



**CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
NÚCLEO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA CLÍNICA**

MARIA LUCILENE QUEIROZ DA SILVA

**Perfil de sensibilidade de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* isoladas
de ambientes aquáticos aos antimicrobianos imipenem, meropenem e
ceftriaxona**

**JUAZEIRO DO NORTE-CE
2022**

MARIA LUCILENE QUEIROZ DA SILVA

Perfil de sensibilidade de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* isoladas de ambientes aquáticos ao antimicrobianos imipenem, meropenem e ceftriaxona

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação da Pós-Graduação em Microbiologia Clínica do Centro Universitário Leão Sampaio – UNILEÃO como requisito para obtenção do título de especialista em Microbiologia Clínica.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Rodrigo de Lemos Caldas

**JUAZEIRO DO NORTE-CE
2022**

Perfil de sensibilidade de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* isoladas de ambientes aquáticos aos antimicrobianos imipenem, meropenem e ceftriaxona

Maria Lucilene Queiroz da Silva¹

Francisco Rodrigo de Lemos Caldas²

Resumo

A investigação da sensibilidade bacteriana a microcontaminantes ambientais é de suma importância, especialmente devido ao reconhecimento dos impactos que esses podem causar. Assim, o presente trabalho objetivou isolar cepas de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* de diferentes ambientes aquáticos da Bacia do Salgado - CE e avaliar a sua sensibilidade a antimicrobianos. As cepas bacterianas foram isoladas e identificadas, a partir das positivities de CT e CTT pela técnica de tubos múltiplos e sucessivos repiques em EMB. E a sensibilidade foi avaliada pelo método de microdiluição em caldo, com as concentrações variando entre 0,25 – 128 µg/mL para os antimicrobianos imipenem, meropenem e ceftriaxona. Isolou-se 12 cepas bacterianas, seis de cada espécie. Observou-se, que todas as cepas de *E. coli* foram sensíveis a todos os antimicrobianos. As cepas de *K. pneumoniae* demonstraram sensibilidade ao imipenem e meropenem, já para a ceftriaxona, as estirpes provenientes da água de abastecimento mostraram resistência, enquanto que as demais cepas apresentaram-se sensíveis. Assim, constatou-se que as estirpes bacterianas demonstraram ser, em sua grande maioria, sensíveis a ação dos antimicrobianos utilizados neste estudo.

Palavras-chave: Bactérias; Água; Efluente; Antimicrobianos.

Abstract

An investigation of bacterial sensitivity to environmental microcontaminants is of paramount importance, especially given the recognition of the impacts these can cause. Thus, the present work aimed to isolate *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains from different aquatic environments in the Salgado Basin - CE and evaluate their sensitivity to antimicrobials. The bacterial strains were identified and identified, from the positivities of CT and CTT, through multiple and successive tubes repeated in EMB. And the sensitivity was evaluated by the broth microdilution method, with as recommended between 0.25 - 128 µg / mL for the antimicrobials imipenem, meropenem and ceftriaxone. Twelve bacterial strains were isolated, six of each species. Note that all *E. coli* strains were sensitive to all antimicrobials. The strains of *K.*

pneumoniae demonstrated sensitivity to imipenem and meropenem, as well as to ceftriaxone, as strains originating from the attenuating water supply, while the other strains were separated and differentiated. Thus, it was found that bacterial strains proved to be, for the most part, related to the action of the antimicrobials used in this study.

Keywords: Bacteria; Water; Effluent; Antimicrobials.

1. Introdução

A água é um bem limitado, essencial para existência da vida na terra e para o desenvolvimento das sociedades. Dos 3% de água doce do planeta, somente um quarto é proveniente de rios, lagos e fontes subterrâneas, sendo fundamentais para a evolução das cidades e para a qualidade de vida. No entanto, a poluição dos recursos hídricos se constitui como um dos problemas mais sérios da atualidade, já que a água é um dos importantes veículos de disseminação de enfermidades de natureza infecciosa, o que torna primordial a avaliação de sua qualidade microbiológica (BARROS et al., 2014; HAHN et al., 2015; DIAS, 2016; WAGNER, 2018).

Entre os micro-organismos de veiculação hídrica, destaca-se a bactéria *Escherichia coli*, espécie gram-negativa da família *Enterobacteriaceae*, anaeróbia facultativa e que faz parte da microbiota intestinal de animais de sangue quente. Pode ainda, apresentar-se de diversas formas na natureza, incluindo cepas comensais, patogênicas de animais e humanos ou ambientais, sendo sua presença no ambiente aquático relacionada à contaminação microbiana de origem fecal. Algumas estirpes dessa bactéria podem causar doenças, pois abrigam genes de virulência, como as cepas das linhagens Difusamente Aderentes (DAEC), Enteroagregativas (EAEC), Enteroinvasivas (EIEC), Enteropatogênicas (EPEC), Enterotoxigênicas (ETEC), Produtoras de Toxina Shiga (STEC) e Enterohemorrágicas (EHEC) (BARROS et al., 2014; BARROS, 2017; WAGNER, 2018).

Outra bactéria gram-negativa pertencente à família *Enterobacteriaceae* e que pode ser propagada através da água é a *Klebsiella pneumoniae*, sendo esta, a espécie bacteriana de maior notoriedade dentro do gênero *Klebsiella*, e assim como as demais espécies desse gênero, encontra-se de maneira ubíqua na natureza, distribuída em corpos hídricos, esgoto, solo e vegetação. Também pode ser encontrada colonizando a pele, a nasofaringe e, principalmente,

o trato gastrointestinal de humanos e outros animais. Ademais, por ser um micro-organismo saprófito da microbiota humana torna-se um típico patógeno oportunista, que afeta principalmente pessoas com sistema imunológico enfraquecido e tendem a causar infecções nosocomiais (AIRES, 2017).

Diante disso, é importante a investigação do perfil de sensibilidade bacteriana a contaminantes presentes em concentrações traço no meio ambiente, tais como antimicrobianos, especialmente devido ao reconhecimento dos seus efeitos, como: toxicidade aquática, bioacumulação e biomagnificação, genotoxicidade, perturbação endócrina em animais, seleção de bactérias patogênicas resistentes, entre outros (AQUINO et al., 2013).

A utilização excessiva ou inadequada de antibióticos em humanos e animais tem sido uma preocupação emergente no contexto da saúde pública, pois acelerou o aparecimento e propagação de bactérias resistentes a essas drogas, visto que, o uso indiscriminado de antibióticos aumenta a pressão seletiva e, também, a oportunidade das bactérias serem expostas aos mesmos, facilitando, dessa forma, a aquisição de mecanismos de resistência (BARROS et al., 2014; PORTUGAL, 2015).

A maioria dos antibióticos é pouco metabolizada pelos seres humanos e animais após ingestão, onde 25% a 75% são excretados na forma inalterada após o seu consumo. Como as estações de tratamento de esgotos, geralmente não são equipadas para lidar com resíduos de antibióticos, esses são liberados no ambiente aquático e continuam a exercer uma pressão seletiva nos micro-organismos aí presentes, potencializando a resistência bacteriana, bem como toxicidade em determinados organismos (VERLICCHI et al., 2012; PORTUGAL, 2015; BALAKRISHNA et al., 2017). Geralmente, essa resistência está associada à plasmídeos (HAHN et al., 2015).

Tendo em vista que determinantes genéticos têm sido observados em organismos de ambientes naturais expostos a esses poluentes, aumenta-se a preocupação sobre os possíveis riscos que podem acarretar para a saúde pública e ecológica. Assim, o presente trabalho objetivou isolar cepas de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* de diferentes ambientes aquáticos da Bacia do Salgado - CE e avaliar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos imipenem, meropenem e ceftriaxona.

2. Metodologia

A metodologia empregada no presente estudo pode ser caracterizada como uma pesquisa laboratorial e de abordagem quantitativa (PEREIRA et al., 2018).

2.1 Isolamento das cepas bacterianas

Para realização do estudo foram coletadas três amostras, em dias e pontos diferentes, de água de abastecimento, proveniente de fonte subterrânea, em uma comunidade rural no município de Missão Velha – CE, além de uma amostra em cada um dos seguintes ambientes aquáticos do município de Juazeiro do Norte – CE (Figura 1B): Rio Salgado, Lagoa do Parque Natural Municipal das Timbaúbas e Efluente bruto do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) – *Campus* Juazeiro do Norte. Perfazendo, dessa forma, um total de seis amostras analisadas.

As coletas foram realizadas em outubro de 2019 seguindo as orientações estabelecidas pelo Guia nacional de coletas e preservação de amostras (Brandão et al., 2011) e encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMAM) do IFCE – *Campus* Juazeiro do Norte, para realização das análises necessárias ao isolamento e identificação das cepas bacterianas.

Para isolamento das cepas de *E. coli* e *K. pneumoniae* nas amostras de água de abastecimento, seguiu-se a determinação de Coliformes Totais (CT) pelo método dos Tubos múltiplos, com teste presuntivo em Caldo Lactose seguido de teste confirmativo em Caldo Verde Bile Brilhante 2%. Os tubos que apresentaram crescimento de CT no Caldo Verde foram repassados para Placas de Petri com ágar *Eosin Methylene Blue* (ágar EMB) para isolamento e identificação das referidas cepas bacterianas, onde a *E. coli* apresentou um reflexo verde metalizado e a *K. pneumoniae* produziu colônias rosadas com centro negro, de aparência brilhante, com consistência mucoide devido à produção de cápsula proeminente formada de polissacarídeos (APHA et al., 2012).

O isolamento e identificação das cepas bacterianas coletadas do Rio Salgado, Lagoa do Parque Natural Municipal das Timbaúbas e efluente bruto do IFCE - *Campus* Juazeiro do Norte foi realizado através da determinação de Coliformes Termotolerantes (CTT) pelo método dos Tubos múltiplos com teste confirmativo em Caldo A1 Medium. Os tubos que apresentaram crescimento de CTT foram repassados para Placas de Petri com Ágar EMB para isolamento e identificação da *E. coli* e *K. pneumoniae* (APHA et al., 2012).

2.2 Antimicrobianos

Os antimicrobianos usados foram imipenem (ABL Antibióticos do Brasil, São Paulo, Brasil), meropenem (Novafarma, Goiás, Brasil) e ceftriaxona (Momenta, São Paulo, Brasil), por serem antibióticos com grande utilidade no tratamento de infecções bacterianas, pois possuem um amplo espectro de atividade contra muitos organismos aeróbios e anaeróbios, gram-positivos e gram-negativos (KABBARA et al., 2015; ANUHYA et al., 2017; DURHAM et al., 2017).

Todas as drogas antimicrobianas foram testadas, frente à forma bacteriana planctônica, nas concentrações de 0,25 – 128 µg/mL. Tais valores foram escolhidos por abranger concentrações extremas, dentre elas os valores delineados pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI* (CLSI, 2012).

2.2.1 Diluição dos antimicrobianos

Os diluentes utilizados foram os determinados pela norma M100-S22 (CLSI, 2012). Assim, uma solução de 512 µg/mL foi preparada com água destilada estéril como diluente para todas as drogas utilizadas nesse estudo, sendo que essas diluições foram realizadas separadamente, de modo que cada uma apresentava-se quatro vezes mais concentrada em relação ao valor desejado para o primeiro poço (128 µg/mL), visto que a junção da solução antimicrobiana com o Caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) a 10% resulta no decaimento de 50% da concentração inicial da droga, e a adição do inóculo bacteriano implica no declínio de 50% dessa concentração anterior (ver item 2.5).

2.3 Preparo do inóculo bacteriano para o teste de sensibilidade

Após o isolamento e identificação, as estirpes bacterianas foram cultivadas em ágar *Brain Heart Infusion* (BHI) por 18-24 horas a 35 °C. Em seguida, fragmentos das colônias foram suspensos em solução salina estéril, a fim de atingir o padrão 0,5 da escala McFarland, equivalente a uma concentração de aproximadamente 1×10^8 unidades formadoras de colônia por mL (UFC/mL). Tal suspensão foi diluída na proporção de 1:10 em caldo BHI a 10%, resultando em uma solução de 1×10^7 UFC/mL. Ao acrescentar 100 µL desse inóculo à placa

de microdiluição (ver item 2.5), obtêm-se a concentração final de 5×10^5 UFC/mL (NCCLS, 2003).

2.4 Testes de sensibilidade

Os testes de sensibilidade foram realizados seguindo a técnica de Microdiluição em caldo delineada pela norma M7-A6, com modificações, fornecida pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI/NCCLS* (NCCLS, 2003), sendo utilizado o Caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) a 10%. As placas de microdiluição tiveram inicialmente seus 96 poços preenchidos com 100 μ L do caldo BHI a 10%. Feito isso, as placas destinadas aos testes de sensibilidade com os antimicrobianos receberam 100 μ L da droga nos três primeiros poços relativos à primeira coluna (triplicata). Foram feitas diluições sucessivas a partir desta concentração inicial, resultando no decaimento de 50% da concentração em relação ao poço anterior. Em seguida, acrescentou-se 100 μ L do inóculo bacteriano à placa de microdiluição, que atingiu a concentração final de 5×10^5 UFC/mL.

Utilizou-se das duas últimas colunas da placa de microdiluição como controle positivo (100 μ L de BHI a 10 % acrescido de 100 μ L do inóculo bacteriano) e negativo (100 μ L de BHI a 10% adicionado de 100 μ L da substância teste) de crescimento bacteriano. Para controle de qualidade do teste de sensibilidade preconizado pela norma M7-A6 (NCCLS, 2003), empregou-se a cepa da *American Type Culture Collection*, *Escherichia coli* ATCC 25922.

2.5 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Após 48 horas de incubação a 37 °C adicionou-se em cada poço, 25 μ L de resazurina sódica (Sigma-Aldrich, Sternheim, Alemanha) preparada em água destilada estéril na concentração de 0,01%. Decorrido um período de uma hora a temperatura ambiente, por meio da interpretação visual do ensaio colorimétrico foi determinada a inibição bacteriana, onde a cor rosa indica crescimento microbiano e a cor azul inibição do crescimento (Caldas, 2018). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada como a menor concentração do composto capaz de inibir 100% da atividade bacteriana.

Com intuito de legitimar os resultados, foi realizada a leitura de CIM da *Escherichia coli* ATCC 25922, onde todos os valores apresentados atenderam aos limites recomendados pelo CLSI, assegurando assim a veracidade dos resultados encontrados.

Foi utilizada a norma interpretativa do Teste de CIM para *Enterobacteriaceae* fornecida pela M100-S22 (CLSI, 2012) com intuito de verificar o grau de sensibilidade bacteriana frente aos antimicrobianos (Tabela 1).

Tabela 1. Interpretação do Teste de CIM para *Enterobacteriaceae*.

Agente Antimicrobiano	Norma Interpretativa – CIM ($\mu\text{g/mL}$)		
	Sensível	Intermediária	Resistente
Imipenem	≤ 1	2	≥ 4
Meropenem	≤ 1	2	≥ 4
Ceftriaxona	≤ 1	2	≥ 4

Fonte: Adaptado da norma M100-S22 (CLSI, 2012).

3. Resultados e Discussão

3.1 Isolamento das cepas bacterianas

Foram isoladas e identificadas 12 cepas bacterianas, sendo seis de *Escherichia coli* e seis de *Klebsiella pneumoniae*, uma estirpe de cada espécie em cada ponto amostral (Tabela 2).

Tabela 2. Isolados bacterianos.

Cepa	Origem	Local	Código de identificação
<i>E. coli</i>	RS	Juazeiro do Norte – CE	Ec RS 01
<i>E. coli</i>	PT	Juazeiro do Norte – CE	Ec PT 01
<i>E. coli</i>	IF	Juazeiro do Norte – CE	Ec IF 01
<i>E. coli</i>	AGA	Missão Velha – CE	Ec EX 01
<i>E. coli</i>	AGA	Missão Velha – CE	Ec EX 03
<i>E. coli</i>	AGA	Missão Velha – CE	Ec EX 04
<i>K. pneumoniae</i>	RS	Juazeiro do Norte – CE	Kp RS 01
<i>K. pneumoniae</i>	PT	Juazeiro do Norte – CE	Kp PT 01
<i>K. pneumoniae</i>	IF	Juazeiro do Norte – CE	Kp IF 01
<i>K. pneumoniae</i>	AGA	Missão Velha – CE	Kp EX 01
<i>K. pneumoniae</i>	AGA	Missão Velha – CE	Kp EX 03
<i>K. pneumoniae</i>	AGA	Missão Velha – CE	Kp EX 04

*RS (Rio Salgado); PT (Lagoa do Parque Natural Municipal das Timbaúbas); IF (Efluente bruto do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – *Campus* Juazeiro do Norte); AGA (Água de abastecimento).

Fonte: Autores, 2020.

Por ser uma bactéria que habita o aparelho intestinal de animais de sangue quente, *E. coli* tem sido utilizada como indicador universal de contaminação fecal em água. Assim, observou-se que a água de abastecimento em todas as coletas realizadas está contaminada, devido um possível tratamento ineficaz. Além disso, está fora dos padrões de potabilidade estabelecidos pelo Anexo XX da Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017 (Brasil, 2017), onde se exige a ausência dessa bactéria na água destinada ao consumo humano.

A presença de *E. coli* nas amostras coletadas do Rio Salgado e Lagoa do Parque Natural Municipal das Timbaúbas pode ser justificada, principalmente, pelo lançamento de efluente, contendo material fecal nesses corpos hídricos, fato esse que também justifica a existência de *E. coli* na amostra de efluente proveniente do IFCE – Campus Juazeiro do Norte. Ainda, pode ser decorrente do carreamento de dejetos animais, e até mesmo humanos, pelas águas das chuvas para esses ambientes.

A identificação de *K. pneumoniae* em todas as amostras analisadas pode ser explicada pela variedade de ambientes que essa bactéria habita, já que segundo Diniz e Santos (2019), ela pode ser encontrada na água, solo, plantas e esgoto.

3.2 Sensibilidade bacteriana

Submetendo as cepas isoladas a testes de sensibilidade com antimicrobianos foram obtidas as concentrações inibitórias mínimas presentes na tabela 3 a seguir:

Tabela 3. Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g/mL}$) de antimicrobianos frente às cepas de *E. coli* e *K. pneumoniae*.

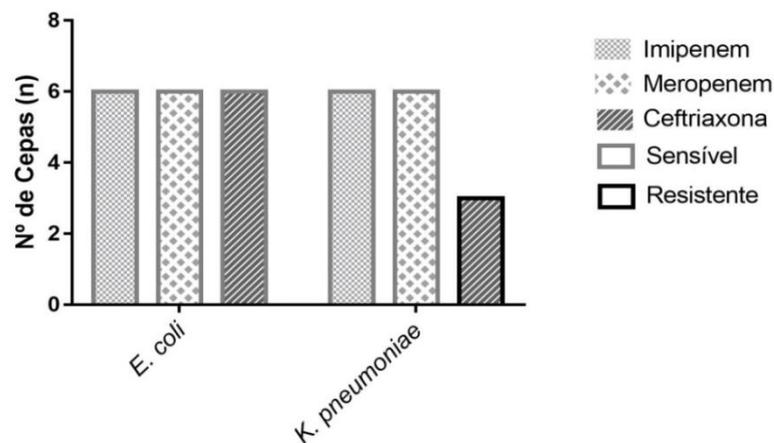
Espécie/Identificação	Antimicrobianos			
	Imipenem	Meropenem	Ceftriaxona	
<i>E. coli</i>	Ec RS 01	< 0,25	< 0,25	< 0,25
	Ec PT 01	1,00	< 0,25	0,50
	Ec IF 01	< 0,25	< 0,25	< 0,25
	Ec EX 01	1,00	< 0,25	0,50
	Ec EX 03	< 0,25	< 0,25	< 0,25
	Ec EX 04	< 0,25	< 0,25	< 0,25
<i>K. pneumoniae</i>	Kp RS 01	< 0,25	< 0,25	< 0,25
	Kp PT 01	< 0,25	< 0,25	1,00
	Kp IF 01	1,00	< 0,25	0,50

Kp EX 01	1,00	< 0,25	32,00
Kp EX 03	1,00	< 0,25	32,00
Kp EX 04	1,00	1,00	32,00

Fonte: Autores, 2020.

Ao comparar os resultados das concentrações inibitórias mínimas obtidas para os antimicrobianos com os valores interpretativos da tabela 1, verificou-se o perfil de sensibilidade das cepas bacterianas utilizadas no presente estudo (Gráfico 1).

Gráfico 1. Perfil de sensibilidade das cepas bacterianas frente aos antimicrobianos.



Fonte: Autores, 2020.

Observou-se que todas as cepas de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* foram sensíveis ao imipenem. Resultados semelhantes foram encontrados por Martinhago et al. (2008) e por Barros et al. (2014), que analisaram cepas de *E. coli* isoladas do Lago Municipal de Cascavel no Paraná e das Praias da cidade de São Luís no Maranhão, respectivamente. Chagas (2011) analisando cepas de *K. pneumoniae* isoladas de efluente hospitalar no Rio de Janeiro verificou que 95,5% dos isolados apresentavam sensibilidade ao imipenem, assim como, Resende et al. (2009), que obteve 90% das estirpes de *K. pneumoniae* sensíveis a ação desse carbapenêmico.

Verificou-se, também, que todas as cepas, de ambas as espécies bacterianas, foram sensíveis a ação do meropenem, tendo sido esse o antimicrobiano mais efetivo contra as bactérias, já que praticamente todas as estirpes, exceto Kp EX 04, apresentaram sensibilidade para a menor concentração testada no presente estudo. Wagner (2018) também observou em sua pesquisa que todos os isolados de *E. coli* e *K. pneumoniae* do Rio Tubarão (Santa Catarina) eram sensíveis ao meropenem, bem como, Chagas (2011), que encontrou 97,7% dos isolados

de *K. pneumoniae* sensíveis a esse antimicrobiano. Chen et al. (2017), analisando a ação de antibióticos sobre cepas de *E. coli* isoladas de água de abastecimento na cidade de Hangzhou (China), constataram que todas as estirpes eram sensíveis tanto ao meropenem, quanto ao imipenem.

Os carbapenêmicos, classe da qual o imipenem e meropenem fazem parte, são antibióticos β -lactâmicos, ou seja, possuem nas suas estruturas químicas o anel β -lactâmico associado a um anel de cinco membros. Esses antibióticos possuem ação ao nível da síntese do peptidoglicano, atuando através da inibição da transpeptidase, assim, o polímero linear não é transformado em polímero cruzado e não se forma a parede celular bacteriana (PORTUGAL, 2015; GUERREIRO, 2018).

Dentre os β -lactâmicos, os carbapenêmicos são os que possuem o mais amplo espectro de atividade e maior potência contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Essas características são devidas, não apenas por suas propriedades químicas que favorecem a penetração através dos canais de porinas das células bacterianas, mas também devido à sua elevada estabilidade face à degradação pelas β -lactamases e à sua forte ligação às Proteínas de Ligação à Penicilina – PBPs. Após penetrar a parede celular bacteriana através dos canais de porinas, os carbapenêmicos atravessam o espaço periplasmático e finalmente atuam através da acilação irreversível das PBPs inibindo as transpeptidases. Como a formação da parede celular é um “processo tridimensional” dinâmico, com formação e autólise ocorrendo ao mesmo tempo, quando as PBPs são inibidas, a autólise continua. Eventualmente, o peptidoglicano enfraquece e a célula explode devido à pressão osmótica (PAPP-WALLACE et al., 2011; CODJOE e DONKOR, 2018; GUERREIRO, 2018).

Verificou-se que para a ceftriaxona, todas as cepas de *E. coli* se mostraram sensíveis. Resultados similares foram observados por Hahn et al. (2015) em que 92,93% das cepas de *Escherichia coli* isoladas do Rio dos Sinos (Rio Grande do Sul) apresentaram sensibilidade a essa cefalosporina de 3^o geração. Resende et al. (2009), analisando a ação de antimicrobianos sobre bactérias gram-negativas isoladas de efluente hospitalar e da Estação de tratamento de esgoto da cidade de Goiânia (Goiás), também observaram que todas as cepas de *E. coli* eram sensíveis a ação da ceftriaxona.

Conforme Guerreiro (2018), as cefalosporinas de terceira geração, classe da qual a ceftriaxona faz parte, também são antibióticos β -lactâmicos. Nesses antimicrobianos, há uma substituição do anel furano presente na estrutura química das oximino-cefalosporinas pelo anel aminotiazol que melhora a penetração destas cefalosporinas através da membrana externa de

bactérias gram-negativas. Isso pode aumentar a afinidade do fármaco pela transpeptidase bacteriana, dessa forma, as cefalosporinas de terceira geração possuem uma atividade acrescida sobre bactérias gram-negativas.

Observando o gráfico 1, nota-se que três cepas de *K. pneumoniae*, provenientes de água de abastecimento, foram resistentes à ceftriaxona, enquanto que as demais foram sensíveis. Prado (2007), avaliando a resistência microbiana de isolados de efluente hospitalar da cidade de Rio de Janeiro verificou que 27,9% das estirpes eram resistentes a ação dessa cefalosporina de 3º geração, assim como Wagner (2018), verificou que 66,67% das cepas de *K. pneumoniae* isoladas do Rio Tubarão (Santa Catarina) apresentaram resistência a ceftriaxona. No entanto, Resende et al. (2009) observaram sensibilidade em todas as cepas dessa espécie bacteriana utilizada na sua pesquisa, bem como Barcelos et al. (2016), em que todas as estirpes de *K. pneumoniae* isoladas de poços tubulares na região serrana do Espírito Santo foram sensíveis para a ceftriaxona e meropenem.

De acordo com Prado (2007), as cefalosporinas de terceira geração, foram originalmente desenvolvidas como β -lactâmicos capazes de acabar com as resistências causadas pelas β -lactamases comuns. Entretanto, em poucos anos, os bacilos gram-negativos, como *Klebsiella pneumoniae* e outras, começaram a produzir versões que se mostraram resistentes à ação dessas cefalosporinas, sendo esse aumento associado com o uso indiscriminado destes antibióticos na cura das infecções.

Assim, para Wagner (2018), os elementos móveis, como os plasmídeos, transposons e integrons são importantes no processo de resistência, porque possuem funções de replicação do genoma, bem como a facilidade de dispersão de genes de resistência. Os plasmídeos são bastante significativos nesse processo devido a sua capacidade e possibilidade da troca de material genético entre várias bactérias, levando a resistência até mesmo para diferentes gêneros bacterianos. Assim, quando os genes transferidos são resistentes, o micro-organismo pode codificar diferentes mecanismos bioquímicos a fim de impedir o mecanismo de ação do antimicrobiano.

Para Moreira e Freire (2011), a *K. pneumoniae* é a espécie entre as *Enterobacteriaceae* que apresenta a maior diversidade de fenótipos de resistência associados a produção de Beta-Lactamase de Espectro Estendido (ESBL), e onde estas enzimas são mais comumente encontradas. Fontes (2012) cita que bactérias produtoras de ESBL estão frequentemente sendo isoladas não só em hospitais, mas também em outros ambientes. Ao verificar a resistência a

antimicrobianos em *Enterobacteriaceae* isoladas de ambientes aquáticos no estado de São Paulo, Fontes (2012), observou que 10 cepas de *K. pneumoniae* eram produtoras de ESBL.

A resistência a ceftriaxona das três cepas de *K. pneumoniae* isoladas da água de abastecimento, pode está relacionado a uma possível produção de ESBL, já que, essas enzimas são capazes de hidrolisar as cefalosporinas de terceira geração, sem afetar a ação dos carbapenêmicos, fato que foi observado, uma vez que essas cepas se apresentaram sensíveis ao meropenem e imipenem (PEREIRA, 2012; PAULA et al., 2016; DINIZ e SANTOS, 2019). Além disso, conforme Aires (2017), a cápsula produzida usualmente por isolados de *K. pneumoniae* além de representar o principal mecanismo de virulência desta espécie, possui como função neutralizar a atividade antibacteriana.

No entanto, é interessante observar que por serem cepas ambientais e por não estarem em contato direto com o antimicrobiano, essas foram as únicas estirpes que apresentaram resistência à ceftriaxona, sugerindo, assim, que algum fator ambiental possa está contribuindo para o desencadeamento do desenvolvimento desta característica.

Os resultados encontrados para os antimicrobianos de uma forma geral foram satisfatórios sob a óptica da saúde pública, uma vez que as bactérias aqui estudadas, em sua grande maioria, demonstraram ser sensíveis. Porém, com um alerta para as cepas de *K. pneumoniae* resistentes a ceftriaxona, sugerindo-se uma melhor investigação com a finalidade de tentar explicar o desenvolvimento dos mecanismos de resistência pelo micro-organismo.

E, para o ponto de vista ecológico, os resultados observados podem sinalizar para eventuais efeitos adversos à vida e à qualidade ambiental dos ecossistemas, uma vez que esses contaminantes podem causar efeitos imediatos (toxicidade aguda) ou toxidade crônica, sobre as comunidades de bactérias, algas, peixes e zooplâncton, que desempenham um papel significativo no ambiente aquático (BISOGNIN et al., 2018; FELIS et al., 2020).

4. Conclusão

Verificou-se, dessa forma, que todos os ambientes analisados no presente estudo possuem uma alta possibilidade de estarem contaminados por fezes, uma vez que foi possível o isolamento de bactérias entéricas, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, sendo uma delas o bioindicador universal de contaminação fecal.

Observou-se que todas as cepas de *Escherichia coli* foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados. Para as cepas de *Klebsiella pneumoniae*, todas demonstraram

sensibilidade à ação do imipenem e meropenem, enquanto que para a ceftriaxona constatou-se que as estirpes provenientes das águas de abastecimento apresentaram resistência para esse antimicrobiano, ao passo que as demais cepas mostraram-se sensíveis. Além disso, percebeu-se que o meropenem foi o antimicrobiano para o qual as bactérias demonstraram maior sensibilidade.

Assim, constatou-se que as cepas bacterianas de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* isoladas de ambientes aquáticos da Bacia do Salgado – CE demonstraram ser, em sua grande maioria, sensíveis a ação dos antimicrobianos utilizados neste estudo, sendo isso adequado sob a perspectiva da saúde pública, todavia, pode-se utilizar como indicativo para efeitos danosos sobre a microbiota aquática desses ambientes.

Referências

AIRES, C. A. M. et al. **Caracterização fenotípica e molecular de isolados de *Klebsiella pneumoniae* multirresistentes oriundos de swab retal de vigilância de hospitais de diferentes estados brasileiros**. 2017. Tese de Doutorado.

ANUHYA, T. V. et al. Meropenem induced hypokalemia. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 11, n. 8, p. OD05, 2017.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION et al. – APHA; American Water Works Association – AWWA; Water Environment Federation – WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22 ed. Washington D C, 2012.

AQUINO, S. F.; BRANDT, E.M.F.; CHERNICHARO, C.A.L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 18, p. 187-204, 2013.

BALAKRISHNA, Keshava et al. A review of the occurrence of pharmaceuticals and personal care products in Indian water bodies. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 137, p. 113-120, 2017.

BARCELOS, Divan Henrique Fernandes et al. Pesquisa de enterobactérias resistentes a antimicrobianos isoladas em poços tubulares na região serrana do Espírito Santo (Brasil). **Águas Subterrâneas**, v. 30, n. 1, p. 53-61, 2016.

BARROS, André Luiz Raposo et al. Resistência A Metais Pesados, Antimicrobianos E Formação De Biofilme Em Cepas De *Escherichia Coli* Isoladas De Praias De São Luis-Maranhão. **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 43, n. 3, p. 277-289, 2014.

BARROS, J. P. **Análise temporal do perfil de RpoS em isolados de Escherichia coli de águas residuárias**. 2017. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

BISOGNIN, R. P.; WOLFF, D. B.; CARISSIMI, E. Revisão sobre fármacos no ambiente. **Revista DAE**, v. 66, n. 210, p. 78-95, 2018.

BRANDÃO, C. J. et al., Companhia Ambiental do Estado et al. Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos. In: **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**. 2011. p. 325-325.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017 – Anexo XX. **Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade (2017)**. *Diário Oficial da União*, Brasília – DF.

CALDAS, F. R. L. Composição química e avaliação das atividades antimicrobiana e anti-inflamatória de polens apícolas coletados no litoral sul da Bahia. Tese de doutorado. **Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil**, 2018.

CHAGAS, T.P.G. et al. **Deteção de bactérias multirresistentes aos antimicrobianos em esgoto hospitalar no Rio de Janeiro**. 2011. Tese de Doutorado. Instituto Oswaldo Cruz.

CHEN, Z. et al. Prevalence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* in drinking water sources in Hangzhou city. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1133, 2017.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2012). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement**. CLSI/NCCLS document M100-S22. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania - USA.

CODJOE, F. S.; DONKOR, E. S. Carbapenem resistance: a review. **Medical Sciences**, v. 6, n. 1, p. 1, 2018.

DIAS, Z.M.B. **Relação entre o uso e ocupação do solo e a qualidade da água superficial de uma área rural do Distrito Federal-DF**. 2016. Universidade de Brasília, Planaltina – DF.

DINIZ, A.M.M.; SANTOS, R.M.C. *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp. ESBL em Hospital Universitário, na cidade de Manaus-AM. **Revista de epidemiologia e controle de infecção**, v. 9, n. 2, p. 129-133, 2019.

DURHAM, S.H.; WINGLER, M.J.; EILAND, L.S. Appropriate use of ceftriaxone in the emergency department of a Veteran's health care system. **Journal of Pharmacy Technology**, v. 33, n. 6, p. 215-218, 2017.

FELIS, E. et al. Antimicrobial pharmaceuticals in the aquatic environment-occurrence and environmental implications. **European journal of pharmacology**, v. 866, p. 172813, 2020.

FONTES, L.C. **Monitoramento da resistência aos antibacterianos em membros da família enterobacteriaceae recuperados de ambientes aquáticos no Estado de São Paulo, Brasil.** 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

GUERREIRO, L.F. **Cefalosporinas e Carbapenemos no tratamento de infecções provocadas por bactérias Gram-negativas.** 2018. Tese de Doutorado.

HAHN, A.B.B. et al. Avaliação do perfil de resistência a antimicrobianos e metais pesados em micro-organismos isolados do Rio dos Sinos, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 13, n. 3, 2015.

KABBARA, W.K.; NAWAS, G.T.; RAMADAN, W.H. Evaluation of the appropriateness of imipenem/cilastatin prescription and dosing in a tertiary care hospital. **Infection and drug resistance**, v. 8, p. 31, 2015.

KUMAR, M. et al. Antibiotics bioremediation: perspectives on its ecotoxicity and resistance. **Environment international**, v. 124, p. 448-461, 2019.

MARTINHAGO, M. W. et al. Avaliação do Perfil de Suscetibilidade das Cepas de Escherichia coli Isoladas da Água do Lago Municipal de Cascavel, Paraná. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 6, n. S1, 2008.

MOREIRA, V. C., & FREIRE, D. (2011). *Klebsiella pneumoniae* e sua resistência a antibióticos. In: **VI Mostra de Produção Científica da Pós-Graduação Lato Sensu da PUC Goiás - Goiânia, 2011**. Acesso em: 03 janeiro 2020. Disponível em: <<http://www.cpgls.pucgoias.edu.br/6mostra/artigos/SAUDE/VANESSA%20CARVALHO%20MOREIRA.pdf>>.

NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2003). **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard** - Sixth Edition. NCCLS document M7-A6. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania - USA.

PAPP-WALLACE, Krisztina M. et al. Carbapenems: past, present, and future. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 55, n. 11, p. 4943-4960, 2011.

DE PAULA, V.G. et al. Enterobactérias produtoras de carbapenemase: reflexão sobre o surgimento de superbactérias em UTI's. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 14, n. 2, 2016.

PEREIRA, Polyana Silva et al. **Caracterização molecular de Klebsiella pneumoniae multirresistentes produtoras de carbapenemase do tipo KPC isoladas em diferentes regiões do Brasil.** 2012. Tese de Doutorado. Instituto Oswaldo Cruz.

PEREIRA, A. S. et al. **Metodologia da pesquisa científica.** [e-book]. Santa Maria, RS: UFSM, NTE (2018). Acesso em: 20 junho 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_MetodologiaPesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1>.

PORTUGAL, D. S. C. G. **Prevalência de bactérias resistentes a antimicrobianos em água natural.** Dissertação de Mestrado, 2015.

PRADO, T. et al. **Avaliação da eficiência de um sistema de tratamento de efluente hospitalar por processo anaeróbio na remoção de coliformes, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antibióticos e Vírus da Hepatite A.** Tese de Doutorado. Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro – RJ, 2007.

RESENDE, Aline Cristina Batista et al. Detection of antimicrobial-resistant Gram-negative bacteria in hospital effluents and in the sewage treatment station of Goiânia Brazil. **O Mundo da Saúde**, v. 33, n. 4, p. 385-391, 2009.

VERLICCHI, P.; AL AUKIDY, M.; ZAMBELLO, E. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment—a review. **Science of the total environment**, v. 429, p. 123-155, 2012.

WAGNER, Flávia da Silva. Perfil antimicrobiano de cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* isoladas do rio Tubarão/SC. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão – SC **Ciências Biológicas Licenciatura-Tubarão**, 2018.