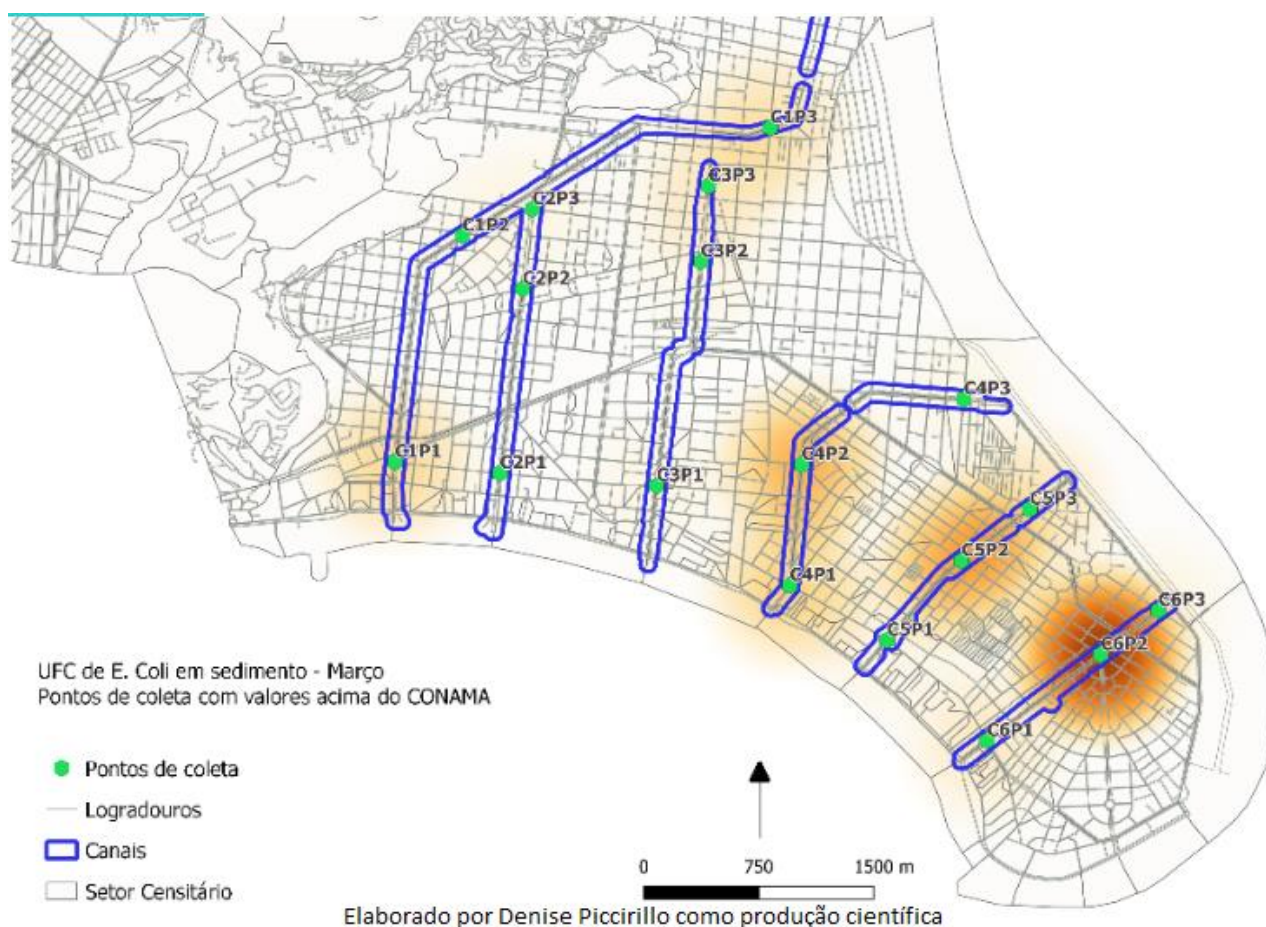


Figura 15: Mapa com gradientes de densidade de *E. coli* em sedimento nos 18 pontos de coleta no mês de Março de 2019. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

Na campanha realizada em Maio de 2019 (figura 16), os pontos que mais se destacaram quanto a alta densidade do sedimento foram: C3P1(30000 UFC/100mL) e C4P2 (2597 UFC/100mL). De maneira geral, todos os pontos apresentaram densidades acima do permitido.

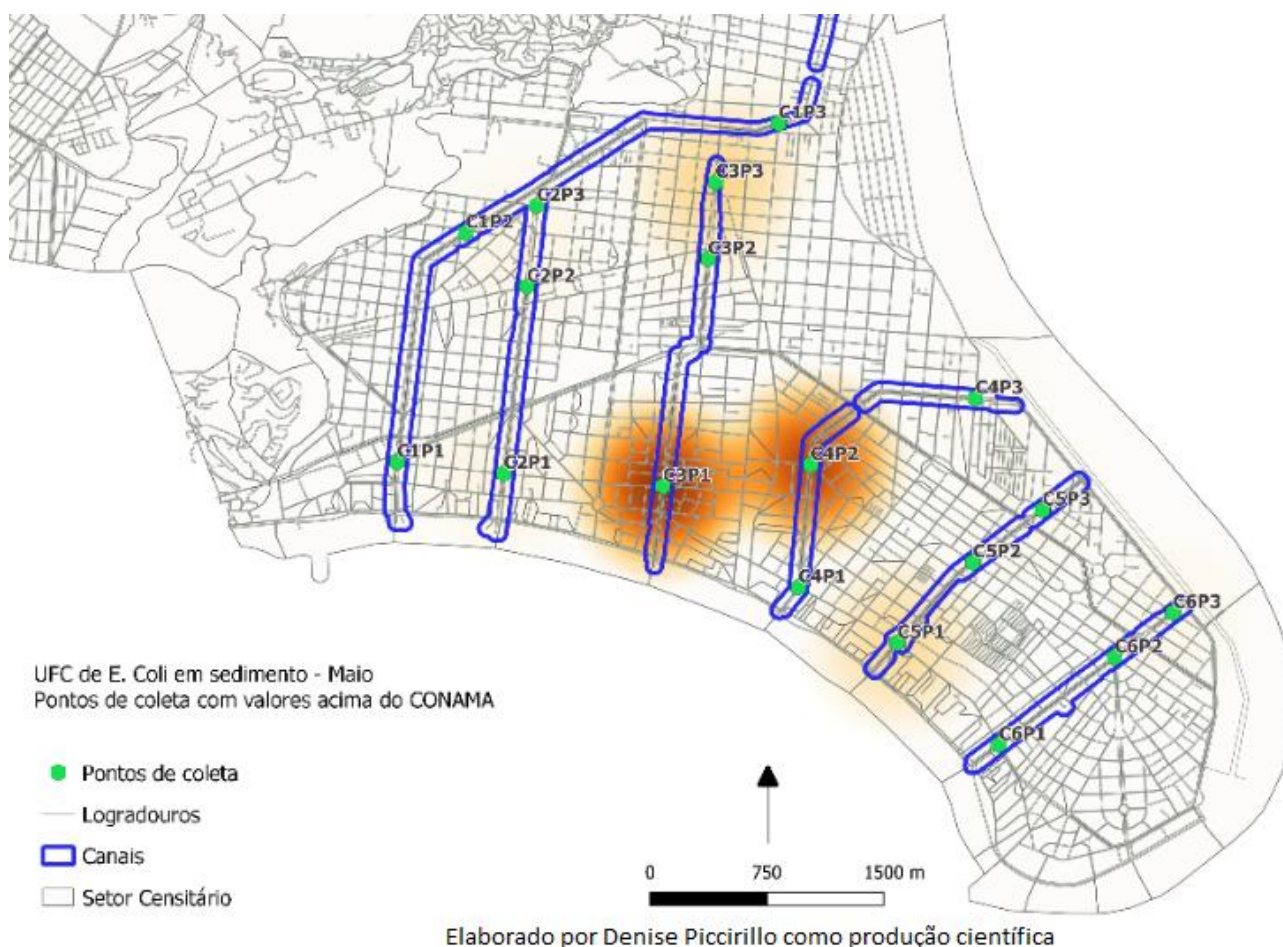


Figura16: Mapa com gradientes de densidade de *E.coli* em sedimento nos 18 pontos de coleta no mês de Maio de 2019. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

Em Julho de 2019 (figura 17), 5 pontos destacaram-se quanto a elevada densidade de microrganismos: C2P1(30000 UFC/100mL), C3P2 (30000UFC/100mL) e toda extensão do Canal 4 (C4P1,C4P2, C4P3) com valores acima de 25000 UFC/100mL).

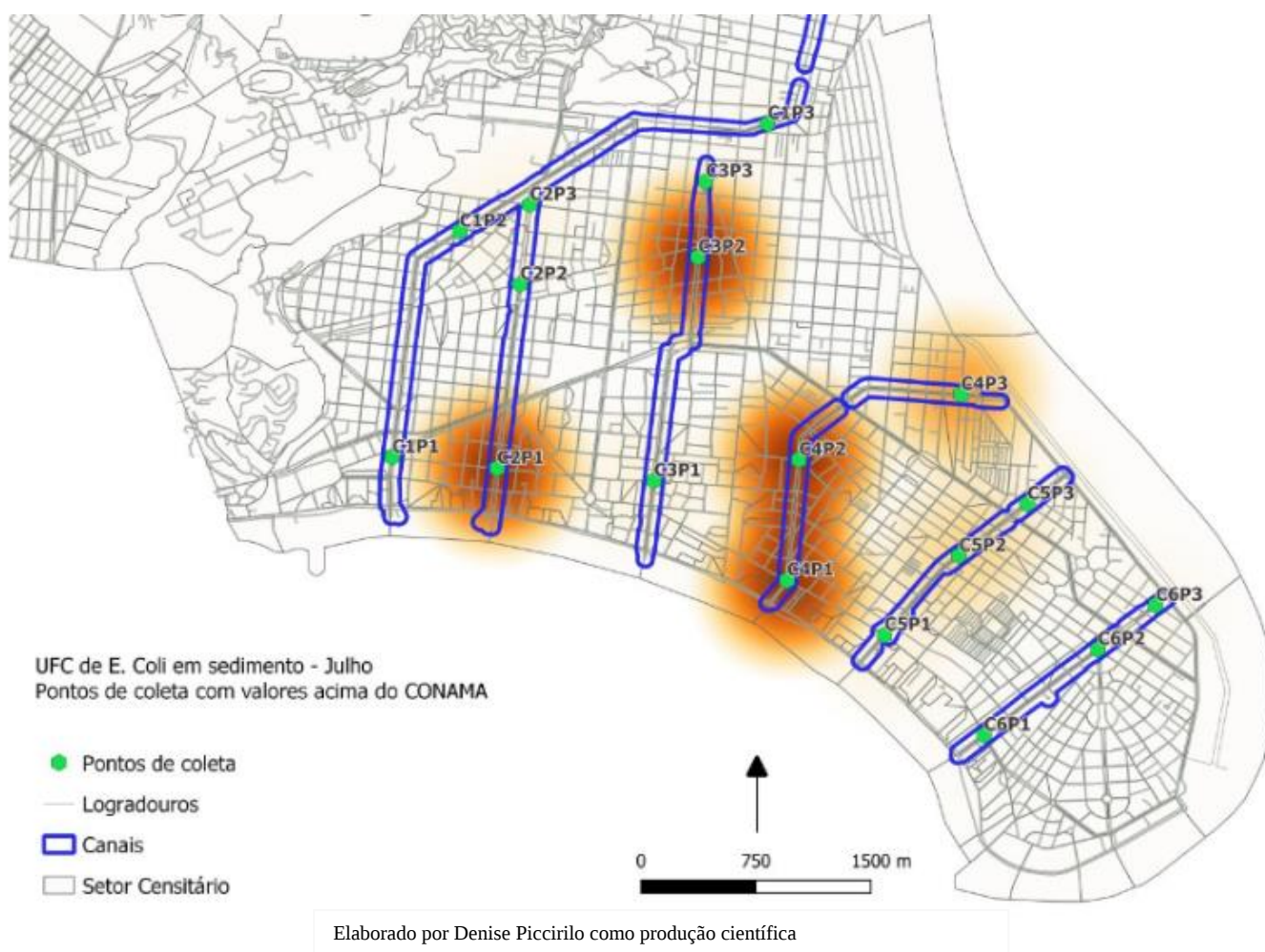


Figura 17: Mapa com gradientes de densidade de *E.coli* em sedimento nos 18 pontos de coleta no mês de Julho de 2019. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

5.2.3- *Enterococcus* spp na água

No caso de *Enterococcus* spp, o CONAMA 274/00 estabelece um limite de 400UFC/100mL. Dessa maneira, na campanha de Setembro de 2018 (figura 18), pôde-se notar que as densidades se apresentaram elevadas em de maneira generalizada, destacando o C1P3 toda extensão do Canal 3 (acima de 30000 UFC/100mL), C4P1, C4P2 (com 20000 UFC/100mLcada) e C6 P3(3550 UFC/100mL).

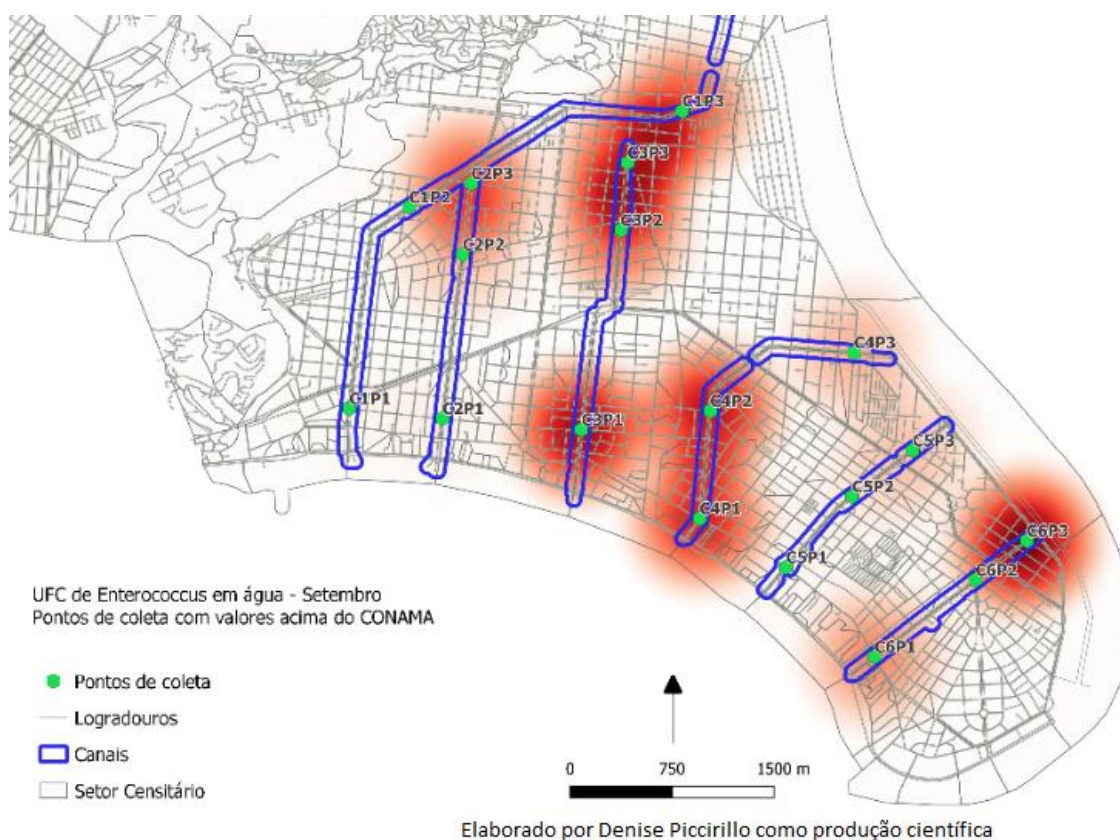
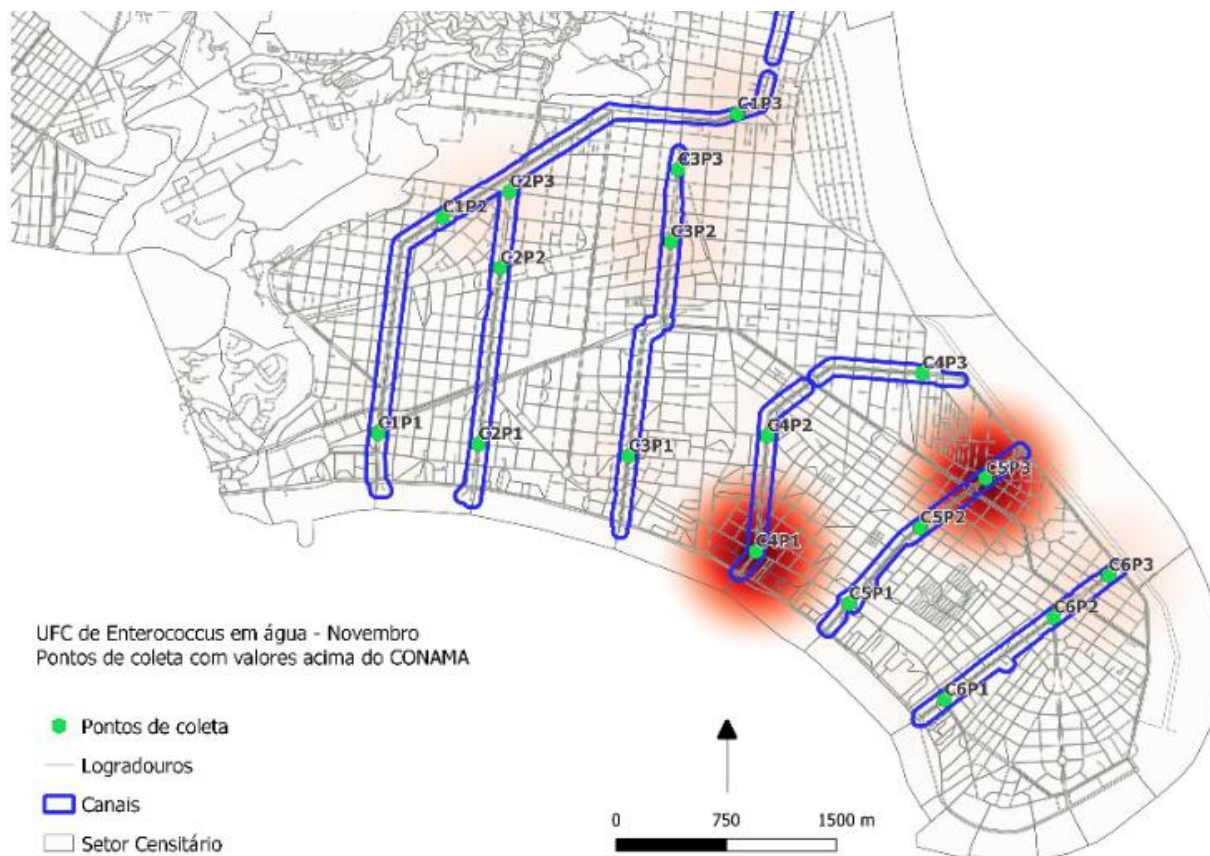


Figura 18: Mapa com gradientes de densidade de *Enterococcus* sp em água nos 18 pontos de coleta no mês de Setembro de 2018. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

Em Novembro de 2018 (figura 19), dois pontos possuíam o gradiente mais intenso sendo C4P1 (30000 UFC/100mL) e C5P3 (30000 UFC/100mL), porém não houve pontos com valores abaixo de 400 UFC/100mL nessa campanha.



Elaborado por Denise Piccirillo como produção científica

Figura 19: Mapa com gradientes de densidade de *Enterococcus* sp em água nos 18 pontos de coleta no mês de Novembro de 2018. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

Na campanha de Janeiro de 2019 (figura 20) os únicos pontos que não apresentaram índices superiores a 400UFC/100mL foram C1P1, C1P2 (400UFC/100mL cada) e C6P1 (100UFC/100mL).Dentre todos os outros pontos acima do permitido, o ponto C5P3 apresentou a maior densidade (30000UFC/100mL).

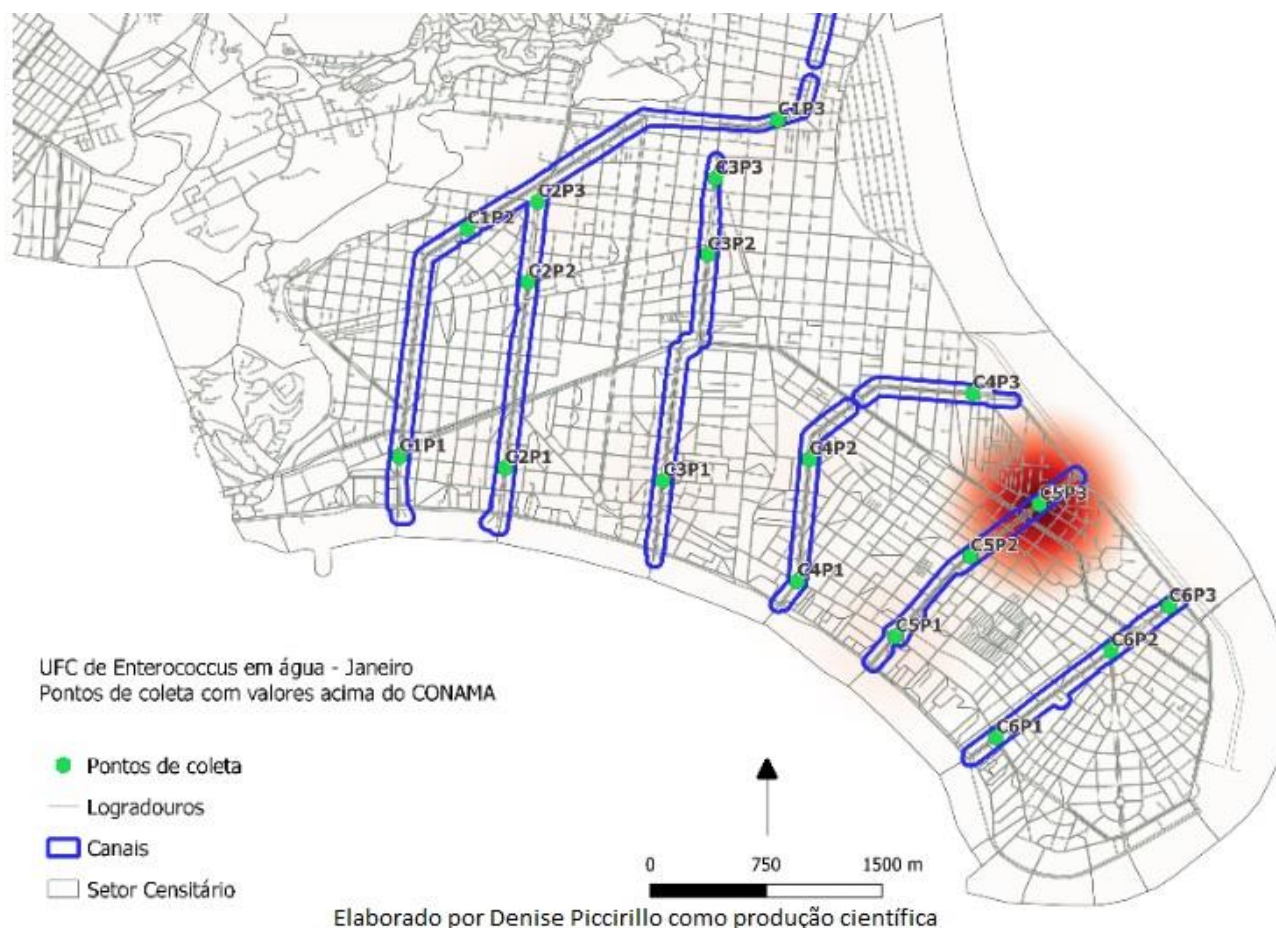


Figura 20: Mapa com gradientes de densidade de *Enterococcus* sp em água nos 18 pontos de coleta no mês de Janeiro de 2019. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

Em Março de 2019 (figura 21), todos os pontos estiveram a cima do permitido pela legislação, porém o ponto C1P3, C4P1, C4P2 (próximo ao Hospital Municipal Guilherme Álvaro) e C5P3 estiveram em destaque (30000UFC/100mL cada).

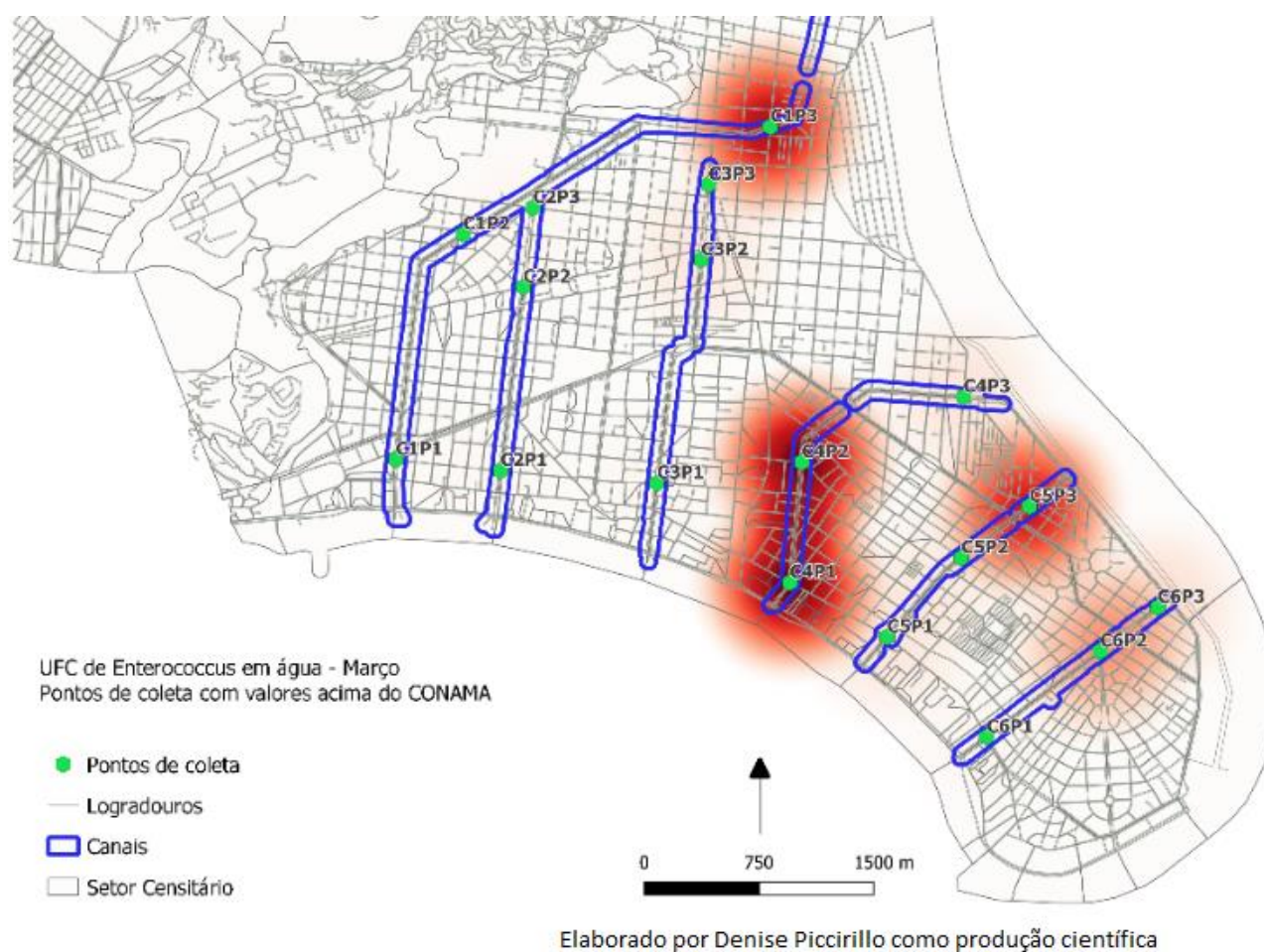


Figura 21: Mapa com gradientes de densidade de *Enterococcus* sp em água nos 18 pontos de coleta no mês de Março de 2019. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

As coletas de Maio (figura 22) foram realizadas após uma ressaca, permanecendo a má qualidade das águas. Houve um único ponto cujas densidades estiveram dentro do limite estabelecido, sendo: C3P3 (100UFC/100mL). É importante destacar os pontos C1P3, C2P2, C3P1, C4P1, C4P2 e o C5P3 apresentaram densidades acima de 2000 UFC/100mL.

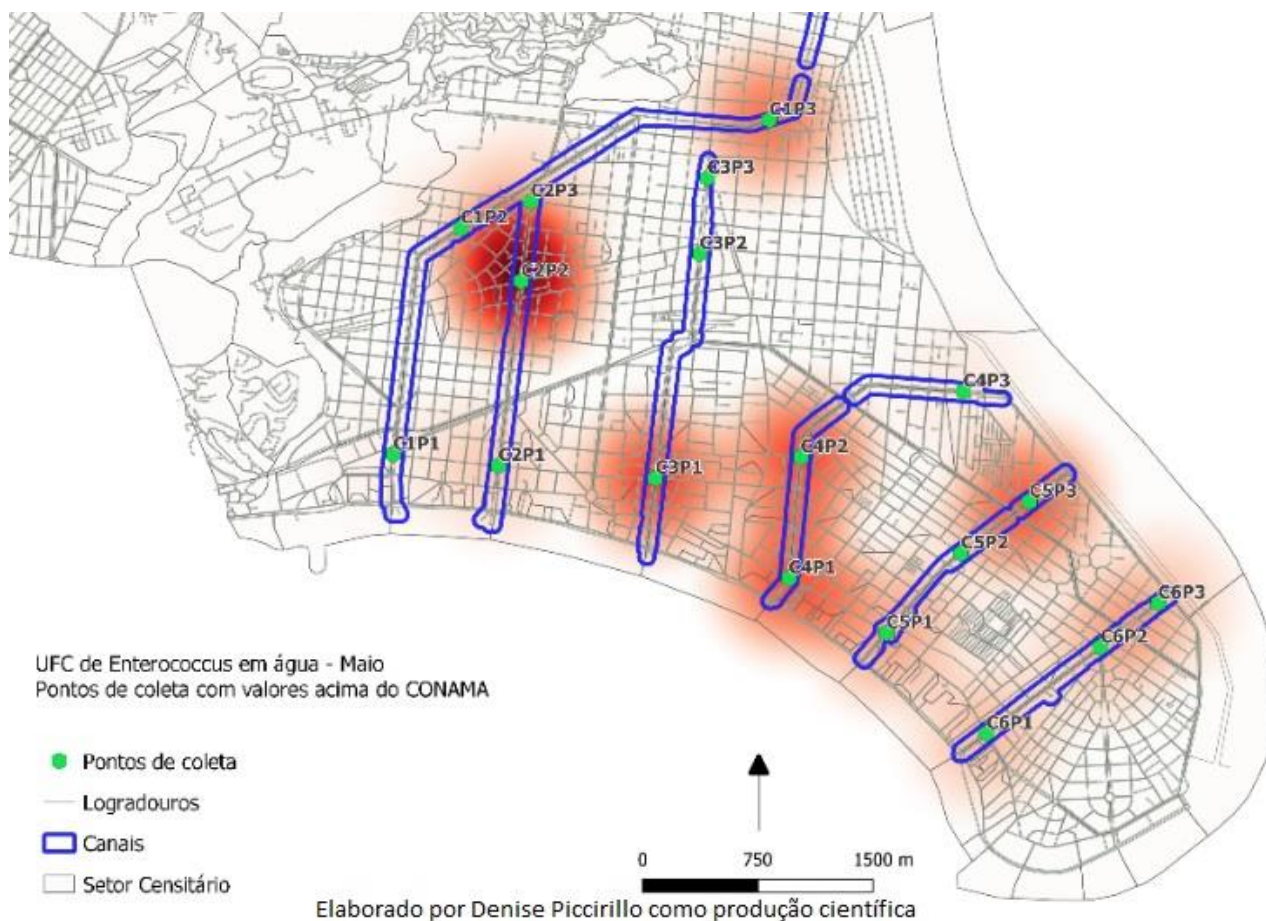


Figura 22: Mapa com gradientes de densidade de *Enterococcus* sp em água nos 18 pontos de coleta no mês de Maio de 2019. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

Em Julho de 2019 (figura 23), seguindo a tendência de meses anteriores, todos os pontos apresentaram densidades de bactérias acima do permitido para águas recreacionais. Os pontos de maior concentração de microrganismos foram: C1P1 (20000UFC/100mL), C2P2 (20000UFC/100mL) e o C4P2 (30000 UFC/100mL).

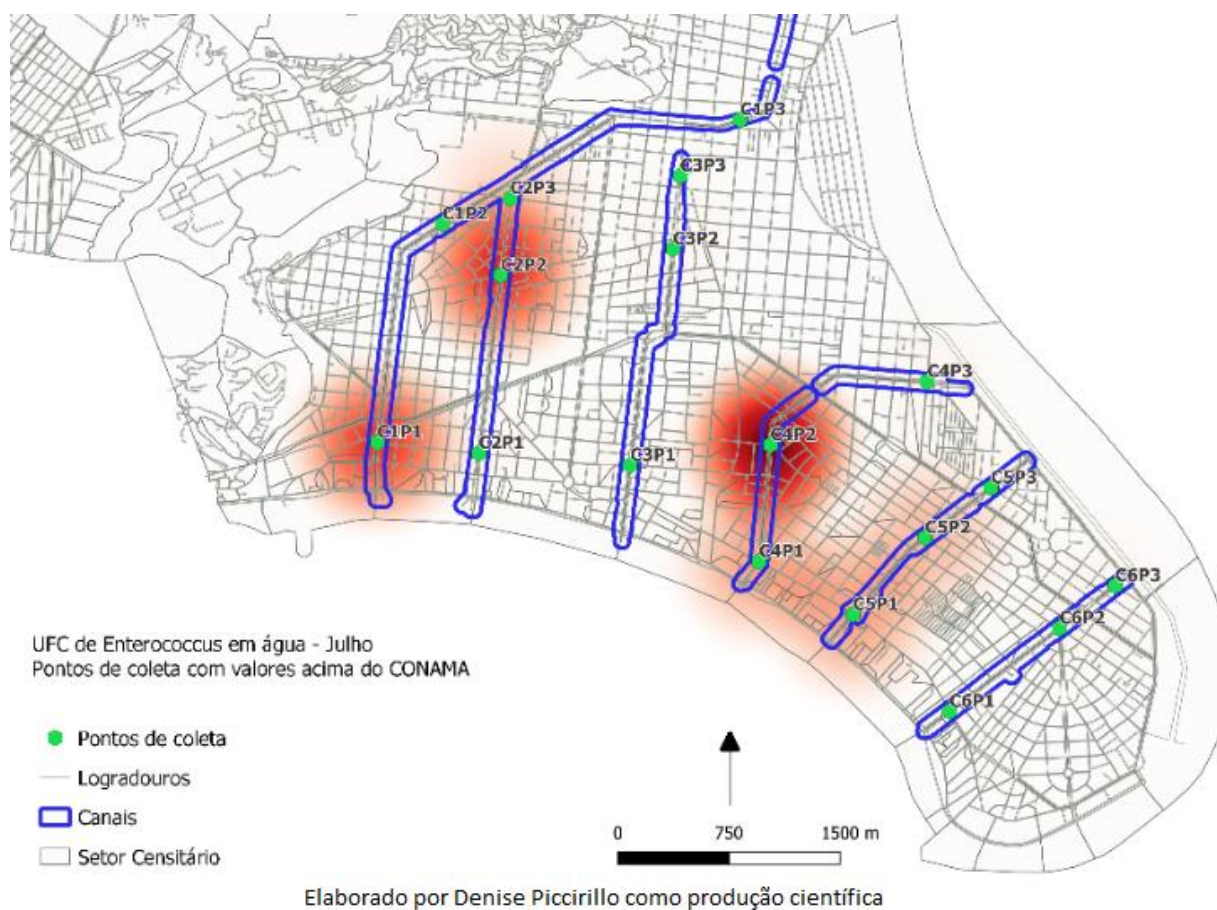


Figura 23: Mapa com gradientes de densidade de *Enterococcus* sp em água nos 18 pontos de coleta no mês de Julho de 2019. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

5.2.4- *Enterococcus* spp no sedimento

Foi utilizado novamente o CONAMA 274/00, mesmo não abrangendo sedimentos, para comparação das densidades. Na campanha de Setembro de 2018 (figura24), todos os canais também se mantiveram com densidades acima do permitido pela legislação. O ponto que mais se destaca é o C1P3(17100 UFC/100mL).

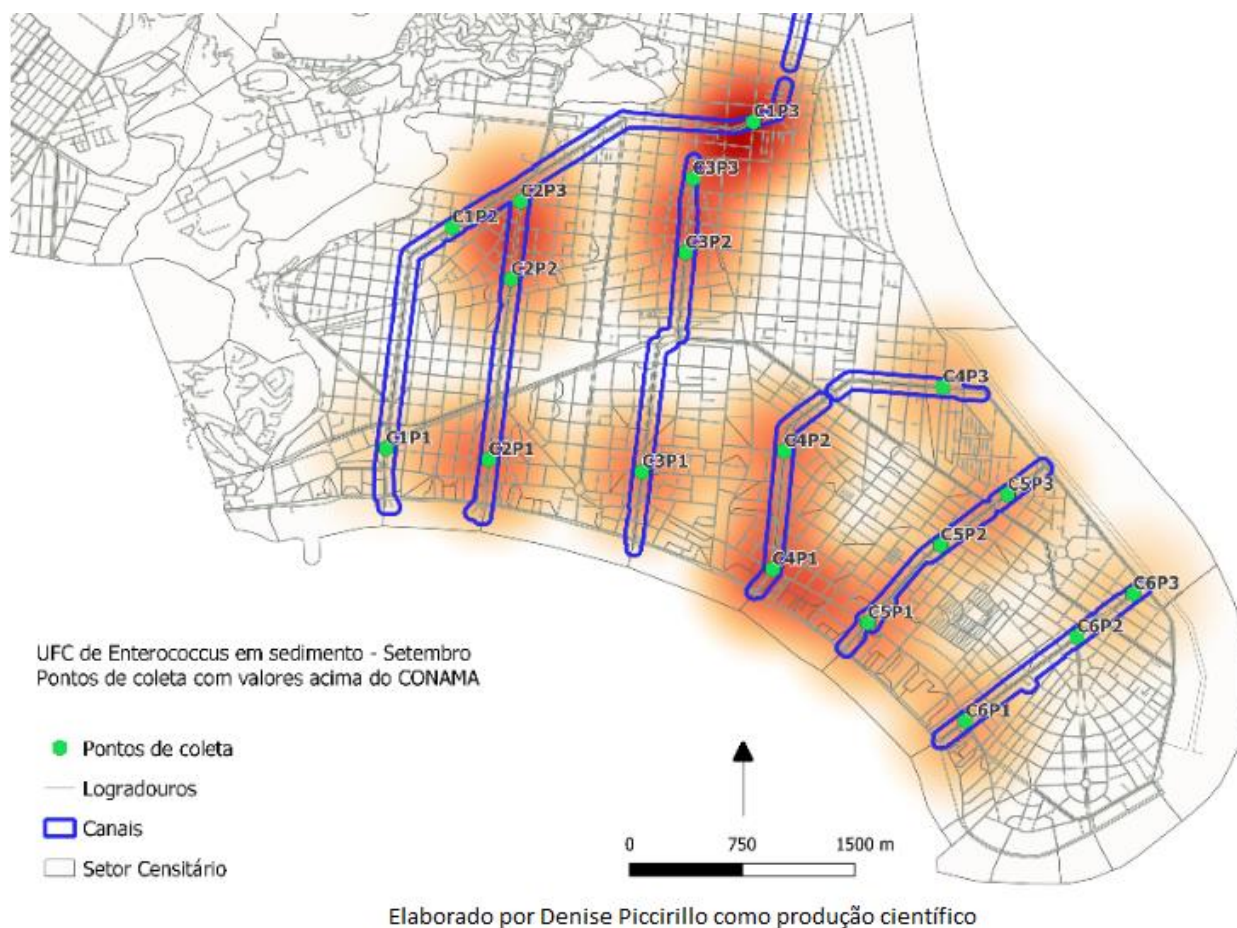


Figura 24: Mapa com gradientes de densidade de *Enterococcus* sp em sedimento nos 18 pontos de coleta no mês de Setembro de 2018. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

Em Novembro de 2018 (figura 25), a coleta foi realizada depois de um período de duas semanas de chuva. Nota-se que as densidades nos canais estava acima dos 400UFC/100mL, sendo os pontos mais críticos C1P3 (30000 UFC/100mL), C3P1 (30000 UFC/100mL) e C5P3(38000 UFC/100mL).

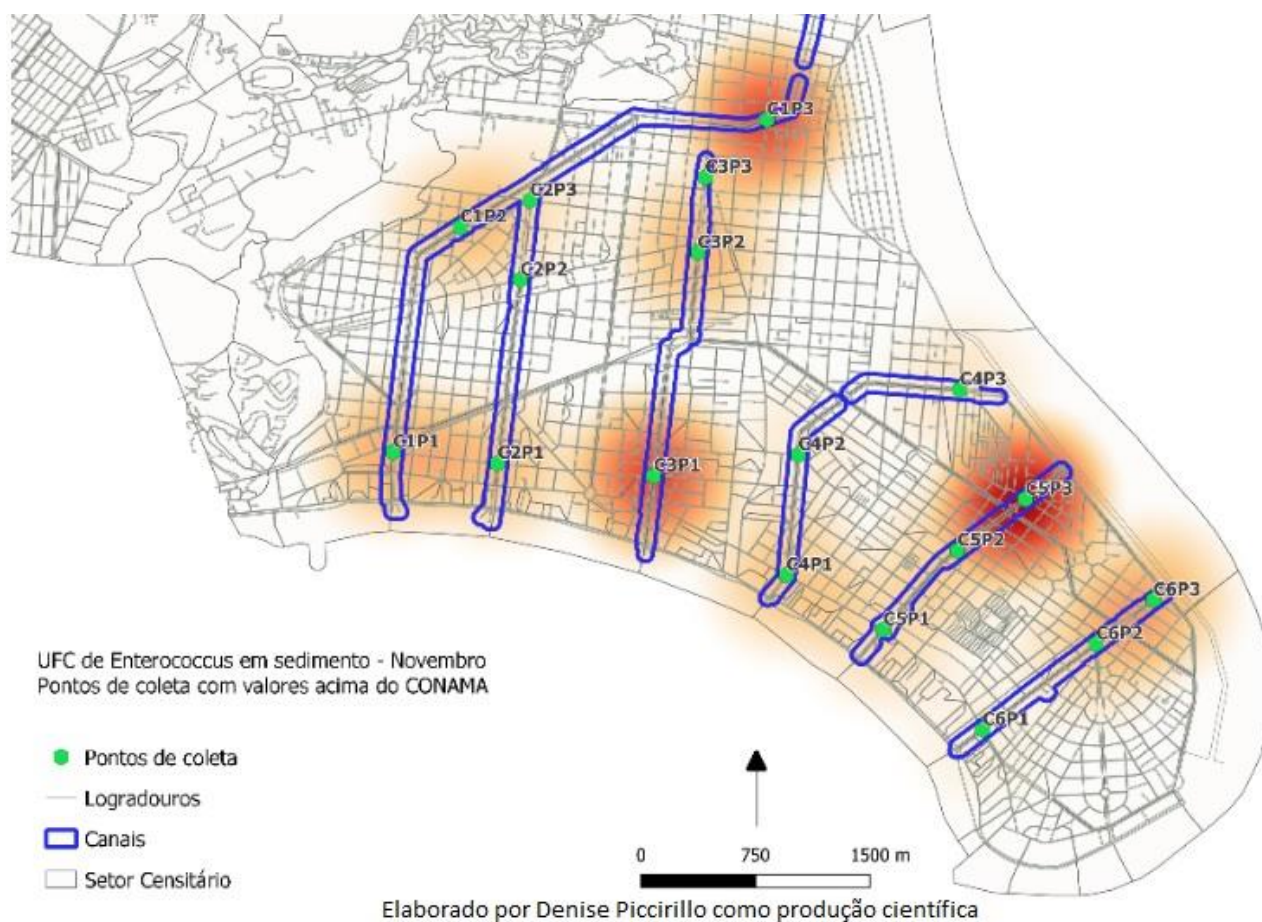
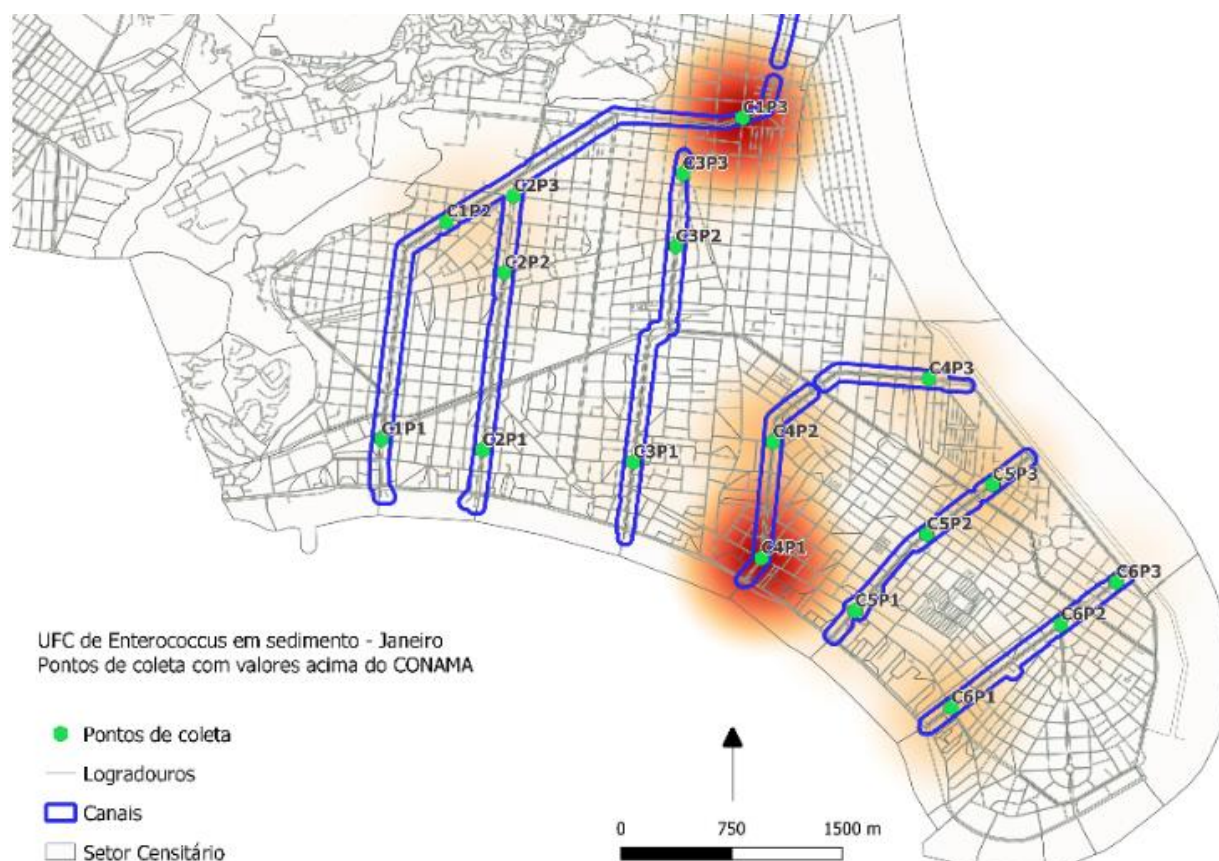


Figura25: Mapa com gradientes de densidade de *Enterococcus* sp em água nos 18 pontos de coleta no mês de Novembro de 2018. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

Na campanha de Janeiro de 2019 (figura 26) apesar dos gradientes serem mais claros, 17 os pontos estiveram acima do CONAMA, porém dois pontos se destacaram: C1P3 (52700 UFC/100mL) e C4P1 (53100 UFC/100mL).



Elaborado por Denise Piccirillo como produção científica

Figura 26: Mapa com gradientes de densidade de *Enterococcus* sp em sedimento nos 18 pontos de coleta no mês de Janeiro de 2019. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

Na campanha de Março de 2019 (figura 27) o ponto que mais apresentou densidade de bactérias foi o C6P2 (30000UFC/100mL). No ponto C2P1 não houve coleta de amostra de sedimento, pois o ponto em questão havia sido dragado pela prefeitura. Apesar da aparência, todos os pontos apresentaram densidades acima do permitido pelo CONAMA, porém ficaram entre a faixa 1000-2000UFC/100mL.

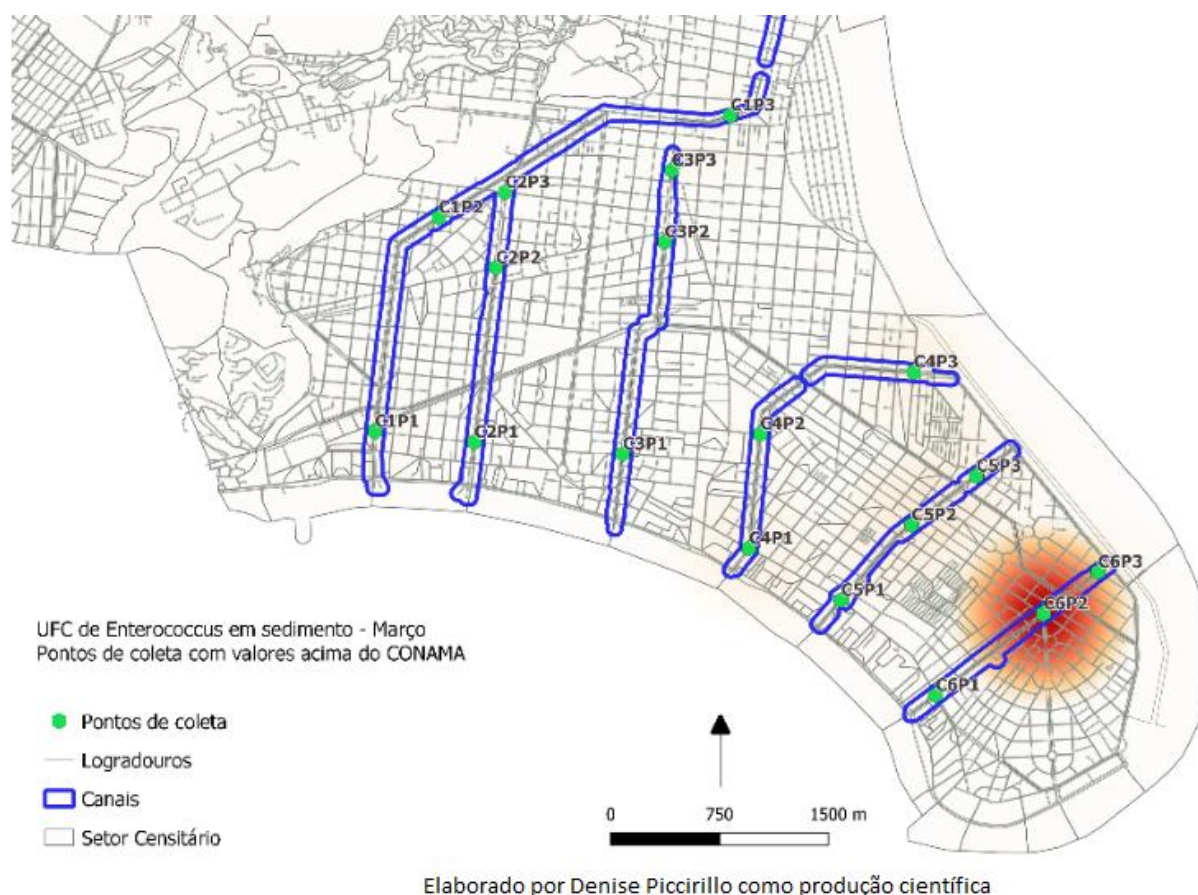


Figura 27: Mapa com gradientes de densidade de *Enterococcus* sp em sedimento nos 18 pontos de coleta no mês de Março de 2019. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

Em maior de 2019 (figura 28), o ponto C3P2(300 UFC/100mL) foi o único que apresentou densidade abaixo do limite permitido. Destaca-se nesse caso, o ponto C1P3 (4600 UFC/100mL), todos os pontos do Canal 5(C5P1, C5P2, C5P3) com índices superiores a 4000 UFC/100mL) e o Canal 6 (C6P1, C6P2, C6P3) com índices acima de 7000 UFC/100mL).

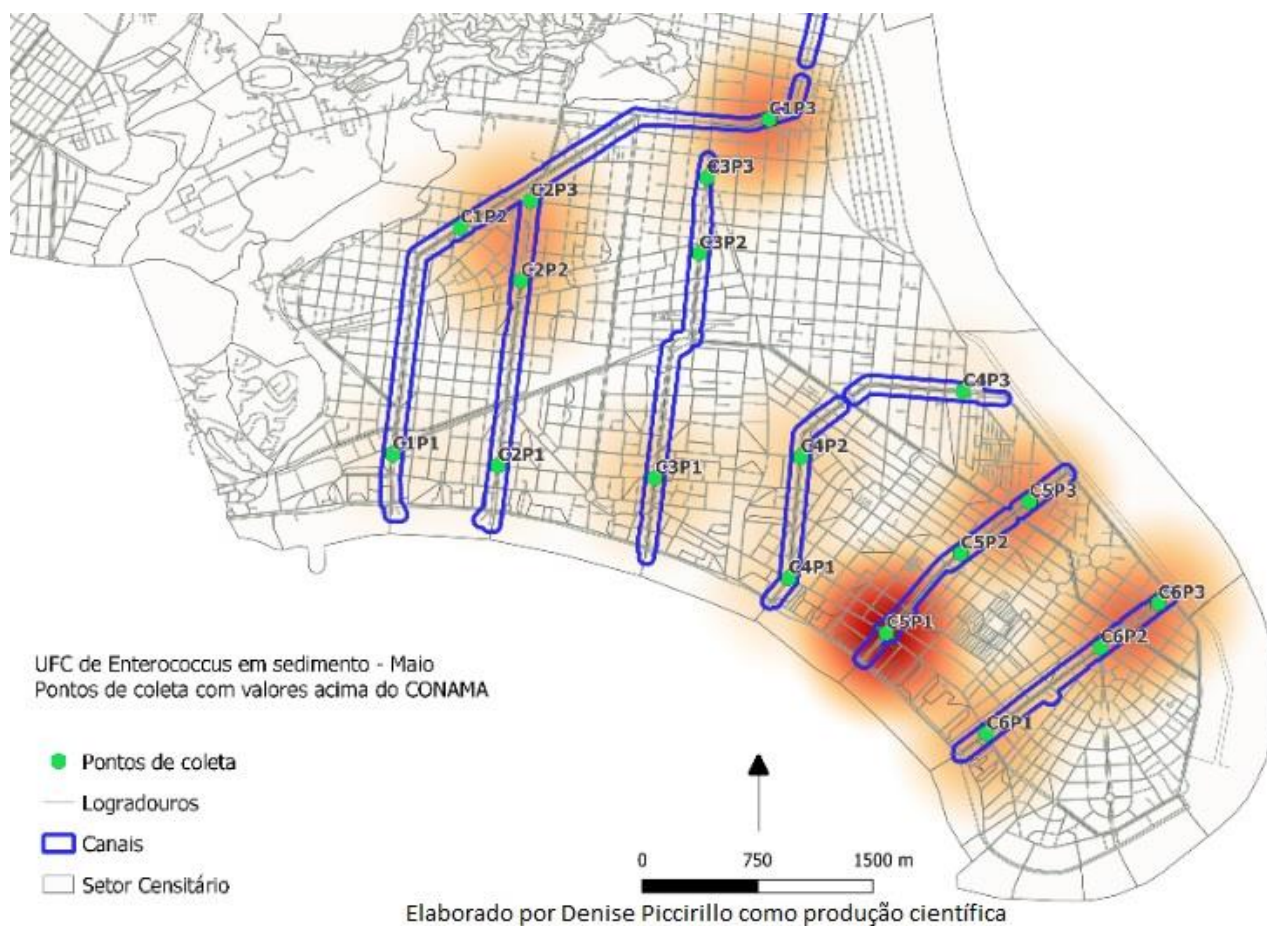


Figura 28: Mapa com gradientes de densidade de *Enterococcus* sp em sedimento nos 18 pontos de coleta no mês de Maio de 2019. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

A campanha de Julho de 2019 (figura 29) revela apenas um ponto no limite permitido (C6P1-400UFC/100mL). Destaca-se, novamente os pontos C4P1 e o C4P2(próximo ao Hospital Municipal Guilherme Álvaro) com 10000 UFC/100mL e 8000UFC/100mL respectivamente.

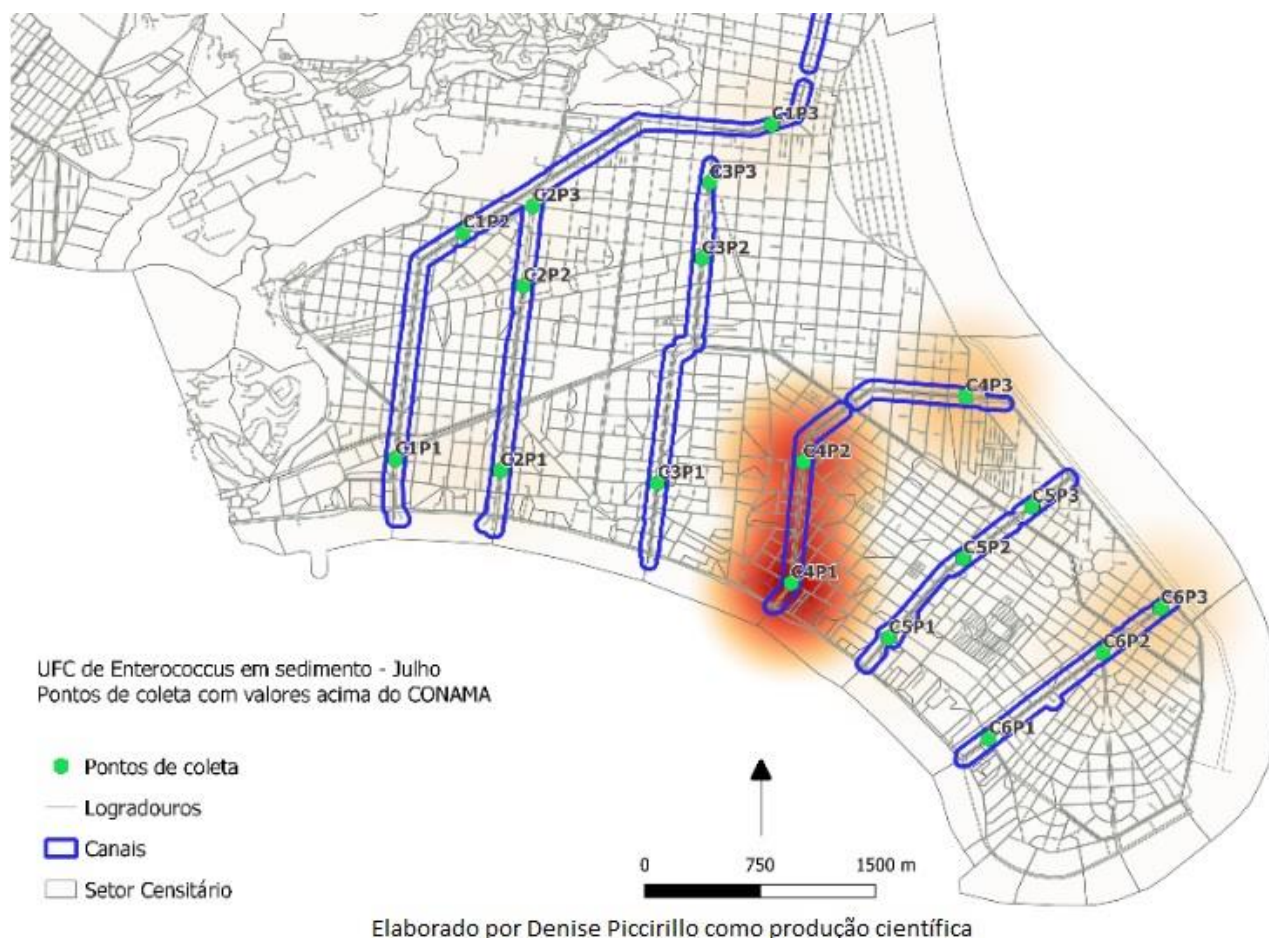


Figura29:Mapa com gradientes de densidade de *Enterococcus* sp em sedimento nos 18 pontos de coleta no mês de Julho de 2019. O gradiente somente é presente nos pontos que excedem os limites impostos pelo CONAMA 274/00 em água

5.3- Resistência Microbiana

A avaliação da resistência a antimicrobianos foi realizada pela escolha de um ponto aleatório, (variando em cada campanha) por canal, de modo que por coleta obtivemos 24 antibiogramas(12 deles referentes a *E.coli*- água(6) e sedimento(6) e 12 de *Enterococcus* – água(6) e sedimento(6)e ao todo foram isoladas 144 cepas (72 cepas de *E.coli* e 72 cepas *Enterococcus spp*). Isso ocorreu, pois no piloto realizado em Julho de 2018 não houve diferença observada entre os pontos.

Todas as cepas isoladas foram resistentes a Ampicilina (AMP 10µg), Amoxicilina (AMO 10µg), Amoxicilina+ Clavulanato (AMC 20µg), Gentamicina (GEN 10µg), Levofloxacino (LVX 5µg), Tetraciclina (TET 30µg), Ciprofloxacina (CIP 5µg) e Amicacina (AMI 30µg), tanto no que se refere a *E.coli* e a *Enterococcus spp*.

Todas as cepas isoladas são resistentes a todos os antibióticos testados nas concentrações previstas pelo BR-cast.

6- DISCUSSÃO

6.1- Dados abióticos

Através da coleta de parâmetros físico-químicos é possível ter um panorama de como está o ambiente, além dos dados microbiológicos. O canal durante a maré baixa fica, em muitos pontos, apenas com uma lâmina de água, devido a isso a temperatura acompanhou a temperatura ambiente, devido a isso a temperatura acompanhou a temperatura ambiente, não havendo alterações.

Segundo os valores de referência divulgados pela CONAMA 357/05, no caso do Oxigênio Dissolvido (mg/L) a normalidade é por volta de 8 mg/L a 25 °C, tanto para água doce quanto para água salgada. Quando esses valores decrescem para 5 mg/L no ambiente, os organismos existentes ficam suscetíveis a estresse e abaixo de 2mg/L já ocorre mortandade. A areação é mantida pelo aporte das galerias pluviais que permite um fluxo de água mesmo em maré baixa, porém Percebe-se que conforme o Oxigênio Dissolvido cai para índices próximos de 1 mg/L, a densidade de bactérias aumenta muito.

Os fatores que poderiam interferir nesse caso são: subida da maré, volume de água trazido pelas galerias até os canais, índice pluviométrico, temperatura e substâncias dissolvidas na água.

Quanto a salinidade era esperado, que por serem realizadas coletas em maré baixa, em que muitas vezes havia uma lâmina de água com poucos centímetros de profundidade, em dias com temperaturas elevadas, a salinidade fosse maior, uma vez que o que estaria retido nos canais era oriundo do mar. Porém os dados revelaram uma salinidade geralmente baixa inferior a 1,76, evidenciando um aporte de água doce nessas localidades, principalmente no canal 6. Os canais recebem todo o aporte das galerias pluviais(bueiro, lavagem de calçada, etc) o que aumenta a descarga de água doce. Outro fator importante, é a presença de ligações clandestinas de esgoto favorecem a baixa salinidade.

Segundo estudo de ZHANG e colaboradores (2019) o estresse salino em amostras de sedimento de praia e rios, pode influenciar na resistência bacteriana aos antibióticos de amplo espectro entretanto, no presente trabalho, isto não deve ter ocorrido uma vez que de acordo com os valores obtidos todas as amostras foram de locais com salinidade baixa. A salinidade não foi fator de influência para a resistência bacteriana. É importante entender como fatores abióticos influenciam e potencializam a seleção de genes de resistência a antibióticos para que possamos controlar essa seleção. Os genes de resistência encontrados foram referentes a tetraciclinas, aminoglicosídeos, betalactâmicos.

6.2- Contaminação Fecal

As elevadas densidades de organismos anaeróbicos facultativos como *E.coli* e *Enterococcus* spp seguem a tendência mundial que contribui para o crescimento das chamadas “Zonas Mortas” oceânicas que estão ligadas a diminuição do oxigênio na água, devido ao aumento de nutrientes na região costeira. O ambiente favorável permite a proliferação de bactérias consumidoras de O₂, porém os organismos aeróbios morrem (ALTIERI, 2018; KAPER et al., 2004; TORRES et al., 2018).

Segundo o estudo de DIAZ., et al (2008), no Brasil existe, pelo menos, cinco áreas bem documentadas. Na Baixada Santista, a cidade de Santos e Guarujá se enquadram nesse aspecto e a perda de biodiversidade costeira está intimamente relacionada com a descarga poluidora, que nesse caso, é oriunda de emissário submarino e dos 6 canais que deságuam nas praias.

Neste estudo, usamos como base para qualificar as águas dos canais, a resolução do CONAMA 274/00, que prevê quantidades limites de densidades de *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp para águas recreacionais. Embora não seja essa a classificação seguida pela CETESB, entendemos que todo esse fluxo corre em direção as praias, sendo um perigo não apenas para o ambiente, mas também para seus usuários.

A amostragem de sedimento, que foi neste trabalho, uma maneira de complementar a qualificação dos canais, também é um compartimento a ser levado em consideração nas praias. WHEELER e colaboradores (2003) afirmaram que o sedimento fornece condições favoráveis para os microrganismos, por reterem nutrientes, fornecerem abrigo e manterem temperatura e a proteção com a luz ultra violeta. Os resultados tanto quanto *E.coli* como *Enterococcus* spp se apresentaram altos em todos os pontos no mês de Setembro de 2018 e se mantiveram acima do permitido nas demais campanhas. Isso corrobora com estudos realizados por PINTO e colaboradores (2012) e OLIVEIRA e colaboradores (2008) em praias da Baixada Santista, que revelam que é no sedimento a maior densidade bacteriana. No caso dos canais não houve valores ainda maiores no sedimento, pois a prefeitura realiza a remoção da areia fina periodicamente, para que haja o desassoreamento e desobstrua o fluxo da maré. Essa ação permite a redução das populações bacterianas.

Outro fato interessante, é que a densidade de microrganismos se manteve constantemente elevada em todas as campanhas, não sendo muito influenciada pela flutuabilidade da população nos meses de verão. O panorama ruim se mantendo indica um problema contínuo gerado pela demanda local e sendo agravado, ainda mais, pela demanda flutuante.

Ainda sobre a população, um ponto insistente quanto as altas densidades foi o C1P3 localizado no centro da cidade em uma localidade com muitos cortiços, casas antigas. Essas características, atreladas com o fato do Canal 1 nesse trecho sofrer um estreitamento, pode contribuir para concentrar esses microrganismos.

A própria agência fiscalizadora, a CETESB, admite que a qualidade dos corpos d'água adjacentes às praias influenciam diretamente na sua balneabilidade. Embora se tenha mais de 31 anos

de monitoramento, medidas efetivas, como investimento em tratamento terciário de esgoto, não foram tomadas. Ainda nota-se muitas ligações clandestinas nos canais, beirando a situação de um século atrás, contrariada ou negligenciada pelas informações divulgadas pela prefeitura local que afirmam liderar rankings de saneamento.

Segundo a página oficial da Prefeitura de Santos, em publicação realizada em 2018, o Município está entre os primeiros do País em rankings (figura 30) de Saneamento e mantém sob controle o despejo de esgoto.



Figura 30: Exemplo de como a Prefeitura de Santos divulga para a população sobre a situação sanitária da cidade.

Em estudo de LAMPARELLI e colaboradores (2015), ressalta-se a importância do monitoramento da qualidade de águas recreativas na América Latina, já que essas informações são raras e muito necessárias nas regiões tropicais. Monitorar o destino principal dos turistas ajuda a diminuir riscos dos usuários.

Dessa maneira nota-se uma perda não apenas no que se refere a questão ambiental, com o aumento de zonas mortas e a desertificação oceânica, mas também a saúde da população. Isso é o que American Public Health Association (APHA, 2019) denomina como “Saúde Ambiental”. Um ramo da saúde pública que foca na relação entre as pessoas com o meio ambiente. Esse campo trabalha para avançar políticas públicas e programas visam promover ações ambientais e proteção as pessoas, proporcionando uma dinâmica mais saudável.

Absolutamente tudo que chega nas praias, mesmo que pareça um problema local, produz danos globais. Compartimentar e separar saúde pública e dano ambiental é ignorar que humanos fazem parte do ambiente e assim como são os principais causadores, são também os mais atingidos.

6.3- Resistência a Antimicrobianos

A resistência microbiana é algo que preocupa os cientistas desde a descoberta do primeiro fármaco. A presença de microrganismos resistentes em ambiente natural tornou-se uma tendência nos estudos atuais.

Tanto as cepas de *Escherichia coli* quanto de *Enterococcus* spp isoladas durante todo o monitoramento foram resistentes, resultados que corroboram com diversos estudos ao longo do mundo que revelam comensais multirresistentes.

Em um estudo recente de BEN e colaboradores (2019) revela que cada vez mais os resíduos de antibióticos, oriundos de produção agropecuária e de efluentes domésticos invadem ambientes naturais, Desse modo há seleção e contração de cepas comensais através consumo de antimicrobianos e também pelo contato com águas contaminadas, sendo um perigo para população.

Ambientes terrestre são vastos reservatórios de genes de resistência, porém a diversidade desses genes no ambiente marinho vem sendo estudada. Em estudo realizado por HATOSY e colaboradores (2015) identificou através de metagenômica, genes de resistência a ampicilina e tetraciclina em diversos ambientes marinho. No mesmo estudo foram identificados diferentes táxons que já são portadores e disseminadores dessa resistência, como *Vibrio*, por exemplo.

As praias de Santos são impactadas por variadas fontes poluidoras que abrangem o emissário submarino inserido dentro da baía que despeja volumes enormes de efluente doméstico com tratamento primário; a região portuária e também os 6 canais que aportam um fluxo oriundo de ligações clandestinas. Essas fontes reunidas são capazes de carrear comensais já selecionados ou antimicrobianos

É importante salientar, que apesar da situação geral ser ruim em todos os pontos, há 3 deles que aparecem como referências de má qualidade em todos os resultados, sendo o C2P3 e o C4P2 que se localizam próximos a hospitais. Segundo um estudo realizado por PAVEZ e colaboradores (2018) em New Delhi, pode constatar que onde há influência de esgoto hospitalar há não apenas a proliferação de bactérias mas também sua seleção a múltiplas substâncias.

Colonizadores do trato gastrointestinal quando são portadores de genes multirresistentes podem transmitir essa resistência a outros grupos de bactérias, principalmente as patogênicas. Segundo estudo de COSTA ANDRADE e colaboradores (2015) com *Escherichia coli* resistentes, isoladas de água e areia de praias próximas a Santos, praias com baixa hidrodinâmica há maior concentração de poluentes e por isso influenciaria na seleção de bactérias resistentes. No caso dos canais, a hidrodinâmica é influenciada apenas pela subida e descida da maré, com longos períodos estáveis que corroboram com o citado acima.

Em um estudo realizado por ALVES e colaboradores (2014) com águas coletadas tanto de reservas marinhas, como de regiões costeiras com contaminação fecal, revelou cepas de *Escherichia coli* resistentes a Estreptomicina e Tetraciclina. Também foram encontrados conjunto de genes resistentes a antimicrobianos de última geração. A água do mar é um excelente veículo de disseminação de resistomas.

Não é apenas por veiculação hídrica, que os oceanos disseminam genes de resistência. Um estudo realizado por RABBIA e colaboradores (2016) revelou que a transferência horizontal desses

genes é um problema mundial, pois foram encontradas *E.coli* multirresistentes a Ampicilina, Ciprofloxacino, Tetraciclina e Gentamicina. de cepas isoladas de fezes de aves marinhas.

Seguindo essa linha de pensamento, KRAUPNER e colaboradores (2018) realizaram um estudo estipulando a concentração de Ciprofloxacino admissíveis no ambiente aquático, capazes de não selecionar cepas resistentes de *Escherichia coli*. A faixa variou de 0,1 - 1µg /L de Ciprofloxacino. No caso do presente trabalho, a concentração usada foi de 5µg e nenhuma das cepas foram sensíveis.

Os *Enterococcus* spp são bactérias conhecidas por adquirirem resistência com facilidade. Corroborando com os dados desse estudo, OLIVEIRA e colaboradores (2008) isolaram *Enterococcus* de amostras de água e sedimento das praias de São Vicente. Devido ao alto grau de contaminação fecal dessa área, foram selecionados organismos resistentes a Eritromicina, Estreptomicina, Tetraciclina, dentre outros, tornando esses medicamentos ineficazes para certas finalidades.

Essas cepas não impactam apenas a saúde humana, mas também podem ser contraídas por outros organismos. No estudo realizado por RUBIÃO e colaboradores (2017), foram isolados *Enterococcus* spp resistentes a Tetraciclina e Estreptomicina de bivalves coletados na região estuarina. O que revela que a população pode contrair uma cepa resistente não apenas em contato com água, mas de modo indireto pelo consumo de frutos do mar.

Assim como o estudo de ALIPOUR e colaboradores (2014) que isolaram *Enterococcus* spp resistentes a Cloranfenicol e Tetraciclina. de águas costeiras do Iran, SADOWY e colaboradores (2014), isolaram cepas de amostras de água do Golfo Polonês. Essa diversidade de localidades revela a expansão dos genes de resistência e como esse é um tópico a ser abordado com afinco, uma vez que ainda seus impactos são desconhecidos.

Por fim, LATA e colaboradores (2009) identifica cepas resistentes a Eritromicina, Gentamicina e Estreptomicina, cruzando dados hospitalares com o contato de águas recreacionais contaminadas pela população, resultando em casos numerosos de gastroenterites. No Brasil, esse tipo de cruzamento de dados é pouco usual, escondendo vários tópicos a serem discutidos como: a falta de investimento em tratamento de esgoto terciário, o gasto excessivo do Sistema Único de Saúde para mitigar doenças de veiculação hídrica atingindo desde as áreas periféricas, mas também a cidade com o maior porto da América Latina.

7- CONCLUSÃO

As altas densidades de bioindicadores fecais em amostras de água e sedimento, demonstram que, provavelmente ainda persiste a existência de ligações clandestinas de esgoto nos 6 canais de Santos. O fluxo contínuo dessas águas, influencia negativamente a qualidade das praias locais. Em comparação com os limites estabelecidos pela legislação para águas recreacionais, a maioria dos pontos supera o permitido no que se refere as amostras de água.

Embora o sedimento reunisse condições ideais para os microrganismos e outros estudos evidenciem sua maior ocorrência nesses locais, o presente estudo contraria essa tendência. Isso acontece devido a manutenção que a prefeitura efetua, com retirada constante da areia fina que se acumula e assoreia os canais. Outro fato é o estabelecimento de um ambiente dinâmico que lava o sedimento pelo movimento da maré. Porém é preciso incluir o sedimento como parâmetro de qualidade uma vez que ele interfere na permanência das populações microbianas no ambiente.

A cidade de Santos também sofre com o aumento populacional sazonal nos meses de verão, porém essa flutuação não influenciou os resultados. As densidades de microrganismos se mantiveram elevadas durante todas as campanhas, ressaltando uma demanda local a ser solucionada.

Microrganismos comensais resistentes são, cada vez mais, encontrados na zona costeira, principalmente atrelados a despejo dos emissários submarinos ou ligações clandestinas. O efluente doméstico carrega substâncias antimicrobianas consumidas pela população que chegam aos mares, dessa maneira as bactérias sofrem pressão seletiva antes de serem eliminadas nas fezes. Outro modo de seleção é quando esses microrganismos entram em contato com antibióticos que já se encontram no ambiente.

A multi-resistência de organismos bioindicadores de contaminação não é apenas um risco a saúde da população, mas também um meio de exportação de genes de resistência para toda microbiota. As bactérias possuem a habilidade de trocar conjunto de genes por transdução e isso pode afetar outras espécies bacterianas, causando impactos sem precedentes.

No caso desse trabalho, os fatores abióticos não influenciam de maneira direta na permanência desses microrganismos no ambiente, o que ocorre é que o aumento de organismos aeróbios facultativos ajuda a diminuir índices de Oxigênio Dissolvido na água.

Por mais que haja um histórico de monitoramento realizado nos canais de Santos desde 1997 com resultados, que segundo a própria CETESB, interferem na qualidade das praias e contribuem para mais de 31 anos de balneabilidade imprópria; nenhuma medida é efetivamente realizada para mudar esse quadro. Santos é uma das cidades que mais cresceu nos últimos anos, na Baixada Santista e ainda conta com um tratamento de esgoto primário e com um Emissário Submarino inserido dentro da baía que emite um volume contínuo de esgoto.

Dessa maneira, esse estudo contribuí para agregar mais informações sobre a área em questão e alertar que as áreas adjacentes às praias revelam pontos de poluição. Também é importante ressaltar que a presença de bioindicadores fecais multirresistentes na costa é uma importante porta de disseminação de genes de resistência e que a presença desses comensais selecionados, possibilita a existência de uma microbiota resistente, como por exemplo, patógenos. Considerando as informações desse trabalho conclui-se que é impossível dissociar problemas ambientais de Saúde Pública.

8- REFERÊNCIAS

- ABESSA. D. M. S., CARR. S. R., 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**, v. 50, p.875-885, 2005.
- ABESSA. D., RACHID.,B., MOSER.G., OLIVEIRA. A.J.F. Efeitos ambientais da disposição oceânica de esgotos por meio de emissários submarinos: uma revisão. **O mundo da Saúde**, v.36, p.643-661,2012.
- ABRAHAN, E.P., CHAIN, E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. **Nature**, v. 146, p. 837, 1940.
- ALIPOUR . M., HAJIESMAILI. R., TALEBJANNAT. M., YAHYAPOUR. Y. Identification and Antimicrobial Resistance of *Enterococcus* spp. Isolated from the River and Coastal Waters in Northern Iran. **The ScientificWorld Journal**, v. 2014, p. 1-5, 2014.
- ALONSO. A., SANCHÉZ. P., MARTÍNEZ. J. L. Environmental selection of antibiotic resistance genes. **Environmental Microbiology**, v.3, p.1-9, 2001.
- ALTIERI. A. Dead Zones: Low Oxygen in Coastal Waters. **Encyclopedia of Ecology**, v.1, p. 22- 34, 2018.
- ALVES. M. S.,PEREIRA. A., ARAÚJO. S. M., CASTRO. B. B., CORREIA. A. C., HENRIQUES. I. Seawater is a reservoir of multi-resistant *Escherichia coli*, including strains hosting plasmid-mediated quinolones resistance and extended- spectrum beta-lactamases genes. **Frontier in Microbiology**, v. 5, p. 1-22, 2014.
- ANDRADE. C. R. M. Peste e o plano: o urbanismo sanitário do engenheiro Saturnino de Brito. Tese de doutorado. **Faculdade de Arquitetura e Urbanismo- USP**.1992.
- APHA. American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22ª edição. **APHA / AWWA / WEF**; 2012.
- APHA. American Public Health Association. Environmental Health. Topic & Issues. **APHA**. 2019.

BLAU. K., BETTERMANN. A., JECHALKE. S., FORNEFELD. E., VANROBAEYS. Y. STALDER. T., TOP. E. V., SMALLA. K. The Transferable Resistome of Produce. **American Society for Microbiology**, v. 9, p. 1- 15, 2018

BRAZILIAN COMMITTEE ON ANTIBIOTICAL SUCEPTIBILITY TESTING. Manual Disco-Disfusão EUCAST. 6ª versão, **BrCAST**; 2017.

BEN. Y., FU. C., HU. M., LIU. L., WONG. M. H., ZHENG. C. Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: a Review. **Environmental Research**, v.40, p. 1-43, 2018.

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

BERTONI. A. No caminho para o urbanismo. Saturnino de Brito e Édouard Imbeaux, trajetórias profissionais entre Brasil e França. Anais do Museu Paulista: **História e Cultura Material**, v. 23, 2015.

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.

CARNEY. R. L., LABBATE. M., SIBONI. N., TAGG. K. A. MITROVIC. S. M., SEYMOUR. J. R. Urban Beaches are environmental hotspots for antibiotics resistance following rainfall. **Water Research**, v.167, p. 1-11. 2019.

CARRIÇO. J. M. O plano de saneamento de Saturnino de Brito para Santos: construção e crise da cidade moderna. **Risco Revista de Pesquisa em Arquitetura e Urbanismo**, v.22, p.30 – 46. 2016.

CHEUNG. P. K., YUEN. K. L., LI. P. F., LAU. W. H., CHIU.C. M., YUEN, S. W., BAKER. D. M. To swim or not to swim? A disagreement between microbial indicators on beach water quality assessment in Hong Kong. **Marine Pollution Bulletin**, v.101, p. 53-60, 2015.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (BrCAST). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically do NCCLS, **BrCAST**, v. 23, nº2, 2003.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 1988. **CETESB**, 1988.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 1989. **CETESB**, 1989.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 1990. **CETESB**, 1990.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 1991. **CETESB**, 1991.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 1992. **CETESB**, 1992.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 1993. **CETESB**, 1993.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 1994. **CETESB**, 1994.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 1995. **CETESB**, 1995.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 1996.. **CETESB**, 1996.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 1997. **CETESB**, 1997.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 1998 **CETESB**, 1998.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 1999. **CETESB**, 1999

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2000. **CETESB**, 2000.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2001. **CETESB**, 2001.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2002. **CETESB**, 2002.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2003. **CETESB**, 2003.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2004. **CETESB**, 2004.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2005. **CETESB**, 2005.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2006. **CETESB**, 2006.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2007. **CETESB**, 2007.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2008. **CETESB**, 2008.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2009. **CETESB**, 2009.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2010. **CETESB**, 2010.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2011. **CETESB**, 2011.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2012. **CETESB**, 2012.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2013. **CETESB**, 2013.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2014. **CETESB**, 2014.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2015. **CETESB**, 2015.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2016. **CETESB**, 2016.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2017. **CETESB**, 2017.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de Balneabilidade das Praias Paulista 2018. **CETESB**, 2018.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Legislação para classificação de praias. **CETESB**, 2018.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Classificação Semanal por Município. **CETESB**, 2019

CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE. Resolução do CONAMA nº 279. **Diário Oficial da União**. 2000.

COSTA ANDRADE. V., 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.

COWAN, D. A., CHOWN, S. L., CONVEY. P., TUFFIN. M., HUGHES. K., POINTING. S., VINCENT. W. Non-indigenous microorganisms in the Antarctic: assessing the risks. **Trends in Microbiology**, v. 19, p. 540-548, 2011.

DIAZ. R. J., ROSENBERG. R. Spreading Dead Zones and Consequences for Marine Ecosystems. **Science**, v. 321, p. 926- 929, 2008

DODD. M. Potential impacts of disinfection processes on elimination and deactivation of antibiotic resistance genes during water and wastewater treatment. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 14, p. 1754- 1771, 2012.

FARIA.T. J. P. Os projetos e obras do engenheiro Saturnino de Brito e mudança na paisagem urbana. **Geografia Ensino & Pesquisa**, v. 19,p. 115-122, 2015.

FUNDAÇÃO ARQUIVO MEMÓRIA DE SANTOS. **Documentário os Canais de Saturnino**: <http://www.fundasantos.org.br/>. Acesso 13/10/2019.

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO: <http://www.saopaulo.sp.gov.br>. Acesso: 01/04/2018.

HATOSY. S. M., MARTINY. A. C. The ocean as a global reservoir of antibiotic resistance genes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, p. 1-25, 2015.

HAWARD. M. Plastic pollution of the world's seas and oceans as a contemporary challenge in ocean governance. **Nature** – communications, v.9, 2018.

IBGE: <https://www.ibge.gov.br/geociencias>. Acesso: 01/09/2019.

KACAR. A., PAZI. I., GONUL.T e KUCUKSEZGIN.F. Marine pollution risk in a coastal city: use of an eco-genotoxic tool as a stress indicator in mussels from the Eastern Aegean Sea. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 10, p.1-12, 2016.

KAPER. J . B., NATARO. J. P., MOBLEY. H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews-Microbiology**, v. 2, p. 123- 140, 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.

KRAUPNER. N., EBMEYER. S., BENGTSSON-PALME. J., FICK. J., KRISTIANSSON. E., FLACH. C. F., LARSSON. D. G. J. Selective concentration for ciprofloxacin resistance in *Escherichia coli* grown in complex aquatic bacterial biofilms. **Environmental International**, v. 116, p. 255-268, 2018.

KOLM. H. E., GOMES. K. V., ISHII. F. K., MARTINS. C.C. An integrated appraisal of multiple faecal indicator bacteria and sterols in the detection of sewage contamination in subtropical tidal creeks. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 221, p. 1032-1039, 2018.

LAMPARELLI. C. C., BROWN. K. P., VERHOUGSTRAETE. M., SATO. M. I. Z., BRUNI. A. C., WADE. T. J., EISENBERG. J. N. S. Are fecal indicator bacteria appropriate measures of recreation water risk in the tropics: A cohort study of beach goers in Brazil. **Water Research**, v. 87, p. 59-68, 2015.

LATA. P., RAM. S., AGRAWAL. M., SHANKER. R. Enterococci in River Ganga surface waters: Propensity of species distribution, dissemination of antimicrobial- resistance and virulence makers among species along landscape. **BMC Microbiology**, v. 9, p. 1 -10, 2009.

LOPES. A. L. B. Sanear, prever e embelezar: o engenheiro Saturnino de Brito, urbanismo sanitaria e o novo projeto urbano do PRR para o Rio Grande do Sul(1908-1929). Tese de doutorado em História. **Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul**. 2013.

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

MACEDO. S. S. Paisagem, Modelos Urbanísticos e as Áreas Habitacionais de Primeira e Segunda residência. **Departamento de Arquitetura e Urbanismo da USP**, v.11, p. 131-202, 1998.

MICHAEL. I., RIZZO. L., McARDELL. C.S., MANAIA. C.M., MERLIN. C., SCHWARTZ. T., DAGOT. C., FATTA-KASSINOS D. Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: a review. **Water Research**, v. 47, p. 957-995, 2013.

MARTI. E., VARIATZA. E., BALCAZAR. J. L. The role of aquatic ecosystems as reservoir of antibiotic resistance. **Trends in Microbiology**, v.22, p. 36-41, 2014.

MASTERS. N., WIEGAND. A., AHMED. W., KATOULI. M. Escherichia coli virulence genes profile of surface waters as an indicator of water quality. **Water Research**, v. 45, p. 6321-6333, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE.http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/55217765/do1-2018-12-14-portaria-n-64-de-11-de-dezembro-de-2018-55217696. Acesso 7/06/2019.

NCCLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. **National Committee for Clinical Laboratory Standards**, v.6 Wayne, Pennsylvania, 2003.

NOVAIS. C., CAMPOS. J., FREITAS. A. F., BARROS. M., SILVEIRA. E., COQUE. T. M., ANTUNES. P., PEIXE. L. Water supply and feed as sources of antimicrobial-resistant Enterococcus spp. in aquacultures of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Portugal. **Science of the Total Environment**, v. 625, p.1102-1112, 2018.

OLIVEIRA. A. J. F. C., PINHATA. J. M. W. Antimicrobial resistance and species composition of Enterococcus spp. isolated from waters and sands of marine recreational beaches in Southeastern Brazil. **Water Research**, v. 42, p.2242-2250, 2008.

OLIVEIRA. A. J. 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. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 169, p.375-384, 2009

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 *Enterobacteriaceae*. **International Journal of Antimicrobial**, v.51, n.1, p. 82-88, 2018.

PINTO. A. B., PEREIRA. C. R., OLIVEIRA. A. J. F. C. Densidade de Enterococcus sp em águas recreacionais e areias de praias do município de São Vicente-SP, Brasil e sua relação com parâmetros abióticos. **Mundo da Saúde**, v. 36, n. 4, p. 587-593, 2012 .

PREFEITURA DE SANTOS: <http://www.santos.sp.gov.br/>. Acesso 1/04/2018.

PREFEITURA DE SANTOS: <http://www.santos.sp.gov.br/?q=content/entre-as-primeiras-do-pais-em-rankings-de-saneamento-santos-mantem-programa-de-controle-de-esgoto>. Acesso 1/06/2019.

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.

RABBIA. V., BELLO-TOLLEDO. H., JIMÉNEZ. S., QUEZADA. M., DOMÍNGUEZ. M., VERGARA. L., GONZÁLES-ROCHA. G. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains isolated from bird feces, water, from inside a wastewater treatment plant and seawater samples collected in the Antarctic Treaty area. **Polar Science**, v. 10, p. 123-131, 2016.

RANG. H. P., Rang & Dale's Pharmacology: with student consult. **Elsevier Churchill Livingstone**, 8ª edição, 2016.

ROMAN. L., HARDESTY. B. D., HINDELL. M. A., WILCOX. C. A quantative analisys linking seabird mortality and marine debris ingestion. **Nature - Scientific Reports**, v.9, 2019.

ROMAN. A. C., ROMAN. J. V., FLORES. M. A. V., VILLASEÑOR. H. J., VIDAL. J. E., AMADOR. S. M., LLANOS. A. M. G., NUÑEZ. E. G., SERRANO. J. M., PASTRANA. G. T., SICAIROS. N. L. Detection of antimicrobial-resistance diarrheagenic *Escherichia coli* strains in surface water used to irrigate food products in the northwest of Mexico. **International journal of food Microbiology**, v. 304, p. 1- 10, 2019.

RUBIÃO. C. A., FRANCO. R. M., MESQUITA. E. F. M., MIGUEL. M. A. L., CABRAL. C. C., FONSECA. A. B. M. *Enterococcus* spp. Resistant to Multiple Antimicrobial Drugs and Determination of Fecal Contamination in Levels Mangrove Oysters (*Crassostrea rhizophorae*). **Brazilian Archives of Biology an Technology an International Journal**, v. 60, p. 1- 10, 2017.

SADOWY. E., LUCZKIEWICK. A. Drug- resistant and hospital associated *Enterococcus faecium* from wastewater, riverine estuary an anthropogenically impacted marine catchment basin. **BMC Microbiology**, v. 14, p. 1- 15, 2014.

SOUSA. E. C. P. M., ZARONI. L. P., GASPARRO. M. R., PEREIRA.C. D. S. Review Of Ecotoxicological Studies Of The Marine And Estuarine Environments Of The Baixada Santista (São Paulo, Brazil). **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 62, p. 133-147, 2014.

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.

TOMMASI. L R. Poluição marinha no Brasil: uma síntese do conhecimento. **Instituto Oceanográfico**,v. 5, p. 1-30, 1987.

TORRES. C., ALONSO. C. A., RIPA. L. R., SAMPEDRO. R. L., DEL CAMPO. R., COQUE. T.M. Antimicrobial Resistance in *Enterococcus* spp of animal origin. **American Society for Microbiology Press- Microbiology Spectrum**, v.6, p. 1-41, 2018.

UNITED NATIONS EDUCATIONAL SCIENTIFIC AND CULTURAL ORGANIZATION (UNESCO). Blueprint for the future we want: Marine Pollution. **UNESCO**.2017.

UNITED STATES ENVIRONMNETAL PROTECTION AGENCY(USEPA). Method 1600: Enterococci in Water by Membrane Filtration Using Membrane-enterococcus Indoxyl- β -D-glucoside Agar (m-EI agar). EPA-821-R-06-009. Of- fice of Water. **USEPA**. 2006.

UNITED STATES ENVIRONMNETAL PROTECTION AGENCY(USEPA). National Aquatic Resource Surveys. Indicators: Enterococci. **USEPA**. 2017.

VIGNAROLI. C., PASQUAROLI. S., CITTERIO. B., DI CESARE. A., MANGIATERRA. G., FATORINNI. D., BIAVIASCO.F. Antibiotic and heavy metal resistance in *Enterococci* from coastal marine sedimen. **Environmental Pollution**, v.237, p.406-413, 2018.

WADE. T. J., CALDERON. R. L., SAMS. E., BEACH. M., BRENNER. K.P., WILLIANS .A. H., DUFOUR. A.P. Rapidly Measured Indicators of Recreational Water Quality Are Predictive of Swimming-Associated Gastrointestinal Illness. **Environmental Health Perspectives**, v.4, p. 24-28, 2005.

WEISKERGER. S.J., BRANDÃO. J., AHMED. W., ASLAN. A., AVOLIO. L., BADGLEY. B.D., BOEHM. A. B., EDGE. T. A., FLEISHER. J. M., HEANEY. C. D., JORDÃO. L., KINZELMAN.

J.L., KLAUS. J. S., KLEINHEINZ. G., MERILÄINEN. P., NSHIMYIMANA. J. P., PHANIKUMAR. M., PIGGOT. A. M., HARWOOD. V.J. Impacts of changing earth on microbial dynamics and human health risks in the continuum between beach water and sand. **Water Research**, v.162, p. 456-470, 2019.

WHEELER. E. A., BURKE. J., SPAIN.A., Fecal indicator bacteria are abundant in wet sand at freshwater beaches. **Water research**, v. 37, p. 3978-3982, 2003.

ZHANG. Y. J., HU. W. V., YAN. H., WANG. J. T., LAM. S. H., CHEN. Q. L., CHEN. D., HE. J. Z. Salinity as a predominant factor modulating the distribution patterns of antibiotic resistance genes in ocean and river beach soils. **Science Total Environmental**, v.668, p. 193-203, 2019.