
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MICROBIOLOGIA APLICADA**

**AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA BACTERIANA
A ANTIBIÓTICOS NOS PRINCIPAIS RIOS DE ITANHAÉM-SP**

JOSÉ AUGUSTO DE SOUZA

Rio Claro – SP

2022

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MICROBIOLOGIA APLICADA**

**AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA BACTERIANA
A ANTIBIÓTICOS NOS PRINCIPAIS RIOS DE ITANHAÉM-SP**

JOSÉ AUGUSTO DE SOUZA

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 Microbiologia Aplicada

Orientadora: Ana Julia Fernandes

Rio Claro – SP

2022

S729a Souza, José Augusto de
Avaliação da resistência bacteriana a antibióticos nos principais rios de Itanhaém-SP. / José Augusto de Souza. -- Rio Claro, 2022
58 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientadora: Ana Júlia Fernandes

1. Rio Itanhaém. 2. Escherichia coli. 3. Água poluição. 4. Farmacorresistência bacteriana. 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.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: MONITORAMENTO DA RESISTÊNCIA MICROBIANA NOS RIOS DE ITANHAÉM-SP

AUTOR: JOSÉ AUGUSTO DE SOUZA

ORIENTADORA: ANA JULIA FERNANDES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada), área: Microbiologia Aplicada pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ANA JULIA FERNANDES (Participação Presencial)
Instituto de Biociências do Câmpus do Litoral Paulista / Unesp

Profa. Dra. RENATA DE BRITTO MARI (Participação Presencial)
Instituto de Biociências do Câmpus do Litoral Paulista / Unesp

Profa. Dra. FLÁVIA MARISA PRADO SALDANHA CORRÊA (Participação Virtual)
Instituto Oceanográfico / Universidade de São Paulo

Rio Claro, 01 de dezembro de 2022

Título alterado para: "AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS NOS PRINCIPAIS RIOS DE ITANHAÉM - SP."

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a minha esposa e minha família que sempre me apoiaram, incentivaram e aturaram nesta e em todas as fases da minha vida até aqui,

Agradeço a Roberta Merguizo minha “coorientadora de coração” que sempre me ajuda com pesquisas, me orienta e aconselha não só nas coisas boas, mas também nos surtos que vieram em fazer a pós em tempo de pandemia.

Agradeço também a Professora Doutora Ana Júlia Fernandes, por ser minha orientadora desde a graduação sempre me ajudando a evoluir não só profissionalmente, mas também no pessoal.

Gostaria de agradecer também a todos os outros integrantes do Laboratório de Microbiologia Marinha – MICROMAR, em especial para a Geovanna Freitas e a Beatriz Maysha por serem as melhores IC's que alguém pode ter.

Meu muitíssimo obrigado a toda 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

Resumo

As ocupações demográficas em áreas litorâneas que não contam com rede de coleta de esgotos domésticos, ou que possuem um baixo índice de coleta e tratamento, são preocupantes para o ambiente devido aos impactos exercidos sob a saúde da fauna e da população humana, principalmente em locais onde o turismo compõe a receita municipal, como o município de Itanhaém, que além de abrigar uma população crescente, pode quintuplicar seu número devido à quantidade de turistas durante os meses de temporada, e esse aumento tem como consequência, o aumento da descarga de efluentes domésticos na rede coletora e também o despejo de irregular desses efluentes. Essas descargas podem influenciar diretamente na qualidade da água dos rios, prejudicando a balneabilidade e trazendo riscos a população e a fauna. Além disso, um agravante para a contaminação é a resistência do patógeno a antimicrobianos que dificulta o tratamento das infecções podendo levar seu hospedeiro a óbito. Neste trabalho foi utilizado a densidade de bactérias bioindicadoras presentes nos corpos hídricos, como a *Escherichia coli*, para estimar a contaminação dos principais rios do município de Itanhaém utilizando padrões quali e quantitativos estabelecidos pela legislação e verificar a existência de cepas resistentes aos antimicrobianos. Para isso foram utilizados nove antibióticos, todos indicados para o tratamento de infecções por *E. coli*, sendo eles Fosfomicina, Amoxicilina, Amoxicilina + Ácido Clavulânico, Amicacina, Imipenem, Cefuroxima, Ciprofloxacina, Sulfazotrim e Tetraciclina. Destes, apenas a Fosfomicina e o Imipenem tiveram eficácia em 100% das amostras e em contrapartida, o Sulfazotrim e a Tetraciclina tiveram as maiores resistências com 76% e 73% respectivamente. Os dados obtidos indicaram que existe grande influência da sazonalidade nas densidades bacterianas nos rios estudados e que, o aumento do despejo de efluentes em corpos hídricos afeta os níveis de resistência das bactérias presentes neste ambiente aos antibióticos testados. Nenhum dos pontos analisados pôde ser considerado próprio para contato direto de acordo com os critérios de balneabilidade estabelecidos pela CONAMA.

Palavras chave: Rio Itanhaém; *Escherichia coli*; Contaminação; Antibióticos; Resistência.

Abstract

Demographic occupations in coastal areas that do not have a domestic sewage collection network or that have a low rate of collection and treatment are worrisome for the environment due to the impacts on the health of fauna and the human population, especially in places where tourism makes up the municipal revenue, such as the municipality of Itanhaém, which in addition to having a growing population, can quintuple its number due to the number of tourists during the season months, and this increase has the consequence of increasing the discharge of effluents domestic waste in the collection network and also the irregular discharge of these effluents. These discharges can directly influence the water quality of rivers, impairing bathing and bringing risks to the population and fauna. In addition, an aggravating factor for contamination is the pathogen's resistance to antimicrobials, which makes it difficult to treat infections and can lead to the death of the host. In this work, the density of bioindicator bacteria present in water bodies, such as *Escherichia coli*, was used to estimate the contamination of the main rivers in the municipality of Itanhaém using qualitative and quantitative standards established by legislation and to verify the existence of strains resistant to antimicrobials. For this, nine antibiotics were used, all indicated for the treatment of *E. coli* infections, namely Phosphomycin, Amoxicillin, Amoxicillin + Clavulanic Acid, Amikacin, Imipenem, Cefuroxime, Ciprofloxacin, Sulfazotrim and Tetracycline. Of these, only Fosfomycin and Imipenem were effective in 100% of the samples and, on the other hand, Sulfazotrim and Tetracycline had the highest resistances with 76% and 73% respectively. The data obtained indicated that there is a great influence of seasonality on the bacterial densities in the rivers studied and that the increase in the discharge of effluents into water bodies affects the levels of resistance of the bacteria present in this environment to the tested antibiotics. None of the points analyzed could be considered suitable for direct contact according to the bathing criteria established by CONAMA.

Keywords: Itanhaém River; *Escherichia coli*; Contamination; Antibiotics; Drug resistance.

Lista de Figuras

Figura 1: Grupo de microrganismos indicadores de poluição fecal (CETESB, 2010)	15
Figura 2: Imagem de macro morfologia e microscopia ótica de amostra de <i>E. coli</i> utilizando técnica de coloração de Gram (Fonte: Arquivo pessoal).....	16
Figura 3:	18
Figura 4: Localização do Município de Itanhaém – SP. Fonte: Google adaptado.	20
Figura 5: Vista superior da área de estudo com os pontos de coleta (Azul – Rio Preto; Branco – Rio Branco; Vermelho – Rio Itanhaém). Google Earth adaptado.	21
Figura 6: Teste confirmatório para <i>E. coli</i> (Ureia com vermelho de fenol a esquerda) e técnica de esgotamento para purificação em meio de cultura Agar MacConkey, a direita.....	25
Figura 7: Estrutura molecular da Fosfomicina.....	26
Figura 8: Estrutura molecular da Amicacina.....	27
Figura 9: Estrutura molecular do Imipenem.....	27
Figura 10: Estrutura molecular da Cefuroxima	28
Figura 11: Estrutura molecular da Amoxicilina	28
Figura 12: Estrutura molecular da Amoxicilina (Superior) e do Ácido Clavulânico (inferior).....	29
Figura 13: Estrutura molecular da Ciprofloxacina.....	30
Figura 14: Estrutura molecular do Sulfametoxazol (esquerda) e Trimetoprima (direita).	30
Figura 15: Estrutura molecular da Tetraciclina.....	31
Figura 16: Página do CEMADEN mapa interativo – Pluviômetros automáticos (superior); gráfico do pluviômetro mostrando precipitação acumulada nos dias anteriores a coleta (inferior). Fonte: CEMADEN.....	33
Figura 17: Gráfico logarítmico da média da densidade de <i>E. coli</i> encontrada no Rio Itanhaém. Valor máximo de 100.000 ilustrativo indicando impossibilidade de leitura devido à alta concentração de colônias na placa.	35

Figura 18: Gráfico logarítmico da média da densidade de <i>E. coli</i> encontrada no Rio Branco. Valor máximo de 100.000 ilustrativo indicando impossibilidade de leitura devido à alta concentração de colônias na placa.	37
Figura 19: Gráfico logarítmico da média da densidade de <i>E. coli</i> encontrada no Rio Preto. Valor máximo de 100.000 ilustrativo indicando impossibilidade de leitura devido à alta concentração de colônias na placa.	39
Figura 20: Percentual dos resultados da sensibilidade encontrada durante todo o período de amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Sensibilidade/Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.....	44
Figura 21: Gráfico e radar da média dos resultados da sensibilidade encontrada durante todo o período de amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Sensibilidade/Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.....	45
Figura 22: Placa de antibiograma mostrando os halos de inibição.	45
Figura 23: Percentual, em coluna empilhada 100%, do resultado da sensibilidade encontrada na amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Sensibilidade/Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.....	46
Figura 24: Percentual, em coluna empilhada 100%, do resultado da sensibilidade encontrada na amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Sensibilidade/Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.....	47
Figura 25: Percentual, em coluna empilhada 100%, do resultado da sensibilidade encontrada na amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Sensibilidade/Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.....	48
Figura 26: Percentual, em coluna empilhada 100%, do resultado da sensibilidade encontrada na amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Sensibilidade/Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.....	49
Figura 27: Percentual, em coluna empilhada 100%, do resultado da sensibilidade encontrada na amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Sensibilidade/Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.....	50
Figura 28: Percentual, em coluna empilhada 100%, da média dos resultados da sensibilidade encontrada durante todo o período de amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Sensibilidade/Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.	51

Lista de Tabelas:

Tabela 1: Limites, em unidade formadora de colônia (U.F.C.), de coliformes termotolerantes e <i>E. coli</i> por 100 mL de água para cada categoria (Resolução CONAMA nº 274/2000) Fonte: CETESB, 2017 adaptado	14
Tabela 2: Tabela da pluviosidade no entorno aos pontos de coleta em Itanhaém – SP.	32
Tabela 3: Dados físico-químicos aferidos <i>in locus</i> no Rio Itanhaém. *medição ótica em laboratório	34
Tabela 4: Resultado do antibiograma realizado no rio Itanhaém mostrando o diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Resistencia intermediária, Vermelho – Resistente.	35
Tabela 5: Dados físico-químicos aferidos <i>in locus</i> no Rio Branco. *medição ótica em laboratório	36
Tabela 6: Resultado do antibiograma realizado no rio Branco mostrando o diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Resistencia intermediária, Vermelho – Resistente.	37
Tabela 7: Dados físico-químicos aferidos <i>in locus</i> no Rio Preto. *medição ótica em laboratório	38
Tabela 8: Resultado do antibiograma realizado no rio Preto mostrando o diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Resistencia intermediária, Vermelho – Resistente.	39

Sumário

Introdução	12
Área de Estudo	20
Rio Itanhaém	22
Rio Branco	22
Rio Preto	22
Fatores Abióticos	23
Determinação da densidade de <i>Escherichia coli</i>	24
Resistência a Antibióticos	25
FOSFOMICINA	26
AMICACINA	26
IMIPENEM	27
CEFUROXIMA	28
AMOXICILINA	28
AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÂNICO	29
CIPROFLOXACINA	29
SULFAZOTRIM / SULFAMETOXAZOL-TRIMETOPRIMA	30
TETRACICLINA	31
Resultados e Discussão	32
Fatores Abióticos	32
Precipitação	32
Densidades Microbiológicas	41
Resistência da <i>E. coli</i> aos antibióticos testados	43
Conclusão	51

Introdução

Seguindo a tendência mundial, grande parte da população brasileira vive em áreas costeiras. As áreas costeiras, tanto no Brasil quanto em outros países, sempre atraíram as populações ao longo da história humana, onde se formaram as maiores e mais prósperas cidades, devido aos abundantes recursos disponíveis, à facilidade para as navegações, à prática de esportes e lazer, entre outros. Com isso, a produção de resíduos sólidos e efluentes de origem agrícola, industrial e, principalmente, doméstica tem sido intensificada nessa região (ABESSA, 2012; OLIVEIRA, 2017).

O crescimento populacional no litoral de São Paulo aumentou significativamente a partir da segunda metade do século XX devido à proximidade da Baixada Santista à Região Metropolitana de São Paulo. Além disto, a disponibilidade de empregos com o crescimento do Porto de Santos, a instalação de indústrias e as obras viárias que facilitaram a interligação entre as cidades, geraram um aumento no fluxo de migração para o litoral (POLIS, 2012; MELLO, 2013).

A Região Metropolitana da Baixada Santista (RMBS), é a mais populosa da costa do estado de São Paulo, sendo composta por nove municípios, Bertioga, Cubatão, Guarujá, Itanhaém, Mongaguá, Peruíbe, Praia Grande, Santos e São Vicente. Destes apenas Cubatão não se caracteriza como uma estância balneária, título dado pelo governo do estado de São Paulo para municípios turísticos que atendem a determinados requisitos como aspectos culturais, históricos, etc., além da capacidade para recebimento de turistas (Governo de São Paulo, 2020).

O adensamento populacional e o aumento da população flutuante devido ao turismo, associado à falta de saneamento de algumas áreas (como a rural e periurbana) onde grande parte possuem fossas ou contam com descarte irregular de efluentes domésticos e agrícolas, levam à contaminação dos rios da região pelo aporte de nutrientes e pela presença de microrganismos (ABESSA, 2012; GIATTI, 2004; SAMPAIO, 2010).

Além do despejo de esgotos sem tratamento, a contaminação dos rios também sofre influência da precipitação. O fluxo das águas da chuva chega aos rios e ao estuário carregando nutrientes e microrganismos para locais que são utilizados para recreação, pesca, coleta de crustáceos e bivalves, entre outros, levando os usuários e consumidores dos alimentos de origem marinha, ao risco de se contaminar com diversos tipos de patógenos como parasitas, vírus, fungos e principalmente bactérias (ABESSA, 2012; GIATTI, 2004; SAMPAIO, 2010).

Grande parte das águas recreacionais do mundo recebem o monitoramento de órgãos competentes, que se empenham em monitorá-las e qualificá-las, para que sejam seguras ao contato direto em atividades como, natação, surf, mergulho, banho, etc., ou indireto, onde o risco de contato é menor, porém pode ocorrer como em navegação, pesca, entre outros (BERG, 2013; WADE, 2005).

Nos meses de verão é comum ocorrer o aumento de pacientes que apresentam quadros relacionados às doenças de veiculação hídrica, causados pela ingestão e/ou contato com água contaminada ou alimentos, sendo este um grande problema de saúde pública, atrelado às demandas ambientais e sociais (BILA, 2003; RODRIGUES, 2016).

Essas diferentes formas de contato com água contaminada, podem ocasionar casos de infecção por diversos patógenos, entre eles, os mais comuns são a contaminação por bactérias como a *Escherichia coli* que podem causar gastroenterites, eventos diarreicos, infecções, entre várias outras doenças (OLIVEIRA, 2017; SOUTO, 2015).

No Brasil, a balneabilidade é regulada pela resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) 274/2000, com critérios resumidos na Tabela 1 e da qual valem ser destacadas as seguintes informações:

“Art. 2º: As águas doces, salobras e salinas destinadas a balneabilidade (recreação de contato primário) terão sua condição avaliada nas categorias PRÓPRIAS E IMPRÓPRIAS.

§ 1º As águas consideradas PRÓPRIAS poderão ser subdivididas nas seguintes categorias:

- Excelente: quando em 80% ou mais de um conjunto de amostras obtidas em cada uma das cinco semanas anteriores, colhidas no mesmo local, houver,

no máximo, 250 coliformes fecais (termotolerantes) ou 200 *Escherichia coli* ou 25 *Enterococcus* por 100 mililitros;

- Muito Boa: quando em 80% ou mais de um conjunto de amostras obtidas em cada uma das cinco semanas anteriores, colhidas no mesmo local, houver, no máximo, 500 coliformes fecais (termotolerantes) ou 400 *Escherichia coli* ou 50 *Enterococcus* por 100 mililitros;
- Satisfatória: quando em 80% ou mais de um conjunto de amostras obtidas em cada uma das cinco semanas anteriores, colhidas no mesmo local, houver, no máximo 1.000 coliformes fecais (termotolerantes) ou 800 *Escherichia coli* ou 100 *Enterococcus* por 100 mililitros.

§ 2º Quando for utilizado mais de um indicador microbiológico, as águas terão suas condições avaliadas, de acordo com o critério mais restritivo.

§ 3º Os padrões referentes aos *Enterococcus* aplicam-se, somente, as águas marinhas.

§ 4º As águas serão consideradas IMPRÓPRIAS quando no trecho avaliado, for verificada uma das seguintes ocorrências:

- Não atendimento aos critérios estabelecidos para as águas próprias;
- Valor obtido na última amostragem for superior a 2.500 coliformes fecais (termotolerantes) ou 2.000 *Escherichia coli* ou 400 *Enterococcus* por 100 mililitros;
- Incidência elevada ou anormal, na região de coleta, de enfermidades transmissíveis por via hídrica, indicada pelas autoridades sanitárias;
- Presença de resíduos ou despejos sólidos ou líquidos, inclusive esgotos sanitários, óleos, graxas e outras substâncias capazes de oferecer riscos à saúde ou tornar desagradável a recreação;
- pH < 6,0 ou pH > 9,0 (águas doces), à exceção das condições naturais;
- Floração de algas ou outros organismos até que se comprove que não oferecem riscos à saúde humana;
- Outros fatores que contraindiquem, temporária ou permanentemente, o exercício da recreação de contato primário;

§ 5º Nas praias ou balneários sistematicamente impróprios recomenda-se a pesquisa de organismos patogênicos.”

Tabela 1: Limites, em unidade formadora de colônia (U.F.C.), de coliformes termotolerantes e *E. coli* por 100 mL de água para cada categoria (Resolução CONAMA nº 274/2000) Fonte: CETESB, 2017 adaptado

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

(*) refere-se ao período de cinco amostragens

No caso do Estado de São Paulo, a fiscalização é de competência da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), que segue as

Resoluções do CONAMA. A Resolução CONAMA 357 de março de 2005, que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, complementada pela Resolução CONAMA 430 de maio de 2011, que estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes e a Resolução CONAMA 274 de 3 novembro de 2000 que define os critérios de balneabilidade em águas brasileiras. Na CONAMA 274 as classes Excelente, Muito Boa e Satisfatória podem ser agrupadas em uma única classificação denominada PRÓPRIA (Tabela 1).

A classificação de águas como IMPRÓPRIAS, indica um comprometimento na qualidade sanitária que abrange diversas fontes de contaminação como a disposição de efluentes (industriais, agrícolas, domésticos) de forma direta, irregular ou fora dos padrões estabelecidos, a ocorrência de doenças de veiculação hídrica na região, a presença de resíduos sólidos e de manchas de óleo ou graxas, entre outros. Todas estas fontes de contaminação aumentam o risco para os usuários destas águas, principalmente pelo contato direto tornando desaconselhável a sua utilização para atividades de lazer (CETESB, 2018; BRASIL, 2005).

Coliformes termotolerantes (Figura 1), antigamente chamados de coliformes fecais, é um grupo inserido nos coliformes totais, representado principalmente pela *Escherichia coli* (CETESB, 2010).

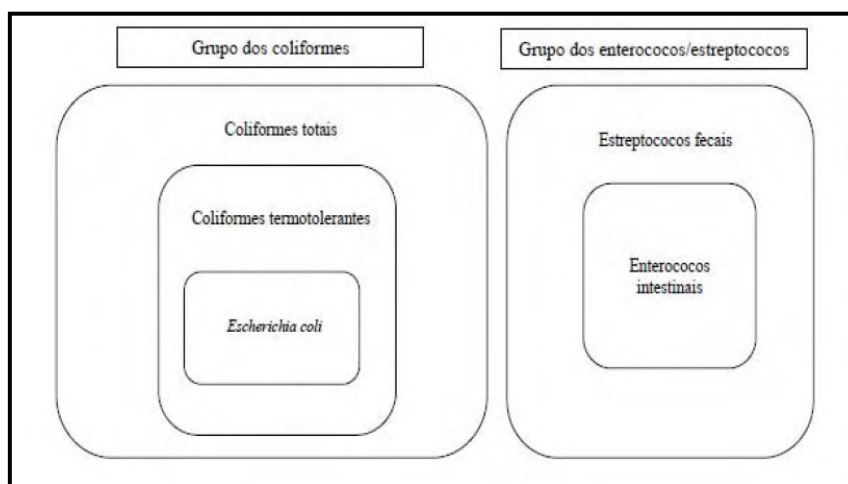


Figura 1: Grupo de microrganismos indicadores de poluição fecal (CETESB, 2010)

A *E. coli* (Figura 2) é uma bactéria flagelada em forma de bacilo, Gram negativa, sem esporulação, anaeróbia facultativa, constituinte convencional da biota intestinal de animais homeotermos. Algumas cepas da *E. coli* são patogênicas, podendo causar infecções por sua ingestão através da água e alimentos contaminados, causando maiores danos em pessoas com imunidade reduzida, crianças e idosos, ou em pessoas imunossuprimidas (OLIVEIRA, 2017).

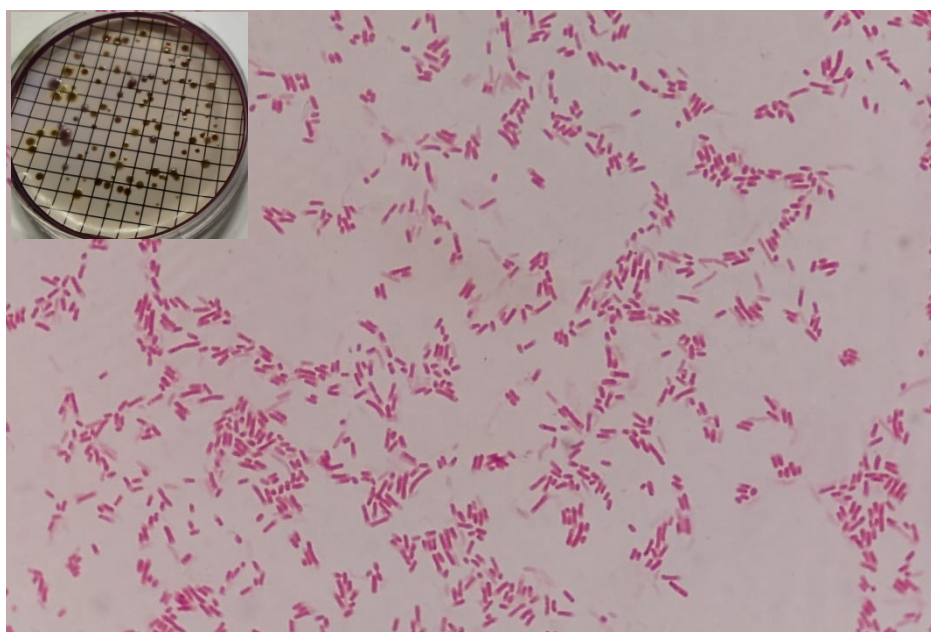


Figura 2: Imagem de macro morfologia e microscopia ótica de amostra de *E. coli* utilizando técnica de coloração de Gram (Fonte: Arquivo pessoal)

A contaminação microbiana causada pelos efluentes lançados *in natura*, por fossas rudimentares, criação de animais, entre outros, migra em direção aos rios, estuários e praias devido a pluviosidade e drenagem, fluxo das águas e as variações da maré, poluindo os mesmos e aumentando a carga de microrganismos patogênicos nestes ambientes. Além das doenças causadas em humanos pelo contato direto com as águas, esses efluentes podem contaminar os animais que servem de alimento a população local como em peixes, crustáceos e principalmente moluscos bivalves, bioacumulando e biomagnificando toxinas ou organismos patogênicos em seus tecidos, sendo extremamente danoso a humanos (CUNHA, 2010; DOI, 2018; BALLESTEROS 2016).

Por volta de 75% das doenças que ocorrem em países em desenvolvimento ao redor do mundo são de veiculação hídrica pelo consumo de água potável poluída, que também pode ocorrer pelo contato primário com essas águas durante atividades de lazer e esportes aquáticos ao se engolir a água (WHO, 2019; AMENU, 2014; MONNEY; 2013).

Além da própria contaminação por esgotos domésticos que carregam diversos microrganismos patogênicos, entre eles bactérias resistentes à antibióticos, também são lançados nos corpos hídricos, resíduos de drogas utilizadas no tratamento de doenças, entre elas os antibióticos (MENDES, 2006; RAM, 2007/2008).

A presença de antimicrobianos em ambientes aquáticos ocasiona a seleção de bactérias resistentes a estas drogas, que podem encontrar no ambiente condições propícias para seu crescimento devido o aporte de nutrientes e condições físico-químicas adequadas, gerando uma pseudo persistência no local com multirresistência a drogas (MENDES, 2006; RAM, 2007/2008).

Além disto, bactérias autóctones sensíveis, que não apresentam resistência a antibióticos, podem se tornar resistentes aos fármacos, mesmo sem o contato com eles, ou mesmo ser eliminadas pela competição com bactérias resistentes, alterando a biota nativa. Esta resistência ocorre pela conjugação com bactérias que apresentam plasmídeos com genes de resistência, pela sua capacidade genética ou devido à pressão seletiva no ambiente, criando um grande e diverso resistoma nessas áreas. A infecção por bactérias multirresistentes pode ser um grande risco à saúde das pessoas pois, dificultam seu tratamento pelos antibióticos comuns, aumentando cada vez mais a demanda por novos antibióticos (MENDES, 2006; RAM, 2007/2008).

Bactérias e outros microrganismos possuem diversos mecanismos de defesa a antibióticos e outras substâncias, sendo os principais a expulsão via bomba de efluxo, impedir a entrada da substância na célula, lise ou modificação da substância e a modificação do alvo da substância na célula. Esses mecanismos podem ser intrínsecos do organismo ou adquirido, sendo esse último de formas diferentes como mutação ou por adquirir um gene de resistência

extracromossômico por transformação, transdução ou por conjugação. Diferentes antibióticos podem possuir diferentes alvos na célula bacteriana, e quando esta possui resistência a mais de uma das classes de antibióticos utilizados para o tratamento adequado, podemos dizer que ela possui uma multirresistência, porém, quando a resistência abrange todos os antibióticos, temos o que chamamos de “Superbactéria” (PELEG e HOOPER, 2010 NOGUEIRA et al. 2016).

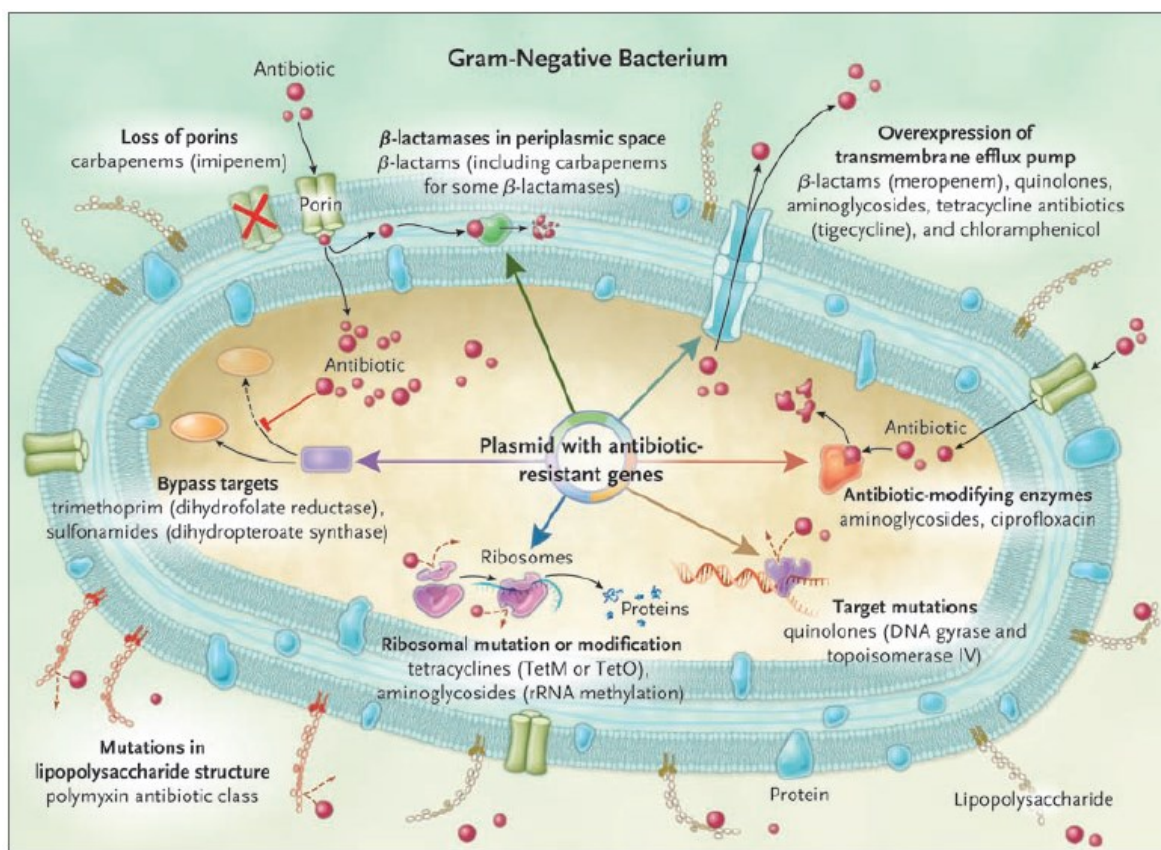


Figura 3: mecanismos de resistência em bactérias Gram negativas e alvos dos antibióticos. Fonte: PELEG e HOOPER (2010).

Deste modo, a contaminação dos corpos hídricos com esgotos domésticos que carregam bactérias patogênicas resistentes e diversas drogas e substâncias, pode levar ao aumento do resistoma encontrado nesses locais (MENDES, 2006; RAM, 2007/2008).

De acordo com ONU (Organização das Nações Unidas) a resistência bacteriana é um grande problema mundial, já contabilizando milhões de óbitos anualmente e sendo **suspeitas** de um número ainda maior, já ultrapassando doenças como AIDS e malária somadas. É estimado que em 2050 ocorra mais

de 10 milhões de óbitos anualmente devido a superbactérias, devendo ser combatida o mais rápido possível para que os Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) possa ser alcançado. A melhor forma de combate a bacterioses resistentes é evitar a infecção por esses microrganismos e para isso, estudos ambientais se fazem necessários a fim de localizar áreas contaminadas onde possam ocorrer contaminação de pessoas e animais. (BERG, et al., 2013; OMS, 2019)

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi a avaliação da contaminação microbiana a partir do microrganismo bioindicador *E. coli* (qualidade da água e contaminação de origem fecal) da água dos três principais rios do município de Itanhaém e sua relação com a ocorrência de cepas bacterianas resistentes a antibióticos.

Material e Métodos

Área de Estudo

A área de estudo se situa no município de Itanhaém, litoral do Estado de São Paulo. A estância balneária de Itanhaém possui população estimada em 2021 de 104.351 habitantes (87.057 hab. no Censo de 2010) com uma densidade demográfica de 144,69 hab./km². Além disso, possui população flutuante de cerca de 450.000 hab. fora picos de visitação em feriados prolongados, carnaval e réveillon (IBGE, 2020; ITANHAÉM, 2020).

O município de Itanhaém é uma cidade histórica (segunda mais antiga do Brasil) contando com diversos pontos turísticos, culturais além de suas praias, dos rios com atividades de banho, pesca e navegação, possui área urbana, periurbana e rural muito próxima a suas praias sendo um grande atrativo para o turismo (ITANHAÉM, 2020; PÓLIS, 2012).



Figura 4: Localização do Município de Itanhaém – SP. Fonte: Google adaptado.

O Município de Itanhaém possui a segunda maior bacia hidrográfica do Estado de São Paulo, com mais de 2 mil km de extensão, sendo que destes, 180 km são navegáveis (ITANHAÉM, 2020).

O Rio Itanhaém e seus afluentes são conhecidos como “Amazônia paulista”, devido ao encontro das águas escuras do Rio Preto com as brancas (Claras/barrentas) do Rio Branco, ocasionando fenômeno visualmente parecido com o que ocorre entre os rios Negro e Solimões, na Amazônia (ITANHAÉM, 2020).

Estes rios atraem visitantes de todo o Estado, que buscam um turismo alternativo, visto que oferece grande variedade de peixes, além de diversidade na fauna e flora. Pode-se conhecer o Rio Itanhaém por meio de embarcações que diariamente promovem passeios, tendo como ponto de partida o píer, que está localizado na Alameda Emídio de Souza, na Praia dos Sonhos, próxima ao Iate Clube (ITANHAÉM, 2020).

Pode-se encontrar ainda no Rio Itanhaém, todas as espécies de peixe de água doce encontradas nos rios Preto e Branco e, até onde a água salgada atinge, pode-se também encontrar espécies de água salgada e salobra como Robalo, Tainha, Parati, Caratinga, Bagre, Pescada, Sargo, Mero, entre outros (ITANHAÉM, 2020).

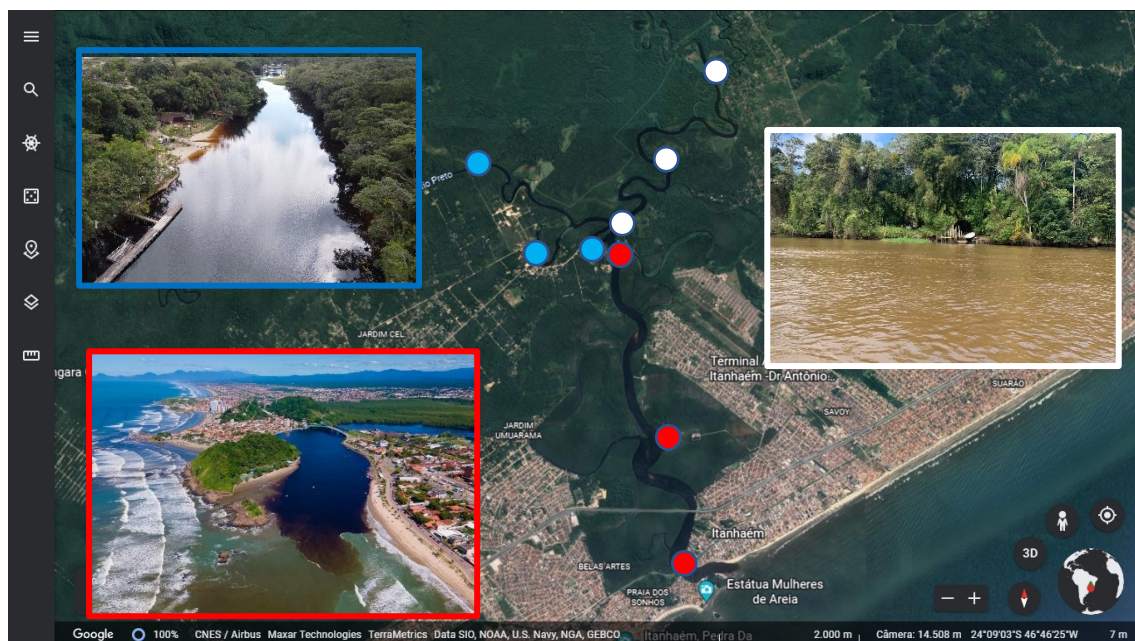


Figura 5: Vista superior da área de estudo com os pontos de coleta (Azul – Rio Preto; Branco – Rio Branco; Vermelho – Rio Itanhaém). Google Earth adaptado.

Rio Itanhaém

O Rio Itanhaém se encontra no nível do mar e após receber as águas do Rio Preto, pelo lado direito, e as águas do Rio Branco, pelo lado esquerdo, tem uma extensão de aproximadamente 7 km até sua foz no mar entre as praias do Centro à esquerda e as praias do Sonho e dos Pescadores à direita. Este rio margeia a área de maior densidade demográfica, pois corta a área urbana do município, possui diversas marinas e abriga maior parte dos esportes aquáticos (navegação, caiaque, stand-up paddle) e pesca esportiva, tradicional e de subsistência. Nele também ocorrem extração de areia para desassoreamento do rio por dragagem e também o despejo dos efluentes tratados do município pela Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) Anchieta – SABESP (ITANHAÉM, 2020).

Rio Branco

O Rio Branco tem uma extensão aproximada de 30 km e com um desnível de 5 m até seu encontro com o Rio Preto, tendo suas nascentes na Serra do Mar, no vale do Rio Branco e correndo na parte inicial entre duas serras, como uma calha. Nele encontra-se a Estação de Tratamento de Água (ETA) e Estação Elevatória Sabesp Mambu, onde ocorre a captação e tratamento de água pela Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP) que supre o município. Possui também grande parte da população periurbana e rural com diversas chácaras e plantações (ITANHAÉM, 2020).

Rio Preto

O Rio Preto tem uma extensão aproximada de 30 km e um desnível de 300 m até seu encontro com o Rio Branco. Situa-se do lado direito do Rio Itanhaém, recebendo este nome de Rio Preto, pela coloração de suas águas. Seu curso lento e calmo pela baixa velocidade oriunda das inúmeras curvas e meandros. Este rio margeia um trecho de menor densidade demográfica se comparado ao outros, porém, conta com maior visitação pelos banhistas por possuir alguns estabelecimentos em algumas praias, principalmente em seu meandro abandonado, que ainda possui ligação com o rio. Nele existe também

alguns pescueiros e também o Zoo Parque de Itanhaém, que conta com diversos animais e tanque de peixes (ITANHAÉM, 2020).

Coleta e Processamento de Amostras

As coletas foram realizadas bimestralmente, entre novembro de 2021 e agosto de 2022, durante maré baixa diurna (vazante). Ao todo foram coletadas 45 amostras, e destas verificada a multirresistência a antibióticos em *E. coli* divididas entre os 3 principais rios do município (Rio Branco, Rio Itanhaém e Rio Preto), contando com análises em três diferentes pontos em cada rio, sendo um a jusante, um a montante e outro ao longo do rio.

Os pontos foram escolhidos de forma a mostrar se há uma contaminação ao longo do curso dos rios, sendo um o máximo a montante a fim de obter menor influências externas, um ao fim do curso do rio para verificar as influências externas e outro ponto entre montante e jusante, preferencialmente próximo a uma possível fonte de contaminação como áreas urbanizadas, afluentes, ou outra influência antrópica que possa contribuir de alguma forma para os resultados.

As coletas foram realizadas em frascos estéreis de polipropileno e mantidas sob refrigeração em cooler (caixa térmica) contendo gelo reutilizável rígido (Gelox termogel) e encaminhadas para análise no Laboratório de Microbiologia Marinha (MICROMAR) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Instituto de Biociências Litoral Paulista – São Vicente, iniciando-se o processamento das amostras, no máximo, no dia posterior à amostragem.

Fatores Abióticos

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

Dados pluviométricos foram obtidos como parâmetro de volume de chuva acumulado em milímetros nos cinco dias antecedentes a data de cada coleta utilizando os dados do pluviômetro mais próximo das áreas de coleta pelo site oficial do CEMADEN (Centro Nacional de Monitoramento e Alertas de Desastres Naturais) e a variação da maré utilizando o site oficial CPTEC (Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos) / INPE (Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais).

Determinação da densidade de *Escherichia coli*

As densidades de bactérias foram analisadas através da técnica de membrana filtrante (APHA, 2012). As amostras de água foram filtradas em membrana de nitrato de celulose de 0,45µm de porosidade. Após a filtração as membranas foram depositadas em placas contendo meio de cultura ágar mTEC, e incubadas a 35 ± 2 °C por 2 h em estufa para secagem e em seguida, incubadas em banho-maria a 44,5 °C, embaladas em saco plástico e mantidas totalmente submersas, por mais 22 h. Após a incubação, foi realizado a confirmação e as colônias amareladas foram consideradas *E. coli*. As densidades foram expressas em Unidades Formadoras de Colônias por 100mL (UFC 100mL⁻¹).

Para realizar a confirmação da bactéria *E. coli*, as membranas de celulose foram retiradas das placas Millipore com o auxílio de uma pinça e colocadas sobre papel filtro absorvente, no qual foi adicionada em suas bordas a solução ureia com vermelho de fenol a 2% . Após o período de 20 minutos as colônias que mantiveram a cor ou mudaram de cor para amarelo-marrom (Figura 5 – esquerda) foram consideradas positivas para a espécie *E. coli* obtendo assim sua confirmação.

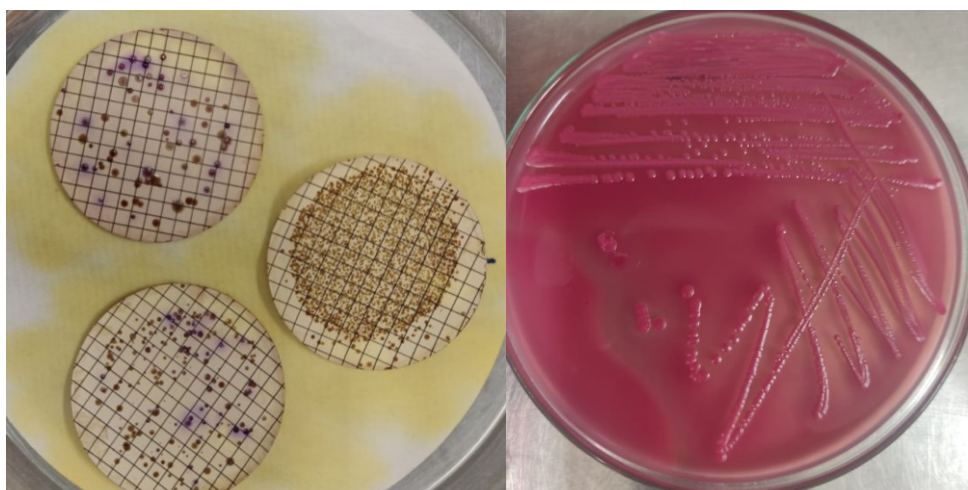


Figura 6: Teste confirmatório para *E. coli* (Ureia com vermelho de fenol a esquerda) e técnica de esgotamento para purificação em meio de cultura Agar MacConkey, a direita. Fonte: Autor.

Resistência a Antibióticos

A partir das placas de Ágar mTEC, colônias características de *E. coli* foram selecionadas aleatoriamente e estriadas em Ágar MacConkey, utilizando a técnica de esgotamento, até obter colônias puras. As placas contendo Ágar MacConkey foram incubadas em estufa bacteriológica à 35°C por 24 horas.

Com o crescimento de apenas um tipo de microrganismo na placa, foi escolhida uma colônia ao final do crescimento que estivesse mais isolada das demais para o teste de resistência utilizando a técnica de disco difusão (método Kirby Bauer) (CLSI, 2011). Para isso, a cepa foi coletada com o auxílio de um swab estéril descartável e passada para tubos de ensaio contendo solução salina 0,5% estéril. Os inóculos foram dispostos em placas de Petri contendo Ágar Mueller Hinton. Após 15 minutos, discos contendo antibióticos foram posicionados na placa de forma equidistantes. Foram utilizadas sete classes de antibióticos, sendo elas:

- AGENTES DIVERSOS I (Fosfomicina 200µg – FOS200 Marca DME);
- AMINOGLICOSÍDEOS (Amicacina 30µg – AMI30 Marca DME);
- CARBAPENÊMICOS (Imipenem 10µg – IPM10 Marca DME);

- CEFALOSPORINAS II (Cefuroxima 30µg – CRX30 Marca DME);
- PENICILINAS (Amoxicilina 10µg – AMO10 Marca DME, Amoxicilina + Ácido Clavulânico 30µg – AMC30 Marca DME);
- QUINOLONAS (Ciprofloxacina 05µg – CIP05 Marca DME);
- SULFONAMIDAS (Sulfazotrim / Sulfametoxazol-Trimetoprima 25µg – SUT25 Marca DME);
- TETRACICLINAS (Tetraciclina 30µg – TET30 Marca DME);

FOSFOMICINA

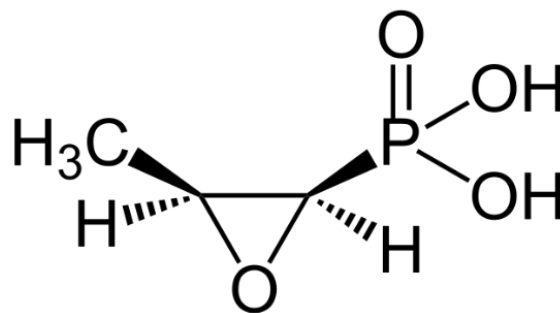


Figura 7: Estrutura molecular da Fosfomicina.

Indicação → Gram positiva e Gram negativa

Usos → Infecções das vias urinárias, como cistite aguda ou recorrente uretrite, presença de bactérias na urina na gravidez assintomática, tratar ou prevenir infecções urinárias pós cirúrgica

Mecanismos de ação → Inibição da síntese da parede celular por inibição da enzima UDP-N-acetilglucosamina enolpiruvil transferase (MurA) no citoplasma bacteriano (ALROWAIS, 2015).

AMICACINA

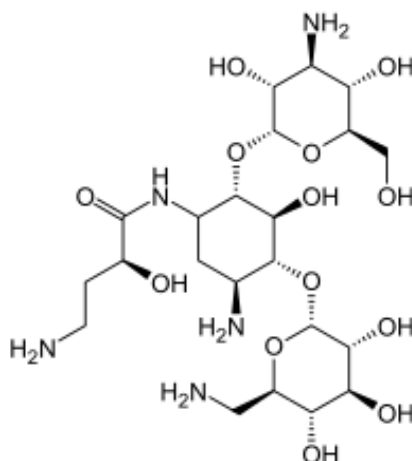


Figura 8: Estrutura molecular da Amicacina.

Indicação → Gram negativa (e algumas Gram positivas)

Usos → Infecção do trato urinário, endocardite, septicemia, ossos, articulações, SNC, infecções por *Mycobacterium*, etc.

Mecanismos de ação → Interferência na síntese de proteínas (SIZAR, 2022).

IMIPENEM

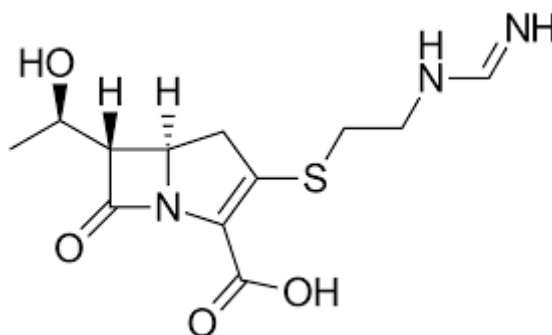


Figura 9: Estrutura molecular do Imipenem.

Indicação → Gram positiva e Gram negativa.

Usos → Infecções trato respiratório inferior, infecções urinárias, intra-abdominais, ginecológicas, infecções dos ossos e articulações, da pele, da estrutura da pele, endocardite (causada por *Staphylococcus aureus*) e septicemia.

Mecanismos de ação→ Interfere na síntese da parede celular / maior capacidade de penetração que outros beta-lactâmicos (CLISSOLD, 1987).

CEFUROXIMA

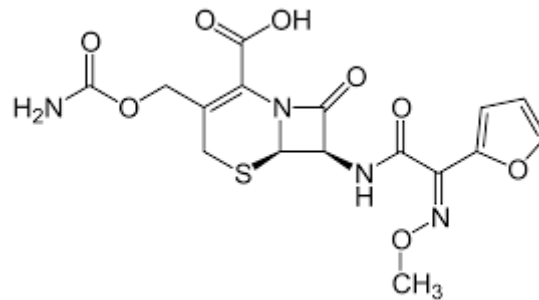


Figura 10: Estrutura molecular da Cefuroxima

Indicação→ Gram positiva e Gram negativa.

Usos→ Infecções de tecido mole, trato urinário, vias respiratórias, genitais (*N. gonorrhoeae*) SNC.

Mecanismo de ação→ Inibição da síntese da parede celular bacteriana através da ligação às proteínas-alvo essenciais (O'CALLAGHAN, 1976).

AMOXICILINA

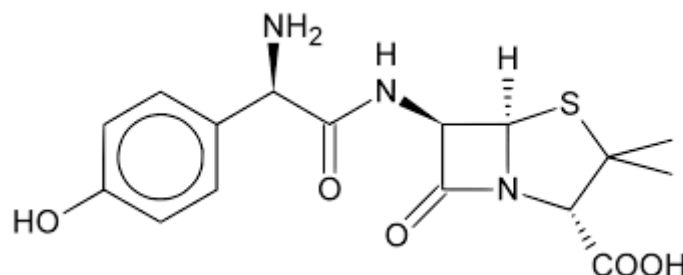


Figura 11: Estrutura molecular da Amoxicilina

Indicação→ Gram positiva e Gram negativa.

Usos→ Infecções orelha – nariz - garganta, vias respiratórias, sinusites, pele, trato urinário, infecção por *H. pylori*, etc.

Mecanismos de ação→ Inibição da transpeptidação / inibição da biossíntese do mucopeptídeo das paredes das células (AKHAVAN, 2021).

AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÂNICO

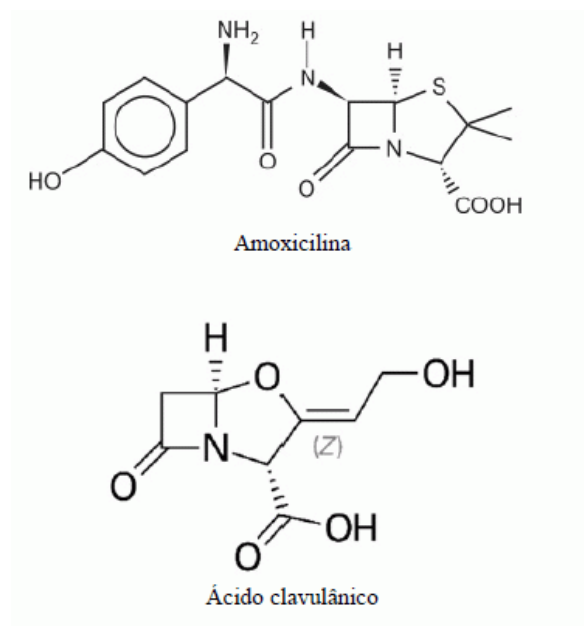


Figura 12: Estrutura molecular da Amoxicilina (Superior) e do Ácido Clavulânico (inferior)

Indicação→ Gram positiva e Gram negativa.

Usos→ Infecções orelha – nariz - garganta, vias respiratórias, sinusites, pele, trato urinário, infecção por *H. pylori*, etc.

Mecanismo de ação→ Inibição da transpeptidação / defesa bloqueando as enzimas betalactamases (EVANS & WITTLER, 2022).

CIPROFLOXACINA

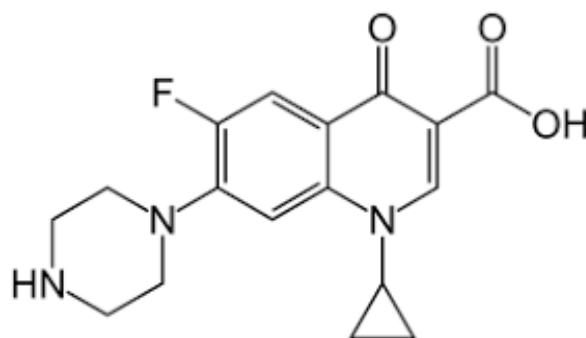


Figura 13: Estrutura molecular da Ciprofloxacina

Indicação→ Gram positiva e Gram negativa.

Usos→ Infecções do trato urinário, infecções sexualmente transmissíveis (gonorreia e cancro), pele, ossos, infecções articulares, prostatite, febre tifoide, infecções gastrointestinais e infecções do trato respiratório inferior, pneumonia, antraz, peste e Salmonelose.

Mecanismos de ação→ Bloqueio da função da DNA-girase (THAI, 2022).

SULFAZOTRIM / SULFAMETOXAZOL-TRIMETOPRIMA

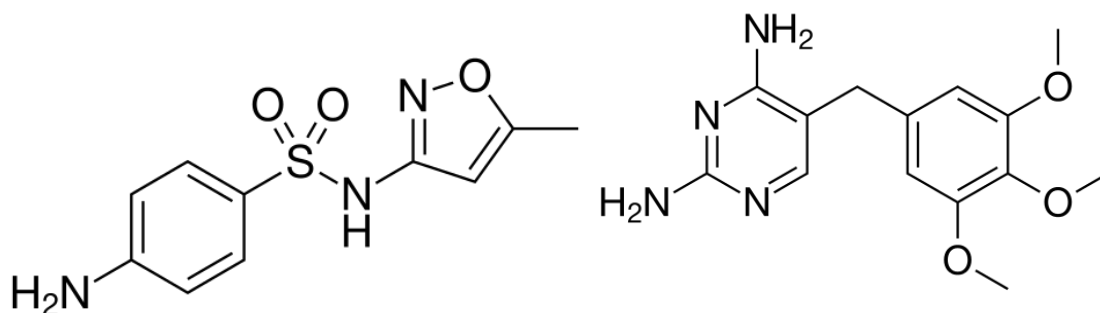


Figura 14: Estrutura molecular do Sulfametoxazol (esquerda) e Trimetoprima (direita).

Indicação→ Gram positiva e Gram negativa (amplo espectro).

Usos→ Infecções respiratórias, gastrintestinais, renais e do trato urinário, genitais (homens e mulheres), infecções da pele, etc.

Mecanismos de ação→ São inibidores competitivos da enzima diidropteroatosintetase (responsável pela incorporação do PABA) no ácido

diidropteróico, precursor imediato do ácido fólico (ácido dihidrofólico). São bacteriostáticos (MASTERS, 2003).

TETRACICLINA

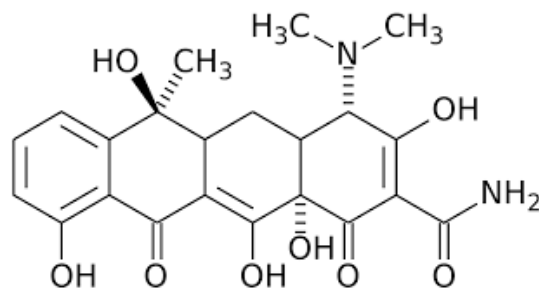


Figura 15: Estrutura molecular da Tetraciclina.

Indicação→ Gram positiva e Gram negativa (Ampla espectro).

Usos→ Infecções por riquetsias, erliquiose, anaplasmoze, leptospirose, amebíase, actinomicose, nocardiose, brucelose, melioidose, tularemia, infecções por clamídia, doença inflamatória pélvica, sífilis, diarreia do viajante, doença de Lyme precoce, acne, doença do legionário e doença de Whipple.

Mecanismos de ação → As tetraciclina inibem especificamente a subunidade ribossômica 30S, dificultando a ligação do aminoacil-tRNA ao sítio aceptor no complexo mRNA-ribossômico. São bacteriostáticas (SHUTTER & AKHONDI, 2022).

Todos os antibióticos escolhidos são indicados clinicamente para o tratamento de infecções por *E. coli* e possuem ponto de corte estabelecidos e padronizados por órgãos brasileiros e internacionais, e além disso, já foi documentada em literatura a resistência a todos os antibióticos testados.

As placas de antibiograma (Figura 21) foram incubadas em estufa bacteriológica a 35°C durante o período de 18 horas. Após o crescimento, foi medido o diâmetro dos halos de inibição com utilização de régua milimétrica para aferimento do resultado de suscetibilidade seguindo os dados disponíveis na

última versão da tabela de pontos de corte do Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – BrCAST (2022).

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos a partir da análise dos dados e processamento das amostras serão apresentados por cada rio, de forma a se explorar melhor os resultados obtidos e facilitar o entendimento em forma de tabelas e discussão mais detalhada.

Fatores Abióticos

Os fatores abióticos variam de acordo com o ambiente em questão, podendo ser naturais ou antrópicos e também podem influenciar diretamente na fisiologia de organismos, com isso interferem nas densidades microbiológicas presentes nas águas (Traficante, 2011). Os resultados obtidos durante as diferentes coletas não apresentaram grandes variações entre os meses, e os valores obtidos em cada rio foram mais similares que entre os pontos de amostragem, mostrando assim uma constância nas características .

Precipitação

A precipitação é um fator que pode influenciar no aporte de água doce nos rios por servirem de drenagem a águas pluviais dos terrenos adjacentes, porém não foi percebida uma influência com outros fatores abióticos e nem com as densidades obtidas durante o período amostral.

Tabela 2: Tabela da pluviosidade no entorno aos pontos de coleta em Itanhaém – SP.

* precipitação acumulada na semana da coleta.

	Pluviosidade acumulada (Chuvas) mm				
	Novembro 2021	Janeiro 2022	Março 2022	Mai 2022	Agosto 2022
Precipitação acumulada*	0 mm	1,4 mm	98,02 mm	114,59 mm	23,66 mm
Precipitação Histórica Mensal	118,8 Mm	217,5 mm	170,1 mm	80,5 mm	50,4 mm

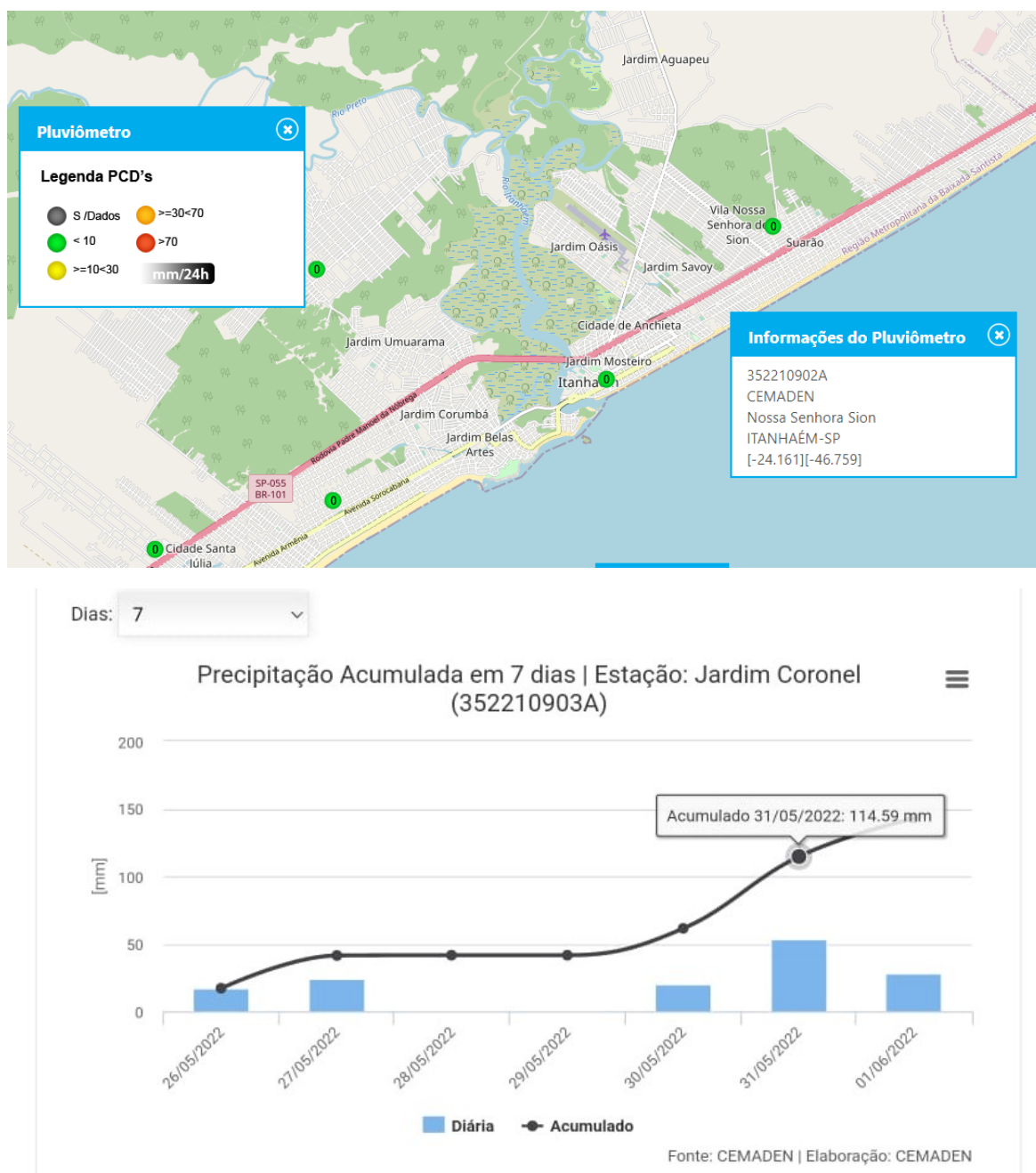


Figura 16: Página do CEMADEN mapa interativo – Pluviômetros automáticos (superior); gráfico do pluviômetro mostrando precipitação acumulada nos dias anteriores a coleta (inferior). Fonte: CEMADEN

Rio Itanhaém

Tabela 3: Dados físico-químicos aferidos *in locus* no Rio Itanhaém. *medição ótica em laboratório

	PONTOS	T°C	pH	O.D. (mg/L)	O.D. (%)	SAL. (PSU)	COND. (ms./cm)	NTU
Novembro 2021	Montante	22,90	6,21	1,19	13,90	0,23	481	4~6*
	Central	22,56	6,87	1,54	18,00	5,43	9650	4~6*
	Jusante	23,00	7,34	1,82	22,06	12,61	21020	4~6*
Janeiro 2022	Montante	26,05	6,26	1,18	14,60	0,40	827	4~6*
	Central	27,22	6,50	1,41	18,30	2,40	4530	4~6*
	Jusante	27,20	6,90	1,60	18,70	7,08	12390	4~6*
Março 2022	Montante	23,17	6,01	4,90	57,40	0,05	113	4~6*
	Central	23,02	5,88	5,83	67,20	3,99	7232	4~6*
	Jusante	23,10	6,11	5,49	62,40	7,38	12820	4~6*
Maio 2022	Montante	19,75	6,68	5,14	56,70	1,28	2471	4,1
	Central	20,46	7,12	4,35	49,70	8,63	1470	6,1
	Jusante	20,72	7,13	3,46	41,50	9,98	16920	8,5
Agosto 2022	Montante	20,15	6,74	6,24	69,10	3,47	6336	4,2
	Central	20,40	7,25	6,12	71,10	9,04	15440	3,4
	Jusante	20,60	7,58	6,30	79,80	17,32	28050	4,2

Os parâmetros físico-químicos encontrados no Rio Itanhaém (Tabela 3), demonstram que o rio sofre diversas influências externas como o aporte de água doce dos rios Branco e Preto e do mar, evidenciado principalmente pelo pH, salinidade e condutividade. Sua temperatura se mantém estável em seu curso e acompanhando a temperatura atmosférica. O O.D. indica que existe um alto

consumo do mesmo por bactérias heterotróficas e que a pluviosidade favorece o aumento do oxigênio devido ao maior volume de água e correntes.

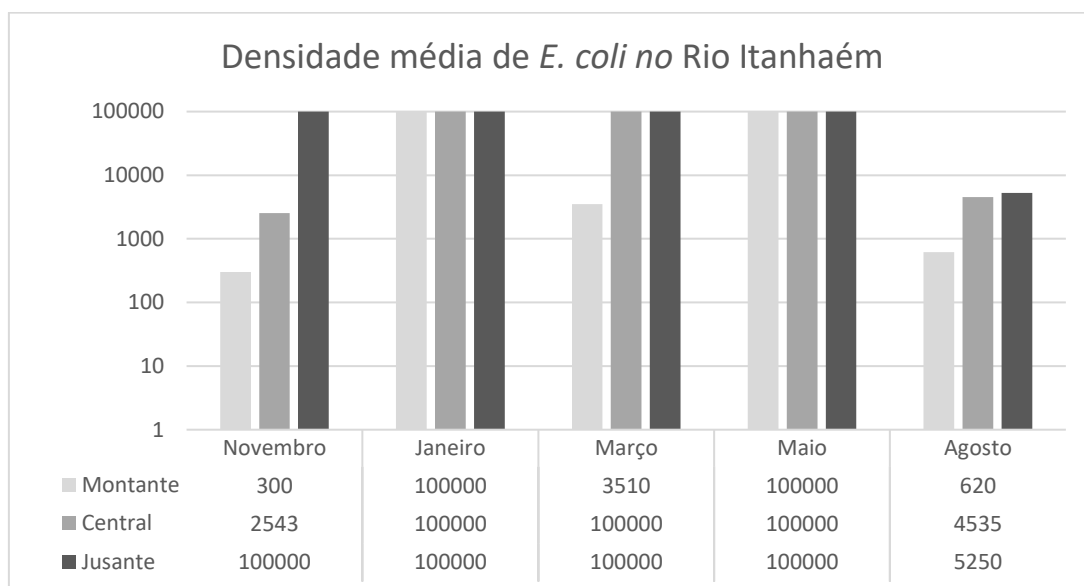


Figura 17: Gráfico logarítmico da média da densidade de *E. coli* encontrada no Rio Itanhaém. Valor máximo de 100.000 ilustrativo indicando impossibilidade de leitura devido à alta concentração de colônias na placa.

As densidades de *E. coli* no Rio Itanhaém (Figura 17) foram maiores quando houve maior precipitação, indicando o maior aporte da carga de efluentes bem como lixiviados. Por seu curso cortar a área urbana, com maior número de residências, recebe maior carga de efluentes que os outros rios, bem como lixiviados, devido a maior impermeabilização do solo por influência antrópica. Os resultados demonstram que há acúmulo de carga difusa ao longo de seu percurso.

Tabela 4: Resultado do antibiograma realizado no rio Itanhaém mostrando o diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.

		FOS	FOS I.T.U.	AMO	AMC	AMC I.T.U.	TET	SUT	CRX	CRX I.T.U.	CIP	AMI	IPM
Novembro 2021	M	26	26	11	18	18	17	0	18	18	23	19	25
	C	24	24	0	19	19	19	0	20	20	27	18	29
	J	27	27	15	21	21	0	0	19	19	19	21	27
Janeiro 2022	M	28	28	0	0	0	11	0	0	0	0	11	25
	C	28	28	15	18	18	0	0	18	18	19	16	22
	J	28	28	14	20	20	0	0	16	16	0	12	23

Março 2022	M	26	26	15	19	19	13	0	16	16	17	15	26
	C	28	28	13	18	18	13	0	0	0	16	14	25
	J	25	25	0	0	0	0	0	12	12	0	0	26
Maio 2022	M	22	22	9	19	19	18	0	22	22	24	18	26
	C	28	28	0	11	11	9	0	19	19	0	17	25
	J	26	26	17	23	23	17	0	18	18	27	19	24
Agosto 2022	M	22	22	19	18	18	9	17	20	20	23	19	24
	C	22	22	19	23	23	19	18	21	21	29	20	28
	J	27	27	15	21	21	20	22	20	20	32	20	28

Os resultados do antibiograma mostram que nos meses com maior densidade de *E. coli* presente na água houve uma maior resistência dessas cepas a diversos antibióticos (Tabela 4).

Rio Branco

Tabela 5: Dados físico-químicos aferidos *in locus* no Rio Branco. *medição ótica em laboratório

	PONTOS	T°C	pH	O.D. (mg/L)	O.D. (%)	SAL. (PSU)	COND. (ms./cm)	NTU
Novembro 2021	Montante	22,67	6,08	0,63	8,90	0,02	50	4~6*
	Central	22,73	6,20	1,42	18,30	0,02	46	4~6*
	Jusante	22,76	6,10	1,68	19,70	0,06	125	4~6*
Janeiro 2022	Montante	26,10	6,22	0,43	5,03	0,02	53	4~6*
	Central	25,18	6,21	1,27	15,50	0,02	43	4~6*
	Jusante	25,46	6,22	1,22	15,00	0,03	57	4~6*
Março 2022	Montante	23,75	5,87	4,06	46,80	0,02	48	4~6*
	Central	23,25	5,90	5,20	58,20	0,04	97	4~6*
	Jusante	23,00	5,94	5,76	45,60	0,02	49	4~6*
Maio 2022	Montante	19,78	6,54	2,85	30,08	0,04	82	3,4
	Central	19,67	6,30	4,35	47,20	0,08	179	2,6
	Jusante	19,71	6,30	4,57	50,20	0,50	1146	3,4
Agosto 2022	Montante	19,58	6,40	6,60	70,50	0,09	197	1,5
	Central	19,86	6,31	6,56	70,30	0,64	1287	2,5
	Jusante	20,01	6,37	6,07	67,20	1,67	3190	2,3

Os parâmetros físico-químicos encontrados no Rio Branco (Tabela 4), demonstram que o rio sofre influência externa principalmente pela pluviosidade. Seu pH, salinidade e condutividade se mantem estável bem como sua temperatura ao longo de seu curso que acompanha a temperatura

atmosférica. O OD indica que existe um alto consumo do mesmo por bactérias heterotróficas e que a pluviosidade favorece o aumento do oxigênio devido ao maior volume de água e correntes bem como a turbidez que foi menor no período chuvoso.

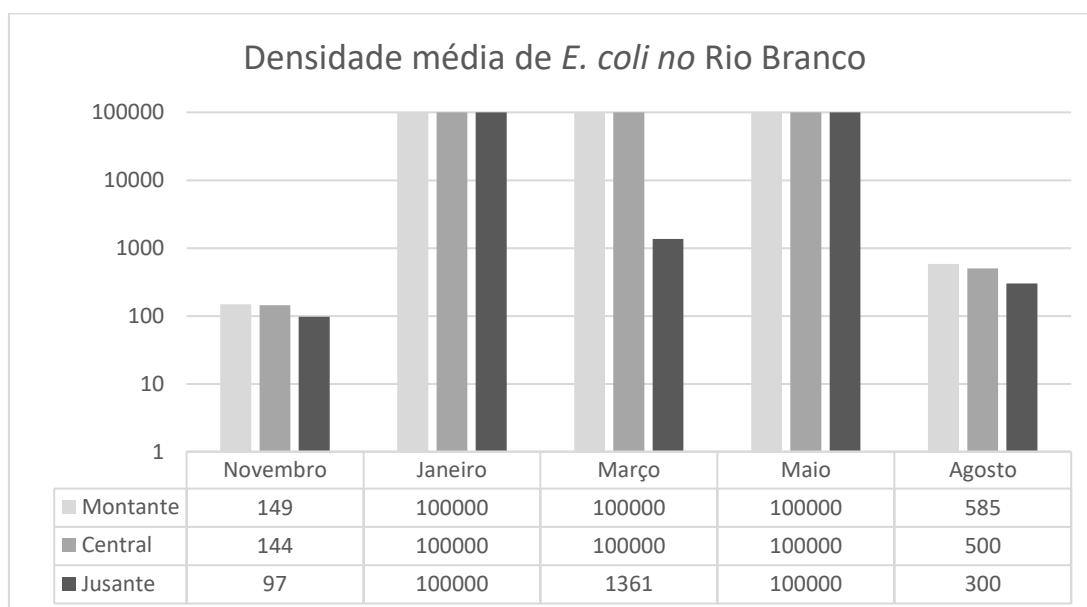


Figura 18: Gráfico logarítmico da média da densidade de *E. coli* encontrada no Rio Branco. Valor máximo de 100.000 ilustrativo indicando impossibilidade de leitura devido à alta concentração de colônias na placa.

As densidades de *E. coli* no Rio Branco (Figura 18) foram maiores quando houve maior precipitação, indicando o maior aporte da carga de efluentes bem como lixiviados. Houve uma menor densidade a jusante, provavelmente por possuir menos moradias que ao longo de seu curso bem como no ponto mais a montante analisado.

Tabela 6: Resultado do antibiograma realizado no rio Branco mostrando o diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.

		FOS	FOS I.T.U.	AMO	AMC	AMC I.T.U.	TET	SUT	CRX	CRX I.T.U.	CIP	AMI	IPM
Novembro 2021	M	25	25	20	22	22	16	0	18	18	21	20	20
	C	28	28	17	23	23	18	17	22	22	27	22	30
	J	23	23	7	13	13	9	7	19	19	9	16	26
Janeiro 2022	M	29	29	17	24	24	17	0	21	21	30	18	27
	C	27	27	15	20	20	13	0	16	16	13	14	24

	J	29	29	17	19	19	17	0	19	19	19	17	26
Março 2022	M	26	26	15	17	17	0	0	16	16	18	19	25
	C	26	26	16	18	18	15	0	17	17	20	15	27
	J	28	28	12	17	17	0	16	17	17	12	13	25
Maio 2022	M	29	29	13	21	21	19	0	19	19	28	18	28
	C	34	34	20	24	24	18	0	21	21	23	19	31
	J	26	26	17	18	18	14	0	18	18	13	15	26
Agosto 2022	M	24	24	19	22	22	20	23	21	21	31	22	32
	C	25	25	19	23	23	22	20	24	24	31	21	26
	J	25	25	20	23	23	22	18	23	23	26	20	27

Os resultados do antibiograma mostram que nos meses com maior densidade de *E. coli* presente na água houve uma maior resistência dessas cepas a diversos antibióticos (Tabela 6).

Rio Preto

Tabela 7: Dados físico-químicos aferidos *in locus* no Rio Preto. *medição ótica em laboratório

	PONTOS	T°C	pH	O.D. (mg/L)	O.D. (%)	SAL. (PSU)	COND. (ms./cm)	NTU
Novembro 2021	Montante	21,92	5,78	2,11	24,2	0,02	38	4~6*
	Central	24,02	5,84	1,92	22,4	0,27	552	4~6*
	Jusante	22,33	6,15	2,24	25,5	0,06	134	4~6*
Janeiro 2022	Montante	25,33	6,05	1,55	19,1	0,02	38	4~6*
	Central	29,32	6,10	2,27	30,1	0,30	635	4~6*
	Jusante	26,49	6,20	1,64	19,9	0,02	50	4~6*
Março 2022	Montante	23,15	4,90	4,92	57,0	0,01	31	4~6*
	Central	29,63	5,67	4,26	55,7	0,19	399	4~6*
	Jusante	23,30	4,95	4,89	56,6	0,02	47	4~6*
Maio 2022	Montante	19,59	6,20	5,08	56,5	0,03	57	6,4
	Central	19,95	6,20	5,19	62,8	1,36	2622	4,6
	Jusante	19,73	6,14	4,98	54,8	0,32	658	5,4
Agosto 2022	Montante	19,79	6,28	7,05	76,6	0,05	113	3,6
	Central	20,88	6,30	5,32	60,2	2,51	4686	1,3
	Jusante	20,00	6,28	6,76	74,5	0,80	1586	3,2

Os parâmetros físico-químicos encontrados no Rio Preto (Tabela 4), demonstram que o rio sofre influência externa principalmente pela pluviosidade. Seu pH, salinidade e condutividade se mantem estável bem como sua temperatura ao longo de seu curso que acompanha a temperatura

atmosférica. O OD indica que existe um alto consumo do mesmo por bactérias heterotróficas e que a pluviosidade favorece o aumento do oxigênio devido ao maior volume de água e correntes bem como a turbidez que foi menor no período chuvoso. Os parâmetros obtidos no ponto central mostram uma variação devido o local de amostragem ser um meandro abandonado, com ligação ao rio, porém com baixa profundidade e menor troca de massa de água com o trecho principal do rio.

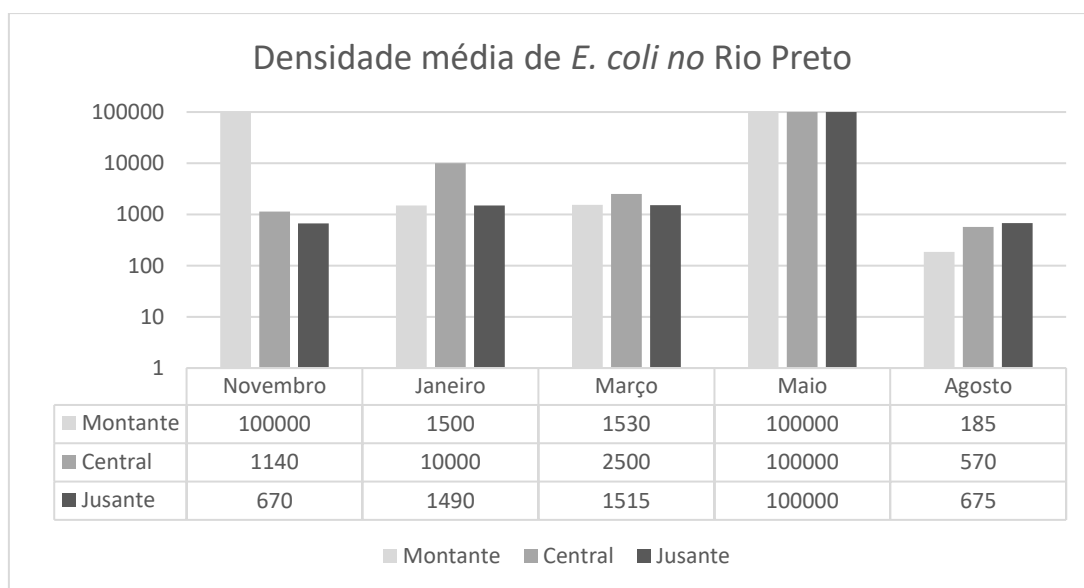


Figura 19: Gráfico logarítmico da média da densidade de *E. coli* encontrada no Rio Preto. Valor máximo de 100.000 ilustrativo indicando impossibilidade de leitura devido à alta concentração de colônias na placa.

As densidades de *E. coli* no Rio Preto (Figura 19) foram maiores quando houve maior precipitação, indicando o maior aporte da carga de efluentes bem como lixiviados. O ponto central, diferente dos outros rios, teve uma maior concentração de bactérias que a montante e jusante devido ao fato de ser um meandro, com um maior número de residências em seu entorno, baixa profundidade e águas mais calmas.

Tabela 8: Resultado do antibiograma realizado no rio Preto mostrando o diâmetro dos halos em mm encontrados para cada antibiótico utilizado na amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.

FOS	FOS I.T.U.	AMO	AMC	AMC I.T.U.	TET	SUT	CRX	CRX I.T.U.	CIP	AMI	IPM
-----	------------	-----	-----	------------	-----	-----	-----	------------	-----	-----	-----

Novembro 2021	M	27	27	13	19	19	14	0	16	16	21	16	22
	C	27	27	15	18	18	14	10	16	16	22	14	20
	J	28	28	13	22	22	17	0	18	18	27	19	24
Janeiro 2022	M	24	24	0	16	16	18	0	19	19	19	18	24
	C	26	26	0	11	11	15	0	0	0	21	16	27
	J	26	26	0	17	17	19	0	19	19	24	19	27
Março 2022	M	24	24	14	16	16	13	0	16	16	14	10	23
	C	27	27	15	18	18	0	0	19	19	0	11	26
	J	27	27	13	20	20	12	0	19	19	22	15	27
Maio 2022	M	36	36	17	18	18	14	0	18	18	22	14	28
	C	28	28	13	19	19	17	0	18	18	27	17	24
	J	24	24	22	25	25	19	0	25	25	26	21	29
Agosto 2022	M	23	23	20	22	22	19	18	24	24	28	22	28
	C	24	24	21	23	23	19	23	23	23	32	20	29
	J	25	25	21	24	24	20	22	23	23	31	19	29

Os resultados do antibiograma mostram que nos meses com maior densidade de *E. coli* presente na água houve uma maior resistência dessas cepas a diversos antibióticos (Tabela 8).

Porém para se ter uma visão melhor do que está acontecendo nos rios naquele exato momento, deve-se avaliar de forma conjunta, por cada período amostral, nos três rios como a seguir:

A temperatura da água manteve-se entre 19°C e 20°C durante os meses mais frios e entre 22° e 26° nos meses mais quentes, sendo mais constante a temperatura da água que a atmosférica, o que proporciona uma maior estabilidade para os microrganismos. A temperatura mais alta no ponto central do Rio Preto pode ser explicada pela baixa profundidade no local da coleta e por se tratar de um meandro abandonado, há menos corrente, o que pode manter a temperatura mais elevada que os outros pontos. Áreas arborizadas e vegetadas sombreiam as margens dos rios diminuindo a incidência da radiação solar, mantendo a temperatura da água mais baixa (Traficante, 2011).

O pH variou entre 4,9 (mínimo) e 7,58 (máximo), sendo bastante estável entre todos os pontos, durante todo o tempo amostrado e também mais similar em cada rio do que entre os pontos, indicando que sofrem os mesmos processos

neles. A média do pH encontrado se manteve dentro da faixa determinada, segundo a CONAMA 357, que é de pH 6,5 a 8,5 para águas salobras classe 1.

A variação do OD foi bem significativa em alguns pontos ao longo dos rios, variando de 0,43 mg/L no mínimo, que indica um grande consumo do oxigênio dissolvido na água, até 7,05 mg/L no máximo. Segundo a CONAMA 357, águas Classe 1, destinadas a uso recreacional o OD não deve ser inferior a 5 mg/L, inferindo um grande consumo de oxigênio dissolvido nestes locais pelos microrganismos ali presentes, sendo corroborada pela alta densidade bacteriana encontrada.

A salinidade variou principalmente no rio Itanhaém indo de água doce a montante do rio, com o mínimo de 0,05 à água salobra em sua foz com o máximo de 17,32 (segundo as Resoluções CONAMA 274 e 357) indicando o aporte de água salina do mar, já esperada por esse rio se tratar de um estuário. Já nos rios Branco e Preto a águas permaneceram na classificação doce em maior parte do período avaliado, variando de 0,01 de salinidade em março à 2,51 em agosto. Esse último resultado pode ser explicado por uma variação de maré meteorológica, que ocorreu dias antes, que somada a maré de sizígia formou um evento de ressaca do mar aumentando o aporte da água salina no sistema estuarino.

Densidades Microbiológicas

As densidades de bactérias encontradas ao analisar as amostras variaram bastante de acordo com o ponto em questão e sua proximidade com uma possível fonte de contaminação. Além disso, mostraram uma densidade maior em direção a jusante indicando um acúmulo da contaminação ao longo dos rios.

A alta densidade de *E. coli* se deve a diversos fatores, além do lançamento de efluentes, como o alto adensamento populacional em algumas áreas, que diferindo do encontrado por Borges (2002), Cunha (2010), Giatti (2004) e Lopez e Magalhães Jr (2010), onde a baixa quantidade de moradias e a distância entre elas obtiveram densidades menores que as encontradas neste trabalho.

O fluxo das águas do Rio Itanhaém sofre influência direta da maré, se enchendo com as águas salinas do ambiente marinho formando um estuário durante o período entre enchente e vazante da maré, que dura em torno de 6 horas, diferente dos rios Branco e Preto que possuem um fluxo unidirecional como visto em Almeida (2004), Borges (2002); Conte et. al. (2004); Cunha (2010) e Vasconcelos (2006).

Dias antes da última coleta houve um evento de maré meteorológica (Ressaca do mar) somado a maré de sizígia, que resultou em uma grande entrada de água do mar (salgada) estuário adentro, alcançando e sobrepondo as águas dos rios Branco e Preto por alguns quilômetros em direção a montante. Tal evento pode explicar a diferença obtida na densidade bem como uma drástica diminuição da resistência se comparado com as amostragens anteriores.

As densidades encontradas após o processamento das amostras foram, em quase toda sua totalidade, muito acima dos padrões estabelecidos comprometendo a balneabilidade, que caracteriza águas impróprias de acordo com a Resolução CONAMA 274.

O restante das amostras apresentou resultados acima da capacidade de avaliação da metodologia usada, sendo consideradas incontáveis por terem densidade maior que 300 nas placas mesmo com as frações de 10 ml e 25 ml, diferente do encontrado por Massoneto (2013).

Melo 2015, analisou a qualidade microbiológica de um pescado (*Eugerres brasiliensis*) comparando com a qualidade microbiológica da água do Rio Itanhaém, demonstrando que os peixes estariam impróprios para consumo de acordo com as regulamentações vigentes, bem como Oliveira (2017), que encontrou uma contaminação crônica com alta densidade de microrganismos resistentes a antibióticos em mexilhões (*Perna perna*), muito apreciados pela culinária local. O consumo de organismos contaminados podendo acarretar em problemas de saúde e impactando a população, o ambiente e o turismo que depende direta ou indiretamente da área em questão, levando a um prejuízo econômico e possível impacto negativo a receita municipal.

A qualidade dos rios sofre um impacto acumulativo devido a possíveis fontes difusas de contaminação microbiológica, bem como pelo desague dos seus afluentes que servem de drenagem aos bairros adjacentes, que acabam lixiviando contaminantes para os rios como demonstrado por Sato & Cunha (2013) e Camargo e Cancian (2016) que descrevem que mesmo tendo cerca de 80% do município de Itanhaém estar sob área de conservação e proteção, sofre de impactos antrópicos irreversíveis devido a ampliação da população e tais impactos são mais proeminentes na parte mais baixa da bacia, onde se localiza a área urbana. Como visto em Souza (2018), a densidade aumenta significativamente a partir do ponto de descarte do tratamento de esgoto e diminui lentamente nos pontos subsequentes em direção a foz.

Em nenhum dos pontos analisados, durante o período de amostragem, as águas puderam ser consideradas próprias para contato direto de acordo com os critérios de balneabilidade estabelecidos pela CONAMA.

Resistência da *E. coli* aos antibióticos testados

Houve resistência à maioria dos fármacos utilizados com exceção da Fosfomicina e do Imipenem, para os quais as bactérias foram sensíveis em todo o período amostrado. Para Tetraciclina e o Sulfazotrim as bactérias se mostraram resistentes em todo o período. Hu et. al encontraram resistência frequentes em *E. coli* para sulfonamidas, tetraciclinas e ampicilina em águas do Rio Wenyu na China.

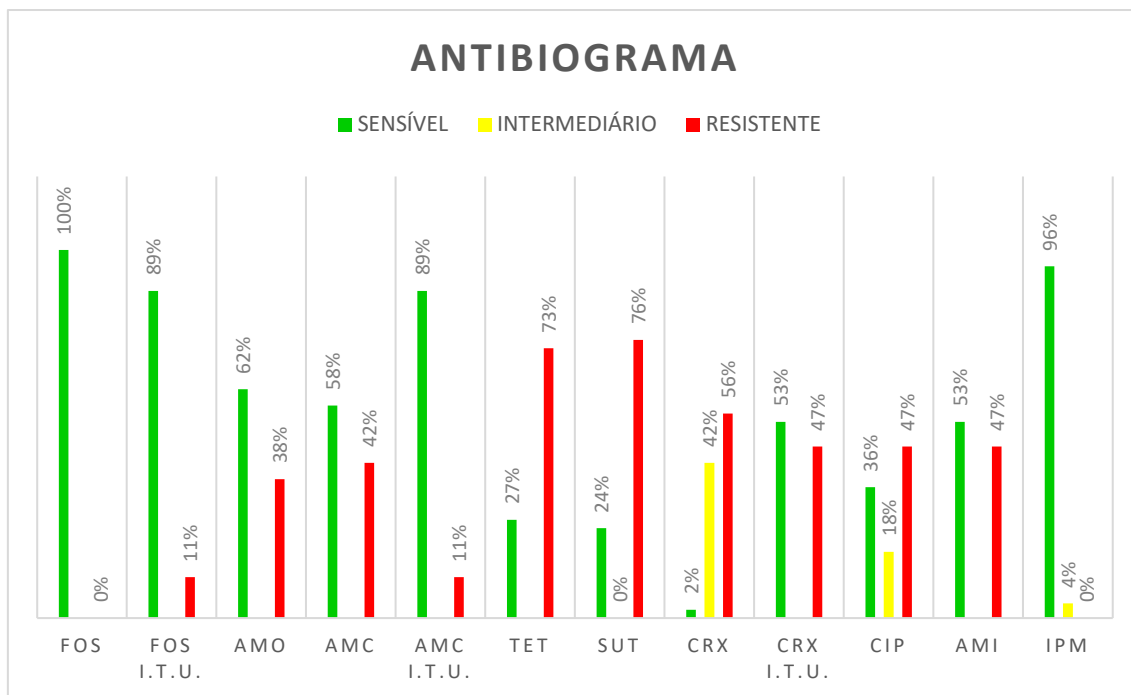


Figura 20: Percentual dos resultados da sensibilidade encontrada durante todo o período de amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Sensibilidade/Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.

De acordo com dados obtidos em Melo (2015), Oliveira (2017) e Souza (2018), as densidades mantêm uma tendência de aumento, assim como a resistência detectada, indicando aumento na quantidade de contaminantes despejados nos rios, possivelmente pelo aumento da população e do fluxo de turistas, sobrecarga do tratamento do esgoto e descarte irregular dos efluentes domésticos.

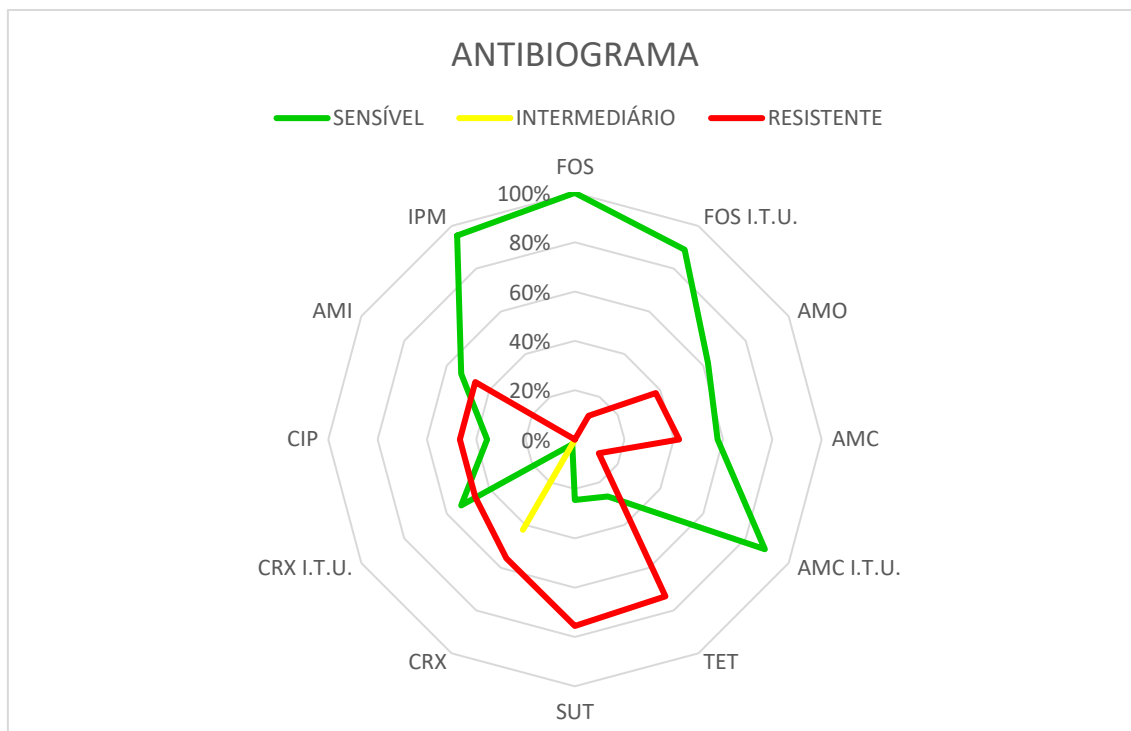


Figura 21: Gráfico e radar da média dos resultados da sensibilidade encontrada durante todo o período de amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Sensibilidade/Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.

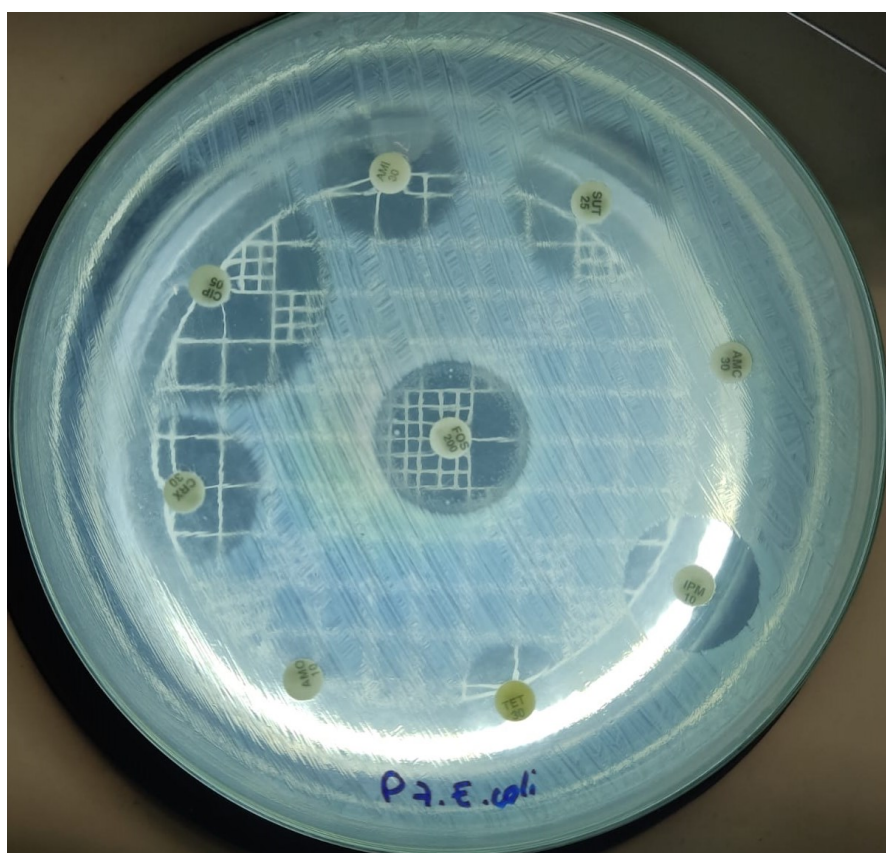


Figura 22: Placa de antibiograma mostrando os halos de inibição. Fonte Autor

Resistência *E. coli* / Coleta 1 - Novembro 2021

Durante a primeira coleta, em novembro de 2021, 52,77% das cepas de *E. coli* se mostraram sensíveis aos antibióticos testados, 7,4% tiveram sensibilidade intermediária e 39,81% foram resistentes. não houve precipitação nos dias que antecederam a coleta o que influi diretamente no volume de água dos rios e do lixiviado, somada a temperatura e a densidade encontrada, pode se explicar o baixo índice de oxigênio dissolvido na água.

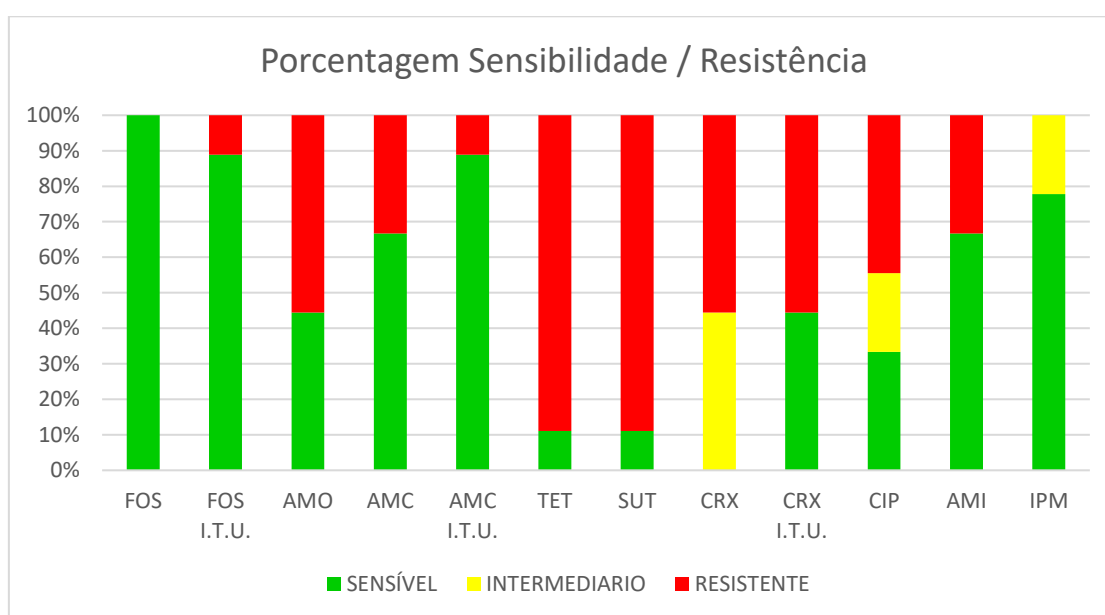


Figura 23: Percentual, em coluna empilhada 100%, do resultado da sensibilidade encontrada na amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Sensibilidade/Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.

Resistência *E. coli* / Coleta 2 - Janeiro 2022

Durante a segunda coleta, em janeiro de 2022, 48,14% das cepas de *E. coli* se mostraram sensíveis aos antibióticos testados, 4,62% tiveram sensibilidade intermediária e 42,22% foram resistentes. Houve precipitação de 1,4mm nos dias que antecederam a coleta, a temperatura mais elevada encontrada durante todo o período amostral e o baixo índice de oxigênio

dissolvido na água explica o aumento da densidade em relação ao período anterior.

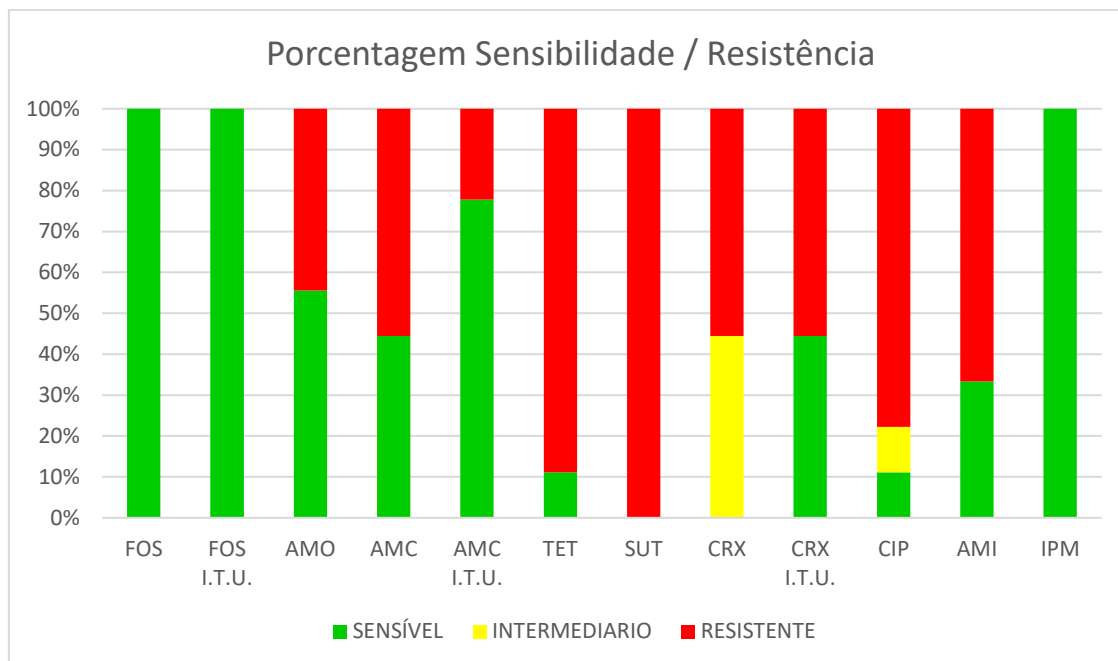


Figura 24: Percentual, em coluna empilhada 100%, do resultado da sensibilidade encontrada na amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Sensibilidade/Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.

Resistência *E. coli* / Coleta 3 - Março 2022

Durante a terceira coleta, em março de 2022, 42,59% dos antibióticos testados se mostraram sensíveis, 2,77% tiveram sensibilidade intermediária e 54,62% foram resistentes (período onde ocorreu a maior taxa de resistência entre os antibióticos testados). Houve alta precipitação (98,02mm) nos dias que antecederam a coleta, a temperatura estava por volta de 23°C, as correntes dos rios estavam mais fortes devido as chuvas, tais acontecimentos pode explicar o aumento da densidade encontrada devido o carreamento de microrganismos, nutrientes e contaminantes para os rios, e também explicar o aumento do índice de oxigênio dissolvido na água

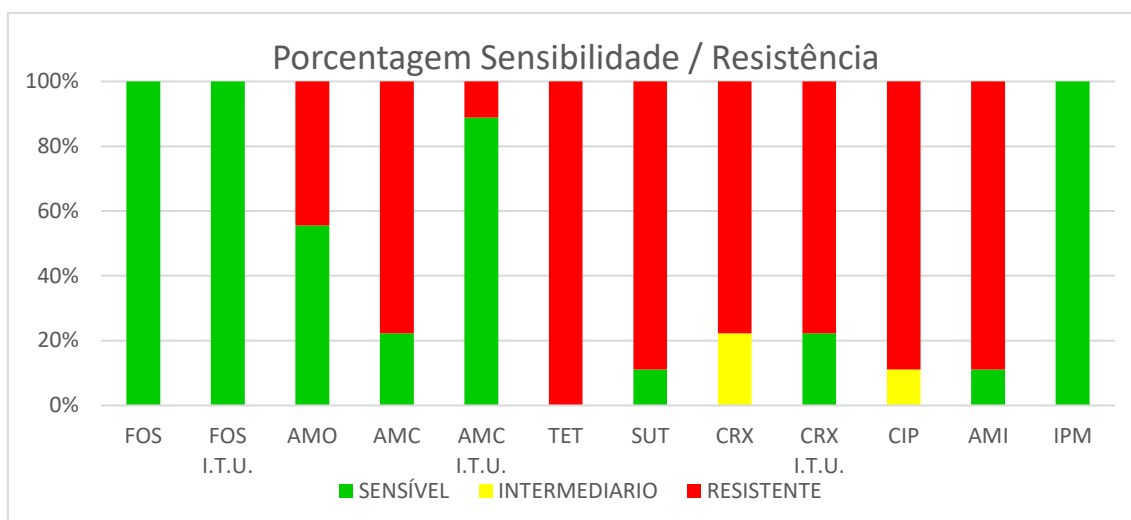


Figura 25: Percentual, em coluna empilhada 100%, do resultado da sensibilidade encontrada na amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Sensibilidade/Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.

Resistência *E. coli* / Coleta 4 - Maio 2022

Durante a quarta coleta, em maio de 2022, 57,40% das cepas de *E. coli* se mostraram sensíveis aos antibióticos testados, 6,48% tiveram sensibilidade intermediária e 36,11% foram resistentes. Houve intensa precipitação (114,59mm) nos dias que antecederam a coleta, sendo mais alta que a média histórica para o mês de maio, a temperatura estava mais baixa, cerca de 19°C, as correntes dos rios estavam mais fortes devido às chuvas, tais acontecimentos podem explicar o aumento da densidade encontrada devido ao carreamento de microrganismos, nutrientes e contaminantes para os rios, e também explicar o aumento do índice de oxigênio dissolvido na água.

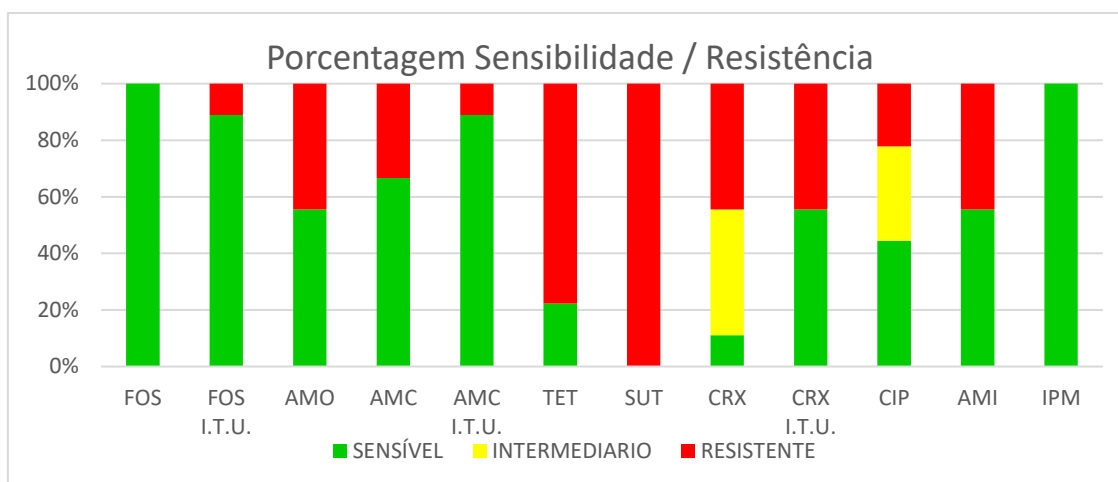


Figura 26: Percentual, em coluna empilhada 100%, do resultado da sensibilidade encontrada na amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Sensibilidade/Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.

Resistência *E. coli* / Coleta 5 - Agosto 2022

Durante a quinta coleta, em agosto de 2021, 86,11% das cepas de *E. coli* se mostraram sensíveis aos antibióticos testados, 5,55% tiveram sensibilidade intermediária e 8,33% foram resistentes. Houve precipitação de 23,66 nos dias que antecederam a coleta, a temperatura esteve por volta de 20°C. Nos dias que antecederam a coleta houve uma intensa maré atmosférica que somada a maré de sizígia aumentou o fluxo de intrusão da água salina no sistema estuarino alcançando os rios Preto e Branco, que são essencialmente rios de água doce, diferentes do rio Itanhaém, que é um rio estuarino, isso pode explicar tanto a baixa densidade encontrada em comparação aos meses anteriores quanto a diminuição da taxa de resistência.

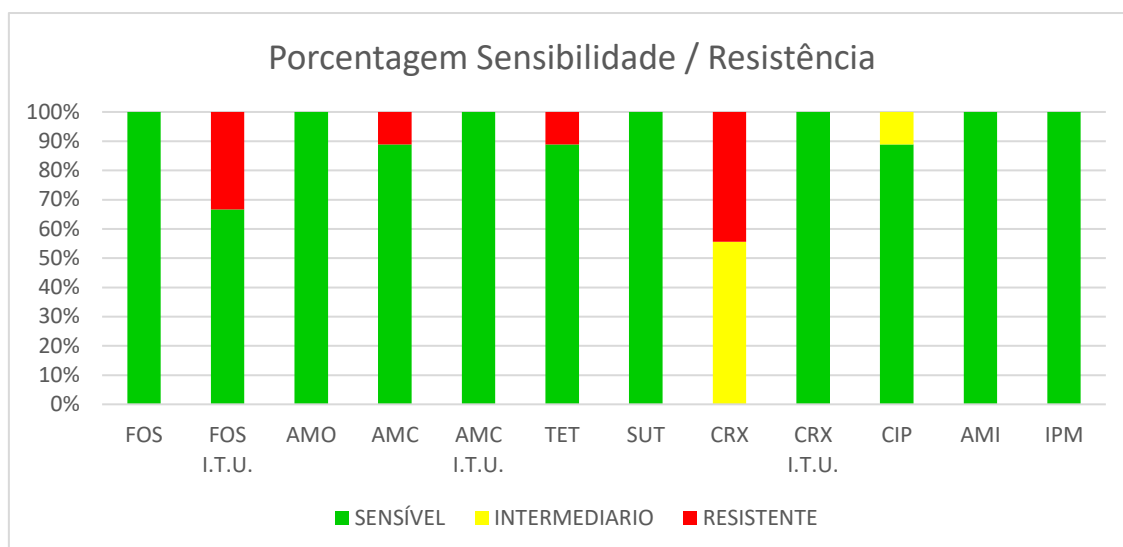


Figura 27: Percentual, em coluna empilhada 100%, do resultado da sensibilidade encontrada na amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Sensibilidade/Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.

A incidência de resistência nos antibióticos mais comumente utilizados pela população no tratamento de infecções humanas e veterinárias indica que de alguma forma os genes de resistência estão sendo distribuídos para o ambiente, seja por tratamento inadequado ou mesmo pelo despejo direto de efluentes nos rios. Massoneto (2020) verificou a densidade de organismos bioindicadores de contaminação fecal e resistência a antibióticos nos canais de drenagem do município de Santos evidenciando a possibilidade de despejo clandestino de efluentes incidirem diretamente na qualidade desses canais e consequentemente a balneabilidade das praias do município.

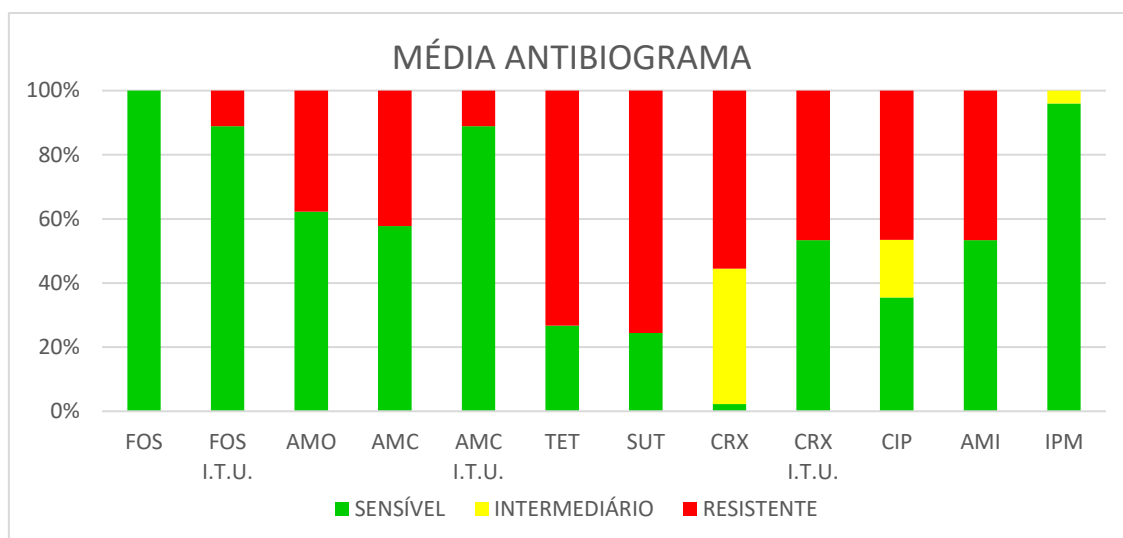


Figura 28: Percentual, em coluna empilhada 100%, da média dos resultados da sensibilidade encontrada durante todo o período de amostragem. Verde – Sensível, Amarelo – Sensibilidade/Resistência intermediária, Vermelho – Resistente.

Conclusão

Os resultados obtidos indicam a existência de pontos de contaminação microbiológica difusa ao longo dos rios do município de Itanhaém que se acumulam de acordo com a direção da corrente. Nenhum dos pontos analisados, durante o período de amostragem, as águas puderam ser consideradas próprias para contato direto de acordo com os critérios de balneabilidade estabelecidos pela CONAMA, mesmo essa possuindo uma legislação mais tolerante quanto ao nível de contaminação aquática que algumas legislações de outros países.

As maiores densidades de *E. coli* encontradas correspondem com os períodos onde foram obtidas mais quantidade de cepas resistentes aos antibióticos testados, sobretudo os mais difundidos para saúde humana e animal, principalmente na região do rio Itanhaém, que margeia a área mais populosa e sofre mais impactos que os outros rios.

Além disso, foi verificado uma sazonalidade na resistência da população de *E. coli* principalmente por interferência de fatores abióticos como a pluviosidade e a variação da maré, bem como pelo aumento da população durante a temporada.

A infecção por microrganismos multirresistentes é um enorme problema de saúde pública que engloba o ambiente, a biota e a sociedade que vive em seu entorno, depende ou visita à região, podendo disseminar tais microrganismos resistentes para outras áreas, agravando a situação e gerando novos focos de contaminação, epidemias, internações, gastos aos cofres públicos e desgaste de Sistema de Saúde.

Bibliografia

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.

AKHAVAN, Bobak J.; KHANNA, Niloufar R.; VIJHANI, Praveen. Amoxicillin. In: StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing, 2021.

ALMEIDA, R. A. A. et al. Qualidade Microbiológica do Córrego “Ribeirão dos Porcos” no Município de Espírito Santo do Pinhal - SP. *Revista Engenharia Ambiental*, v. 1, n. 1, p. 51–56, 2004.

Alrowais H, McElheny CL, Spychala CN, Sastry S, Guo Q, Butt AA, Doi Y. Fosfomycin Resistance in *Escherichia coli*, Pennsylvania, USA. *Emerg Infect Dis*. 2015 Nov;21(11):2045-7.

Amenu, D. DRINKING WATER QUALITY AND DETERMINANTS OF HOUSEHOLD POTABLE. *Global Journal of Microbiology and Molecular Sciences* Vol. 1, No. 1, January 2014, PP: 01- 06

APHA. American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22ª edição. APHA / AWWA / WEF; 2012.

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

BERG, Carlos Henrique; GUERCIO, Mary Jeruza; ULBRICHT, Vânia Ribas. Indicadores de balneabilidade: a situação brasileira e as recomendações da world health organization. *International Journal of Knowledge Engineering and Management (IJKEM)*, v. 2, n. 3, p. 83-101, 2013.

BILA. D.M., Dezzotti. M. Fármacos no Meio Ambiente. Universidade Federal do Rio de Janeiro. *Química Nova*, v. 26,p. 523-530, 2003.

BORGES, K. P.; BERTOLIN, Aparecido Osdimir. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA QUALIDADE DA ÁGUA DO CÓRREGO SÃO JOÃO,

PORTO NACIONAL-TO, BRASIL. Holos Environment, v. 2, n. 2, p. 174-184, 2002.

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

Brasil. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução n. 357, de março de 2005.

Brasil. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução n. 430, de maio de 2011.

BRASIL. Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento. Com mais de 273 mil internações por doenças de veiculação hídrica, falta de saneamento básico faz Brasil gastar R\$ 108 milhões com hospitalizações Brasília: SNIS, 2021

Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - BrCAST Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - BrCAST Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. 2022.

CAMARGO, A. F. M.; CANCIAN, L. F. Ecologia da bacia do rio Itanhaém: características limnológica e uso do solo. **Métodos e técnicas de pesquisa em bacias hidrográficas. Ilhéus, Editus**, 2016.

CETESB (São Paulo). Relatório de qualidade das águas litorâneas do Estado de São Paulo: balneabilidade das praias. 2017.

CETESB (São Paulo). Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo: balneabilidade das praias 2018

CETESB (São Paulo). Relatório de qualidade das águas litorâneas do Estado de São Paulo: balneabilidade das praias 2000-2010.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory. 2011.

CONTE, Vania Dariva et al. Qualidade microbiológica de águas tratadas e não tratadas na região nordeste do Rio Grande do Sul. Infarma, v. 16, n. 11, p. 83-4, 2004.

Cunha, G. F.; Martins, S. R.; Soares, S. R. A Relação entre a Balneabilidade das Praias e a Ocorrência de Doenças Diarreicas: Estudo de Caso. 2º Congresso

Internacional de Tecnologias para o meio Ambiente. Bento Gonsalves – RS, Abril de 2010.

DA COSTA, A. L. P.; JUNIOR, A. C. S. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. *Estação Científica (UNIFAP)*, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.

DA CUNHA, Andréia Heringer et al. Análise microbiológica da água do rio Itanhém em Teixeira de Freitas-BA. *Revista Biociências*, v. 16, n. 2, 2010.

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

Clissold, S.P., Todd, P.A. & Campoli-Richards, D.M. Imipenem/Cilastatin. *Drugs* **33**, 183–241 (1987).

Evans J, Hannoodee M, Wittler M. Amoxicillin Clavulanate. [Updated 2021 Dec 15]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan

GIATTI, L. L. et al. Condições de saneamento básico em Iporanga, Estado de São Paulo. *Revista de Saúde Pública*, v. 38, n. 4, p. 571–577, 2004.

Hu, J. et al. Phenotyping and Genotyping of Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* Isolated from a Natural River Basin. v. 42, n. 9, p. 3415–3420, 2008.

LOPES, F. W. A.; MAGALHÃES JR, A. P. Avaliação Da Qualidade Das Águas Para Recreação De Contato Primário Na Bacia Do Alto Rio Das Velhas, Mg. *Hygeia: Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde*, v. 6, n. 11, 2010.

MASTERS, Philip A. et al. Trimethoprim-sulfamethoxazole revisited. **Archives of internal medicine**, v. 163, n. 4, p. 402-410, 2003.

Massoneto, M.; Monitoramento anual da densidade de bactérias do gênero *Enterococcus* encontradas na praia da Enseada, no município de Ubatuba do Estado de São Paulo. 38p Dissertação - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências Campus do Litoral Paulista. 2013.

Massoneto, M.; Mirella. Monitoramento da resistência de bioindicadores fecais nos canais de Santos-SP. Dissertação - Universidade Estadual Paulista, Instituto

de Biociências Campus Rio Claro 2020.

MELO, Renata Rodrigues de. Análise da qualidade microbiológica do peixe (*Eugerres brasiliensis*, Curvier 1830) e das águas do Estuário do Rio Itanhaém, SP, Brasil. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro. 2015.

Mello et al. Dinâmica da expansão urbana na zona costeira brasileira: O caso do município de São Vicente, São Paulo, Brasil. *Revista de Gestão Costeira Integrada / Journal of Integrated Coastal Zone Management* 13(4):539-551 (2013)

MENDES, R. E. et al. Metallo- β -lactamases. *J Bras Patol Med Lab* • v. 42 • n. 2 • p. 103-113 • abril 2006.

Monney, I. et al. Evaluating Access to Potable Water and Basic Sanitation in Ghana' s Largest Urban Slum Community : Old Fadama , Accra. *EDUCATION*, S. v. 3, n. 11, p. 72–80, 2013.

NOGUEIRA, H. S. Xavier, A. R. E., Xavier, M. A., Carvalho, A. A., Monção, G. A., Barreto, N. A. P. Antibacterianos: principais classes, mecanismos de ação e resistência. *Revista unimontes científica*, v. 18, n. 2, p. 96-108, 2016.

O'CALLAGHAN, Cynthia H. et al. Cefuroxime, a new cephalosporin antibiotic: activity in vitro. ***Antimicrobial Agents and Chemotherapy***, v. 9, n. 3, p. 511-519, 1976.

Oliveira, R. S. Densidade e diversidade de fenótipos de resistência a antimicrobianos de *Enterococcus* sp, *Escherichia coli* e *Aeromonas* sp isoladas de água, sedimento e mexilhão coletados em Santos e Itanhaém, São Paulo, Brasil. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Campus do Litoral Paulista - Instituto de Biociências.- São Vicente, 2017.

Peleg, A. Y., & Hooper, D. C. Hospital-Acquired Infections Due to Gram-Negative Bacteria. *New England Journal of Medicine*, 362(19), 1804–1813. (2010).

POLIS, INSTITUTO. Resumo Executivo de Itanhaém, Litoral Sustentável. São Paulo, SP. 2012

RAM, S.; VAJPAYEE, P. Prevalence of Multi-Antimicrobial-Agent Resistant , Shiga Toxin and Enterotoxin Producing *Escherichia coli* in Surface Waters of River Ganga. p. 7383–7388, 2007.

RAM, S.; VAJPAYEE, P.; SHANKER, R. Contamination of Potable Water Distribution Systems by Multiantimicrobial-Resistant Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. v. 448, n. 4, p. 448–452, 2008.

RODRIGUES. V. F. V., RIVERA. I. N .G., LIM. K. Y., JIANG. S. C. Detection and risk assessment of diarrheagenic *E. coli* in recreational beaches of Brazil. Marine Pollution Bulletin, v. 109, p. 163-170, 2016.

SAMPAIO, A. F. P. Avaliação da correlação entre parâmetros de qualidade da água e socioeconômicos no complexo estuarino de Santos - São Vicente, através de modelagem numérica ambiental. Dissertação, p. 171, 2010.

SATO, S. E.; CUNHA, C. M. L. Carta de unidades geoambientais do município de Itanhaém, São Paulo, Brasil. Revista de Gestão Costeira Integrada-Journal of Integrated Coastal Zone Management, v. 13, n. 3, p. 329-342, 2013.

Shutter MC, Akhondi H. Tetracycline. [Updated 2022 Jan 19]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-.

Sizar O, Rahman S, Sundareshan V. Amikacin. [Updated 2021 Nov 29]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-.

STRADIOTTO, G. C. Densidade e resistência a antimicrobianos de *Enterococcus* sp e *Escherichia coli* isoladas de águas , areias e algas do gênero *Sargassum* de praias recreacionais do Litoral Norte do Estado de São Paulo. 96p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro. 2013

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.

SOUZA, Tadeu Dantas de. Detecção de *Staphylococcus* spp multirresistentes em água e sedimentos da bacia hidrográfica do rio Itanhaém. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências Campus do Litoral Paulista. 2018.

Thai T, Salisbury BH, Zito PM. Ciprofloxacin. [Updated 2022 Apr 7]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022

Traficante, D. P. (2011). Estudos limnológicos de balneabilidade no Parque Natural Municipal Cachoeira da Marta (Botucatu, SP, Brasil): relação com possíveis fontes poluidoras.

VASCONCELLOS, F. C. S.; IGANCI, J. R. V; RIBEIRO, G. A. Qualidade Microbiológica Da Água Do Rio São Lourenço , São Lourenço Do Sul , Rio Grande Do Sul. Arq. Inst. Bio, v. 73, n. 2, p. 177–181, 2006.

WADE. T. J., CALDERON. R. L., SAMS. E., BEACH. M., BRENNER. K.P., WILLIAMS .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.

WHO. Guidelines on sanitation and health. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

SITES

CENTRO DE PREVISÃO DE TEMPO E ESTUDOS CLIMÁTICOS
<https://www.cptec.inpe.br/> acesso: 2021/2022

Centro Nacional de Monitoração e Alerta de Desastres Naturais – CEMADEN
<https://www.gov.br/ceaden/pt-br> acesso: 2021/2022

Governo de São Paulo: <https://www.saopaulo.sp.gov.br/conhecasp/praias-e-estancias/praias/>

IBGE: <https://www.ibge.gov.br/geociencias>. Acesso: 01/05/2020.

Prefeitura de Itanhaém: <http://www2.itanhaem.sp.gov.br/> Acesso: 20/05/20.

WHO,2019: <https://news.un.org/pt/story/2019/04/1669901> Acesso: 01/11/2022.