



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**

**MAITE DE OLIVEIRA VIEIRA ALVES**

**ENTEROBACTÉRIAS MULTI-RESISTENTES ISOLADAS DE  
EFLUENTES URBANOS DE ARACAJU, SERGIPE**

**SÃO CRISTÓVÃO-SE**

**2018**

MAITE DE OLIVEIRA VIEIRA ALVES

**ENTEROBACTÉRIAS MULTI-RESISTENTES ISOLADAS DE  
EFLUENTES URBANOS DE ARACAJU, SERGIPE**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação  
apresentado como requisito para a obtenção do  
título de Bacharel em Ciências Biológicas pelo  
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da  
Universidade Federal de Sergipe.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Luna Cândido

SÃO CRISTÓVÃO-SE

2018

MAITE DE OLIVEIRA VIEIRA ALVES

**ENTEROBACTÉRIAS MULTI-RESISTENTES ISOLADAS DE  
EFLUENTES URBANOS DE ARACAJU, SERGIPE**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas pelo Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Sergipe.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Presidente da banca – Orientador: Orientador: Prof. Dr. Alexandre Luna Cândido  
Universidade Federal de Sergipe

---

Examinadora: Profa. Dra. Maria Regina Pires Carneiro

---

Examinadora: MsC. Sabrina Zelice da Cruz de Morais

*Dedico este trabalho à minha família, amigos, professores e a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente em minha formação acadêmica.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a todos que contribuíram no percorrer da minha graduação, especialmente:

Aos meus pais, Maria Inês e Antônio Ernandes (in memoriam), minha irmã Juliana, e meu tio Elias, que sempre me apoiaram nos momentos mais árduos.

A minha amiga Ana Luiza, por me fazer acreditar que eu era capaz de realizar os meus sonhos.

Aos meus amigos e colegas da Universidade, que me acompanharam e me inspiraram ao longo desta jornada, em especial, Flaviane, Bárbara, Rebeca, Danielle, Karolyne, Verônica, Caroline e Ítalo.

Aos técnicos do Departamento de Morfologia, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Marta, Carlos e Lília, pelo auxílio neste trabalho e pela amizade.

Agradeço a todos os professores durante a minha graduação, por compartilharem conhecimento, respeito e amor a ciência.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alexandre Luna Cândido, pela oportunidade, orientação e confiança na execução deste trabalho.

## RESUMO

A família Enterobacteriaceae possui 53 gêneros e mais de 170 espécies, é constituída por bacilos Gram-negativas, não formadores de esporos e representa um dos grupos mais importantes de bactérias. A multi-resistência às drogas antimicrobianas é de importância global, decorre principalmente pelo uso incorreto e despejo dessas drogas nas águas dos efluentes, nessas condições as bactérias desenvolvem mecanismos de resistência aos antimicrobianos, representando um dos maiores problemas de saúde pública. Este trabalho objetivou avaliar a ocorrência de bactérias da família Enterobacteriaceae resistentes a antimicrobianos, isolados de efluentes urbanos da cidade de Aracaju, estado de Sergipe, nos bairros: Industrial, Salgado Filho, Jardins, Santa Maria e Novo Paraíso. Os procedimentos tomados a partir da obtenção das colônias isoladas, foram os testes de resistência a drogas antimicrobianas, pelas seguintes drogas: amoxicilina, ampicilina, azitromicina, ciprofloxacina e tetraciclina; e a identificação bioquímica por provas específicas para enterobactérias. Os resultados obtiveram sete gêneros, alguns identificados até a espécie, destes gêneros: Enterobacter, Escherichia, Hafnia, Klebsiella, Proteus, Salmonella e Shigella. Os dados obtidos apontam que a ampicilina e a amoxicilina são os antibióticos que as enterobactérias mais apresentam resistência, em seguida da tetraciclina, e os antibióticos que menos apresentaram isolados resistentes foram a azitromicina e a ciprofloxacina. Os fatores mais relevantes que influenciam os dados são a estrutura dos bairros e os tipos dos estabelecimentos, como clínicas e hospitais, a proximidade com corpos d'água que interferem na concentração de partículas nos efluentes, o fluxo dos efluentes e seus percursos em toda a cidade. O atual estudo sugere que mais gêneros de enterobactérias estão tornando-se mais resistentes aos antibióticos utilizados, e estão tornando-se mais resistentes a um número maior de antibióticos.

**Palavras-chave:** Enterobactéria; Antimicrobiano; Antibiótico; Multi-resistência; Efluente; Monitoramento ambiental.

## ABSTRACT

The Enterobacteriaceae family has 53 genera and more than 170 species, consists of Gram-negative bacilli, non-spore forming and represents one of the most important groups of bacteria. The multi-resistance to antimicrobial drugs is of global importance, mainly due to the incorrect use and dumping of these drugs in effluent Waters, under these conditions bacteria develop mechanisms of resistance to antimicrobials, representing one of the main public health problems. The objective of this work was to evaluate the occurrence of antimicrobial resistant bacteria of the Enterobacteriaceae family, isolated from urban effluents from the city of Aracaju, Sergipe, in the following neighborhoods: Industrial, Salgado Filho, Jardins, Santa Maria and Novo Paraíso. The procedures used to obtain isolated colonies were antimicrobial drug resistance tests for the following drugs: amoxicillin, ampicillin, azithromycin, ciprofloxacin and tetracycline; and biochemical identification by specific tests for enterobacteria. The results obtained seven genera, some identified up to the species, of these genera: Enterobacter, Escherichia, Hafnia, Klebsiella, Proteus, Salmonella and Shigella. The data obtained indicate that ampicillin and amoxiline are the antibiotics that enterobacteria most present resistance, followed by tetracycline, and the antibiotics that presented the least resistant isolates were azithromycin and ciprofloxacin. The most relevant factors influencing the data are the structure of the neighborhoods and the types of establishments, such as clinics and hospitals, proximity to water bodies that interfere with the concentration of particles in effluents, effluent flow and its routes throughout city. The current study suggests that more genera of enterobacteria are becoming more resistant to the antibiotics used, and are becoming more resistant to a greater number of antibiotics.

**Key-words:** Enterobacteria; Antimicrobial; Antibiotic; Multi-resistance; Effluent; Environmental monitoring.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 — Imagem de microscopia eletrônica de varredura.....	12
Figura 2 — Mapa da distribuição espacial dos bairros da cidade de Aracaju.....	19
Figura 3 — Coleta de amostra de água residual em efluente.....	20
Figura 4 — Placas com meio seletivo na estufa de crescimento.....	21
Figura 5 — Colônias isoladas de efluente.....	22
Figura 6 — Provas bioquímicas na estufa de crescimento.....	24
Figura 7 — Gráfico da quantidade total de isolados multi-resistentes aos cinco antibióticos testados.....	26
Figura 8 — Gráfico da quantidade total de gêneros multi-resistentes isolados aos cinco antibióticos testados, no bairro Industrial.....	27
Figura 9 — Gráfico da quantidade total de gêneros multi-resistentes isolados aos cinco antibióticos testados, no bairro Salgado Filho.....	28
Figura 10 — Gráfico da quantidade total de gêneros multi-resistentes isolados aos cinco antibióticos testados, no bairro Jardins.....	29
Figura 11 — Gráfico da quantidade total de gêneros multi-resistentes isolados aos cinco antibióticos testados, no bairro Santa Maria.....	30
Figura 12 — Gráfico da quantidade total de gêneros multi-resistentes isolados aos cinco antibióticos testados, no bairro Novo Paraíso.....	31
Figura 13 — Gráfico da quantidade total de isolados multi-resistentes do o maior ao menor valor, por bairro.....	32

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 — Os locais de coleta.....	18
Tabela 2 — As datas das amostras.....	20
Tabela 3 — Isolados multi-resistentes aos cinco antibióticos por bairro.....	25
Tabela 4 — Microrganismos multi-resistentes isolados no Bairro Industrial.....	26
Tabela 5 — Microrganismos multi-resistentes isolados no Bairro Salgado Filho.....	27
Tabela 6 — Microrganismos multi-resistentes isolados no Bairro Jardins.....	28
Tabela 7 — Microrganismos multi-resistentes isolados no Bairro Santa Maria.....	29
Tabela 8 — Microrganismos multi-resistentes isolados no Bairro Novo Paraíso.....	30
Tabela 9 — Isolados de enterobactérias multi-resistentes por cada antibiótico.....	32

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	11
1.1	Enterobactérias	11
1.2	Resistência a antibióticos	12
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b>	14
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	17
3.1	Geral	17
3.2	Específicos	17
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b>	18
4.1	Coleta das amostras	18
4.2	Isolamento	21
4.3	Seleção dos resistentes	22
4.4	Identificação	23
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	25
5.1	Amostras coletadas	25
5.2	Resistência aos cinco antibióticos por bairro	25
5.3	Identificação dos resistentes por bairro	26
5.3.1	Bairro Industrial	26
5.3.2	Bairro Salgado Filho	27
5.3.3	Bairro Jardins	28
5.3.4	Bairro Santa Maria	29
5.3.5	Bairro Novo Paraíso	30
5.4	Multirresistência a cada antibiótico por bairro	31
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	33
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	36
	<b>REFERÊNCIAS</b>	38

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Enterobactérias

A família Enterobacteriaceae é encontrada amplamente no mundo. Atualmente essa família possui 53 gêneros e mais de 170 espécies nomeadas. Essa família é constituída por bacilos Gram-negativas, não formadores de esporos, apresentando de 1 a 5 µm de comprimento, de maioria anaeróbica facultativa, a maioria cresce bem a 37°C (KONEMAN et al, 2001; MAIOLI et al, 2008).

A maioria das enterobactérias habitam o intestino do homem e de outros animais, sendo estas bactérias a principal causa de infecções intestinais, representando um dos grupos mais importantes de bactérias conhecidas para o homem. Algumas das doenças mais importantes da história humana foram causadas por bactérias pertencentes a família Enterobacteriaceae, como a *Yersinia pestis*, dentre outras espécies de importância a saúde pública, como a *Salmonella enterica*, *Shigella*, *Escherichia coli*. As duas principais formas da doença infecciosa é a intestinal e a extraintestinal; a via de transmissão é fecal-oral por pessoa a pessoa, por animais, pelo meio, ou por água ou comida contaminadas. (BAYLIS et al, 2011; PHE, 2015).

Com relação a identificação dos gêneros e espécies, essa pode ser feita por meio de provas bioquímicas, porém, algumas espécies são muito semelhantes, e apenas por provas bioquímicas, não é possível realizar a identificação, exigindo assim um número maior de provas. Contudo, a diferenciação entre espécies é dispensável pelo ponto de vista clínico, pois o tratamento geralmente necessita da identificação apenas do gênero da enterobactérias. Outra forma de diferenciação é pela sorologia, por base na especificidade imunológica dos antígenos: O (somático), K (capsular) e H (flagelar) (TRABULSI, ALTERTHUM, 2008).

Os gêneros mais importantes para a saúde humana são: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Plesiomonas shigelloides*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Edwardsiella*, *Erwinia* e *Yersinia* (PHE, 2015).

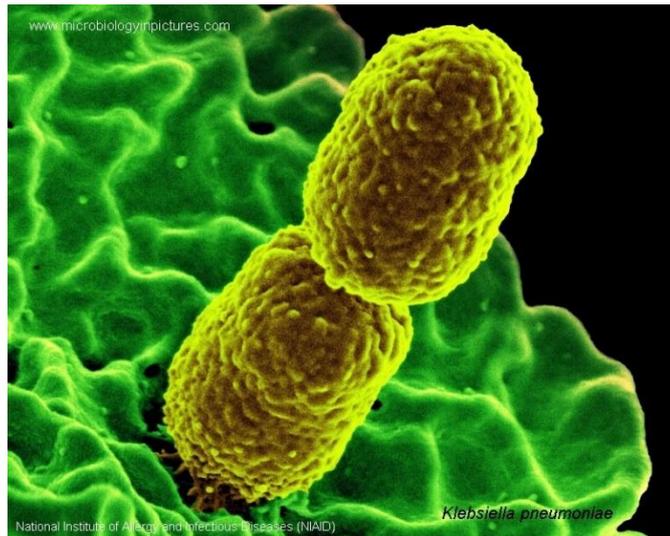


Figura 1. Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) colorida digitalmente de duas bactérias *Klebsiella pneumoniae* (em amarelo), interagindo com célula humana, um neutrófilo (em verde). Fonte: Microbiology in Pictures (2015).

## 1.2 Resistência a antibióticos

Ao longo das últimas décadas, o fenômeno da multi-resistência às drogas antimicrobianas, manifestada por enterobactérias Gram-negativas, tem se tornado um problema de saúde pública (WELLINGTON et al, 2013). Estas bactérias podem causar diversas infecções, como as infecções intestinais, extraintestinais e a febre tifoide, e os membros mais importantes dessa família estão tornando-se, gradualmente, mais resistentes aos antimicrobianos disponíveis (AZEVEDO et al, 2015).

Esse fenômeno pode se dar através da eliminação dos antibióticos, que podem atingir os esgotos de diversas formas, como através da excreção humana após a administração de drogas antimicrobianas (KÜMMERER et al, 2000). As bactérias isoladas destes ambientes têm desenvolvido mecanismos contra os antibióticos que lá se encontram. Os genes responsáveis por sua defesa, a maioria nos plasmídeos, como os genes que produzem a  $\beta$ -lactamase, estes podem ser transmitidos de forma vertical pela reprodução; ou transmitidos horizontalmente por transformação, conjugação ou transdução (DAVISON, 1999; LINEAGE MEDICAL, 2018).

Em relação aos antibióticos utilizados, a amoxicilina pertence ao grupo químico dos  $\beta$ -lactâmicos, em específico da penicilina, grupo este descoberto por Fleming em 1928. A ação é rápida, de caráter bactericida, interferindo na parede

celular. O espectro de ação sobre as enterobactérias age nas: *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. O metabolismo da amoxicilina não é muito eficiente, aproximadamente de 60 a 70% é excretado inalterado na urina (MELO, DUARTE, SOARES, 2012; ANVISA, 2018).

A ampicilina também pertence ao grupo das penicilinas. É de ação bactericida, ou seja, atua na parede celular. O espectro de ação sobre as enterobactérias age nas: *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e muitas cepas de *Salmonella*, *Shigella*. No entanto, algumas já apresentam resistência, como as: *Klebsiella-Enterobacter*, *Proteus indol-positivos* e *Serratia* (MELO, DUARTE, SOARES, 2012; ANVISA, 2018).

A azitromicina pertence ao grupo químico dos macrolídeos, A ação pode ser bactericida ou bacteriostática, atuam inibindo a síntese de proteínas. O espectro de ação ocorre na maioria das bactérias aeróbicas gram-negativas. As enterobactérias já resistentes são as: *Klebsiella-Enterobacter*, *Proteus indol-positivos*, *Serratia*. (MELO, DUARTE, SOARES, 2012; ANVISA, 2018).

A ciprofloxacina pertence ao grupo químico das quinolonas. A sua ação é de caráter bactericida, resulta da inibição da topoisomerase bacteriana do tipo II (DNA girase) e topoisomerase IV, necessárias para a replicação, transcrição, reparo e recombinação do DNA bacteriano. O espectro de ação age na maioria das bactérias aeróbicas gram-negativas. E já há alguns representantes das enterobactérias que possuem resistência, sendo eles: *Klebsiella pneumoniae*, *Providencia* spp., *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp., *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Shigella* spp., *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* (MELO, DUARTE, SOARES, 2012; ANVISA, 2018).

A tetraciclina é um grupo químico primariamente bacteriostáticos quando em concentrações terapêuticas. A ação ocorre quando se ligam de maneira reversível aos ribossomos, bloqueando a subunidade 30S que se liga ao t-RNA durante a tradução, impedindo a síntese proteica. O espectro desta ação é amplo (MELO, DUARTE, SOARES, 2012; ANVISA, 2018).

## 2 JUSTIFICATIVA

No início do século 21, houve um aumento no número de doenças infecciosas atreladas ao uso das drogas antimicrobianas. Com o descobrimento do primeiro antibiótico em 1928, a ampicilina, e com a prescrição destas drogas para a população em geral vem desde 1943, gerou um longo tempo de contato de antimicrobiano-patógeno, que propiciou os processos de resistência nestes micróbios de importância (PETERSON, 2005; CDC, 2013).

O impacto global da resistência dos patógenos as drogas disponíveis, é um fenômeno que compreende uma larga escala de distribuição geográfica e de variedade de microrganismos (KONEMAN et al, 2001; MAIOLI et al, 2008).

Um dos principais fatores que estão relacionados ao aumento da resistência aos antimicrobianos é o despejo de medicamentos através dos dejetos ambulatoriais, hospitalares e domésticos, podendo colaborar para a disseminação de antibióticos e de microrganismos portadores de genes de resistência a estas drogas (MEIRELLES-PEREIRA et al, 2002; MEIRELES, 2008).

Similarmente, a exposição de microrganismos a adjuvantes conservantes presentes em fórmulas de cosméticos, pode ser um dos fatores indutores para a resistência cruzada com os antibióticos (ORÚS, 2015).

Além disso, a resistência a um antibiótico pode ser por uma característica intrínseca de um determinado microrganismo, ou pode ser adquirida por mutações ou transmissões horizontais genes (BAPTISTA, 2013; BLAIR et al, 2015).

Os genes responsáveis pela resistência contra antibióticos estão localizados principalmente nos plasmídeos, como os genes que produzem a  $\beta$ -lactamase. Estes genes podem ser transmitidos verticalmente através da reprodução assexuada; ou horizontalmente pela transformação, conjugação ou transdução (VIEIRA, FERNANDES, 2012; LINEAGE MEDICAL, 2018).

Vale ressaltar que os mecanismos de resistência não são recentes, a detecção da enzima  $\beta$ -lactamase remonta desde o início da década de 40, antes da

distribuição em larga escala para a população (ABRAAM, CHAIN, 1940; KIRBY, 1944), no entanto, o aparecimento e disseminação cada vez maior de microrganismos resistentes é o resultado principalmente da pressão seletiva exercida pelas drogas antimicrobianas (MCGOWAN, TENOVER, 1997).

Segundo *World Economic Forum Global Risks*, a resistência bacteriana a antibióticos é uma das grandes ameaças à saúde humana. Dessa forma, é relevante considerar os pontos estratégicos de ação, como a natureza das doenças, os farmacoterápicos, os fatores ambientais, políticos e socioeconômicos (COSTA, SILVA-JUNIOR, 2017).

As infecções por micróbios resistentes a antibióticos adicionam gastos consideráveis em um país, sobretudo em um país que já possui uma alta carga econômica e clínica na saúde pública. Quando os tratamentos com antibióticos de primeira e segunda linha falham, os pacientes são submetidos a antibióticos mais tóxicos e que são frequentemente mais caros. (VENTOLA, 2015).

Nesta perspectiva, no âmbito dos fatores epidemiológicos considerados no controle e prevenção de doenças infecciosas e resistência bacteriana, o Brasil possui programas, treinamentos, manuais, RDCs (resoluções da diretoria colegiada) e guias disponibilizados nacionalmente, estes são baseados em documentos como a *Food and Drug Administration*, *Center for Disease Control*, *World Health Organization* e o *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (COSTA, 2016, apud COSTA, SILVA-JUNIOR, 2017).

Ainda assim, mesmo a resistência microbiana sendo um fenômeno natural, ela tem sido intensificada pelo uso indevido de antimicrobianos. Em consequência a esta crise, a Assembleia Mundial da Saúde, de maio de 2015, adotou o Plano de Ação Global Sobre a Resistência Antimicrobiana, para o incentivo da "saúde única", que inclui aspectos relativos a medicina humana e veterinária, agricultura, finanças, meio ambiente e consumidores. Este plano norteia a atuação da ANVISA frente a este problema mundial, pautando estratégias no campo da vigilância sanitária, como alimentos, serviços de saúde, laboratórios, entre outros (ANVISA, 2017).

Em 2015, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou diretrizes para a elaboração deste plano, realinhando o Plano Nacional, com o Plano da Vigilância

Sanitária, e o Plano Nacional de Prevenção e Controle das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (PNPCIRAS), com previsão de implementação em 2018. O PNPCIRAS tem com objetivos principais nos serviços de saúde a conscientização a respeito da resistência microbiana (RM), reforçar o conhecimento científico por meio da vigilância e investigação de infecções relacionadas a RM, reduzir e prevenir a incidência destes casos, e promover o uso racional dos medicamentos antimicrobianos (ANVISA, 2017).

Em síntese, estimativas da avaliação da resistência aos antimicrobianos pode ajudar na formulação de novas políticas e incentivos na educação para que os antimicrobianos sejam utilizados de maneira criteriosa, evitando o aumento e dispersão dos patógenos resistentes (HOWARD et al, 2003).

Para o monitoramento ambiental, é de relevância ressaltar a importância da obtenção de dados dos microrganismos resistentes e os respectivos antibióticos a estes, ao nível regional na cidade de Aracaju, do estado de Sergipe.

Bem como, é imprescindível para a comunidade científica, com a ampliação do conhecimento a respeito da resistência aos antimicrobianos pelos micróbios, com a identificação destes microrganismos e drogas.

A partir destas novas informações, lacunas podem ser preenchidas e novas informações expostas. Podendo ser traçadas medidas e mudanças em atitudes, que tragam mudanças ecologicamente corretas, preservando o meio ambiente, e assim, contribuindo para a saúde da população e meio ambiente.

Tendo em vista esta correlação dos antimicrobianos que atingem os esgotos e o aumento da resistência bacteriana, é importante obter dados regionais da ocorrência de patógenos resistentes a diversos antimicrobianos (BATISTA et al, 2007). Este trabalho visa contribuir para aumento do arcabouço de informações regionais sobre a multi-resistência de enterobactérias em efluentes urbanos da cidade de Aracaju, Sergipe.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Avaliar a ocorrência de bactérias da família Enterobacteriaceae multi-resistentes a antibióticos, isolados de efluentes urbanos na cidade de Aracaju, Sergipe.

#### **3.2 Específicos**

Elaborar a estratégia do plano de coleta;

Obter colônias isoladas das amostras coletadas de água de efluentes;

Isolar enterobactérias multi-resistentes aos antibióticos testados;

Identificar as enterobactérias resistentes a todos os antibióticos por meio de provas bioquímicas ao nível de gênero.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Coleta das amostras

Foram realizadas entre julho de 2017 e fevereiro de 2018, e os pontos de coleta foram nas quatro zonas da cidade de Aracaju, capital de Sergipe: zona norte (bairro Industrial), sul (bairros Salgado Filho e Jardins), oeste (bairro Novo Paraíso) e na zona de expansão ao Sul da cidade (Santa Maria). Em cada bairro, a coleta ocorreu em dois pontos distintos, totalizando dez pontos de coleta neste estudo.

As coletas ocorreram na seguinte sequência, nas respectivas localidades: zonas norte, sul, de expansão e oeste.

<b>Locais de Coleta (Latitude e Longitude)</b>		
<b>Bairro</b>	<b>Ponto 1</b>	<b>Ponto 2</b>
<b>Industrial</b>	-10.902196, -37.050471 Av. João Rodrigues	-10.899167, -37.052675 Av. José Conrado de Araújo
<b>Salgado Filho</b>	-10.929675, -37.056858 Av. Pedro Paes Azevedo	-10.925720, -37.052973 Av. Gonçalo Prado Rolemberg
<b>Jardins</b>	-10.949572, -37.065467 Av. Ministro Geraldo Barreto Sobral	-10.940285, -37.058512 Av. Deputado Sílvio Teixeira
<b>Santa Maria</b>	-10.982441, -37.096666 R. Dezesseis	-10.984465, -37.097230 Avenida Jacy Carvalho
<b>Novo Paraíso</b>	-10.908862, -37.086534 R. Ten. Durval Chaves	-10.908507, -37.086890 Av. Chanceler Osvaldo Aranha

Tabela 1. Os locais de coleta de estão listados pela ordem de zonas apresentadas e ordem da data de coleta do primeiro ao último bairro, em Aracaju, Sergipe.

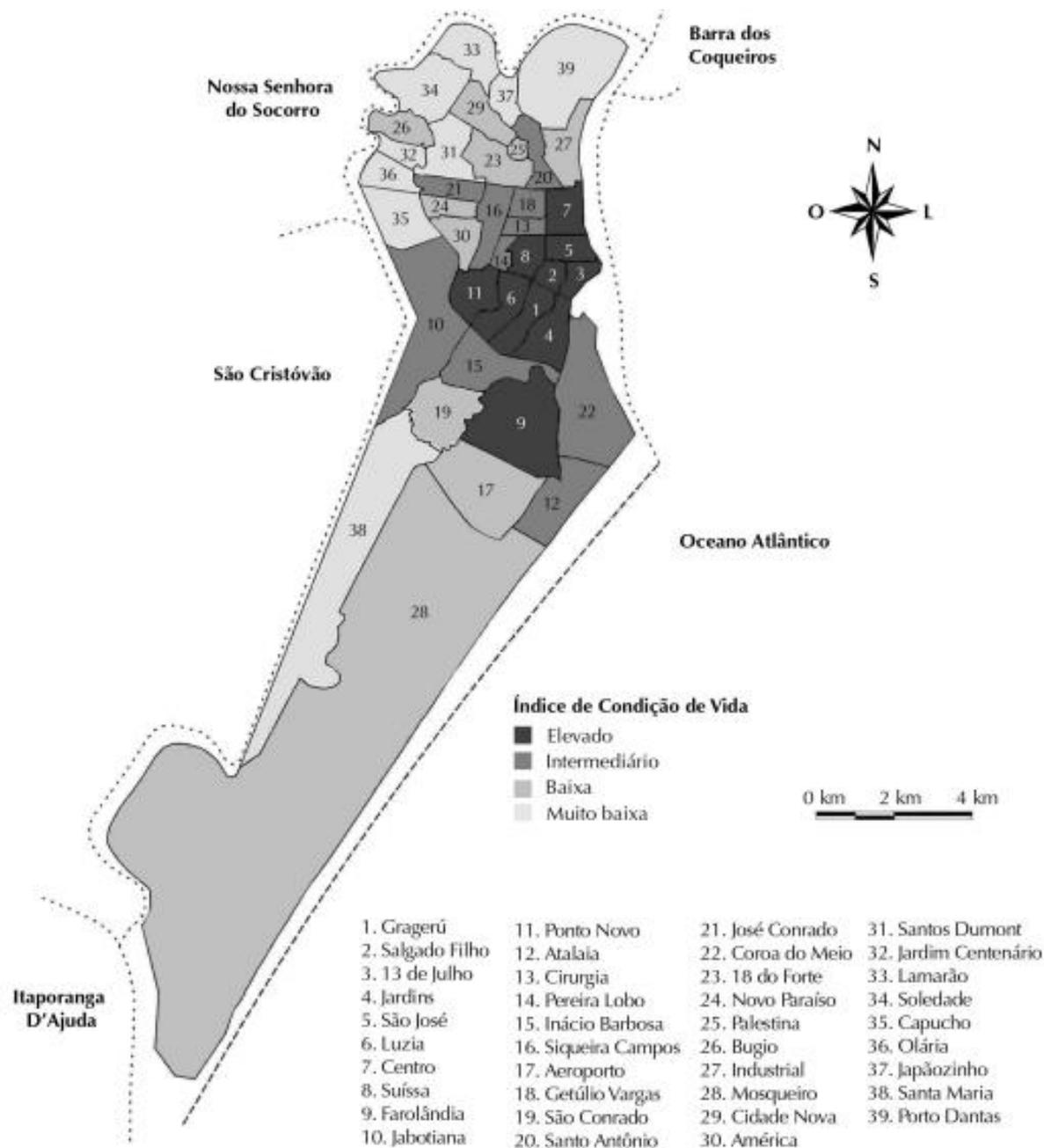


Figura 2. Mapa da distribuição espacial dos bairros da cidade de Aracaju, Sergipe. Fonte: adaptado de CARVALHO (2015).

As coletas das amostras foram realizadas durante o período de maré baixa. Para tanto, foi consultado o site de domínio público Tábua de Marés (<http://www.tabuademares.com/br/sergipe/aracaju>), para que as coletas fossem realizadas com as marés de até 0.3 m.

<b>Datas de Coleta e Maré</b>		
<b>Bairro</b>	<b>Data</b>	<b>Maré (metros)</b>
<b>Industrial</b>	20 de julho de 2017	0.2
<b>Salgado Filho</b>	12 de agosto de 2017	0.2
<b>Jardins</b>	03 de janeiro de 2018	0.1
<b>Santa Maria</b>	16 de janeiro de 2018	0.2
<b>Novo Paraíso</b>	29 de fevereiro de 2018	0.3

Tabela 2. As datas das amostras obtidas a partir de coletas nos bairros, nas seguintes datas e níveis de maré, em Aracaju, Sergipe.



Figura 3. Coleta de amostra de água residual em efluente do bairro Salgado Filho na cidade de Aracaju, Sergipe.

Para obtenção das amostras dos microrganismos, as coletas foram realizadas com o aparato de proteção individual (jaleco, calça, sapato fechado, luvas e máscara). As amostras foram coletadas com recipientes de vidro com tampa de rosca, esterilizado e previamente etiquetados com o nome do bairro e dos pontos de

coleta (Ex.: Ponto 1 e Ponto 2). Utilizou-se um carretel com barbante para pendurar as garrafas até a coluna líquida; e uma caixa de isopor com gelo para conservar as amostras até o procedimento na chegada no laboratório.

#### 4.2 Isolamento

Com as amostras, foram imediatamente semeadas em meio seletivo para enterobactérias (Kasve, Itália), previamente preparadas. Para cada amostra foi adicionada uma alíquota de 10  $\mu$ L em cada placa, e semeadas uniformemente com uma alça de Drigaski. Em seguida, foram para a estufa de incubação por 24 horas a 37°C.

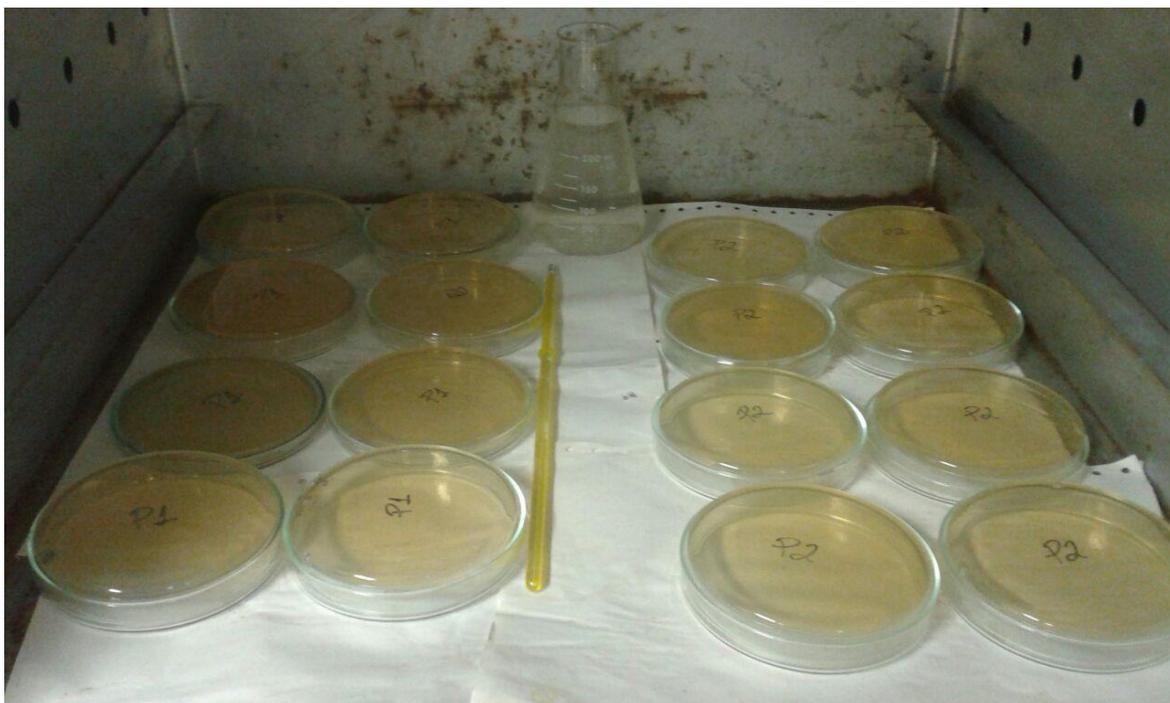


Figura 3. Placas com meio seletivo na estufa de crescimento, semeadas com as amostras.

Após as 24 horas, colônias isoladas crescidas foram transferidas para placas espelho contendo o mesmo ágar. Cada placa foi dividida em quadrantes, para onde os isolados transferidos, um para cada colônia. Cada ponto com 250 isolados, totalizando 500 isolados para cada bairro.

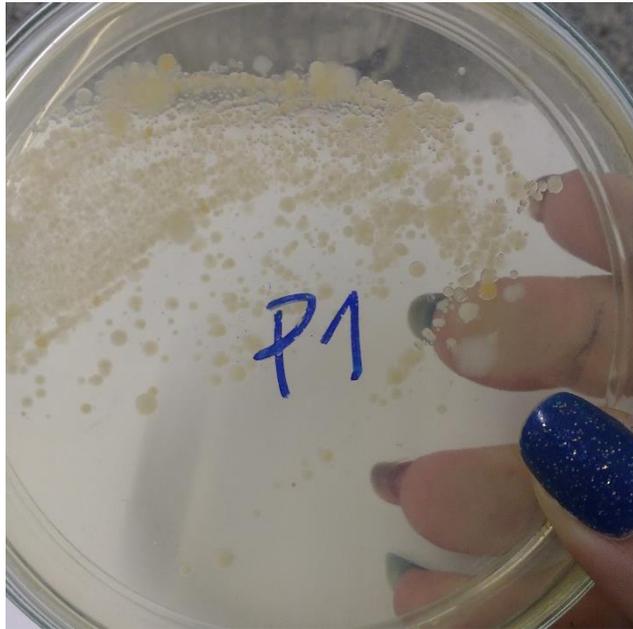


Figura 4. Colônias isoladas de efluente da cidade de Aracaju, Sergipe.

Utilizando palitos de madeira esterilizados, as colônias foram transferidas para um dos quadrantes das placas. Em seguida, as placas foram encubadas na estufa de incubação por 24 horas a 37°C.

#### **4.3 Seleção dos resistentes**

Foram preparadas placas espelho com o mesmo meio usado no isolamento, contendo uma concentração dos antibióticos utilizados para o teste de resistência (amoxicilina, ampicilina, azitromicina, ciprofloxacina e tetraciclina). Os fármacos (Master Pharma e Prati-Donaduzzi), que se apresentam na forma comercial, foram diluídos em água ultrapura de acordo com as informações presentes no rótulo.

A quantidade utilizada para a diluição foi de 50 mL em tubos Falcon, utilizados para o armazenamento dos fármacos. As concentrações foram as seguintes: amoxicilina 1000 mg/50 mL de água; ampicilina 500 mg/50 mL de água; azitromicina 1000 mg/50 mL de água; ciprofloxacina 1000 mg/50 mL de água; tetraciclina 1000 mg/50 mL de água.

Cada antibiótico foi misturado individualmente ao ágar em tubos cônicos do tipo Falcon na proporção: 950 µL/50 mL de ágar para ampicilina e de 500 µL/50 mL de ágar para os demais antibióticos. Antes desta distribuição, o ágar foi posto em banho-maria para a temperatura estabilizar em 60°C, mantendo assim as características antimicrobianas dos antibióticos. As placas foram identificadas de acordo com o antibiótico e ao ponto/bairro correspondente.

Após adicionar o ágar aos tubos contendo os antibióticos, estes foram homogeneizados e em seguida distribuídos nas placas de Petri. Estas placas foram marcadas com quadrantes semelhantes aos das placas espelho, onde foram replicados os isolados obtidos na ordem correspondente. Para cada placa espelho foram 5 placas diferentes, cada uma com um antibiótico diferente, onde os isolados foram distribuídos de acordo com a ordem dos quadrantes. Em seguida a inoculação destes isolados, as placas foram encubadas na estufa por 24 horas a 37°C.

Após as 24 horas, foram verificadas nas placas com antibióticos para saber aos quais isolados apresentaram resistência.

A partir de tabelas contendo os isolados em número de ordem e os antibióticos testados, foi registrado a resistência (+) ou sensibilidade (-) de cada isolado ao determinado antibiótico.

As bactérias não passaram por baterias completas, devido ao grande número de isolados obtidos. Foram considerados para a identificação bioquímica apenas os isolados que apresentaram resistência aos cinco antibióticos testados.

Os isolados considerados multi-resistentes foram transferidos para placas contendo ágar, e encubados na estufa de crescimento por 24 horas a 37°C.

#### **4.4 Identificação**

A identificação dos isolados multi-resistentes se deu através de provas bioquímicas. Estas provas foram até o nível para a identificação de gênero, e algumas até espécie com o mesmo número de provas bioquímicas.

Foram realizadas as provas de: Lactose, Vermelho de Metila e Voges Proskauer (VM/VP), Sulfeto de Hidrogênio ( $H_2S$ ), Motilidade e Citrato. Estes testes escolhidos são mais específicos para a identificação de enterobactérias.



Figura 5. Provas bioquímicas na estufa de crescimento, em ordem da esquerda para direita: Mobilidade, Sulfeto de Hidrogênio, Citrato, Vermelho de Metila e Voges Proskauer.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Amostras coletadas

As coletas em todos os bairros seguiram os padrões de maré até 0.3 m e um período sem chuvas de pelo menos uma semana anterior à data de coleta. No bairro Industrial, foi necessário fazer uma segunda coleta, a anterior foi muito concentrada, impossibilitando a obtenção das colônias isoladas. No bairro Jardins, o segundo ponto, algumas das placas também formaram biomassa que cobriu a placa sem formar colônias isoladas nestas. Nos demais bairros não houve esta situação com as amostras.

Nos bairros Industrial e Salgado Filho, as coletas foram realizadas no mês de julho e agosto de 2017, respectivamente. Esses dois meses são caracterizados pelas chuvas mais intensas no estado de Sergipe. Nos bairros Jardins, Santa Maria e Novo Paraíso, as coletas foram realizadas no mês de janeiro e fevereiro de 2018. Estes dois meses não são caracterizados por chuvas intensas. Estes três bairros analisados apresentaram menos isolados multi-resistentes aos cinco antibióticos, que os bairros analisados no ano anterior.

### 5.2 Resistência aos cinco antibióticos por bairro

A Tabela 3 apresenta a quantidade de microrganismos isolados por bairro, que prosseguiram para a identificação bioquímica.

	<b>Industrial</b>	<b>Salgado Filho</b>	<b>Jardins</b>	<b>Santa Maria</b>	<b>Novo Paraíso</b>
<b>P1</b>	11	23	5	4	5
<b>P2</b>	5	16	3	4	4
<b>Total</b>	16	39	8	8	9

Tabela 3. Isolados multi-resistentes aos cinco antibióticos por bairro, de Aracaju, Sergipe. P1 e P2 representam Ponto 1 e Ponto 2.

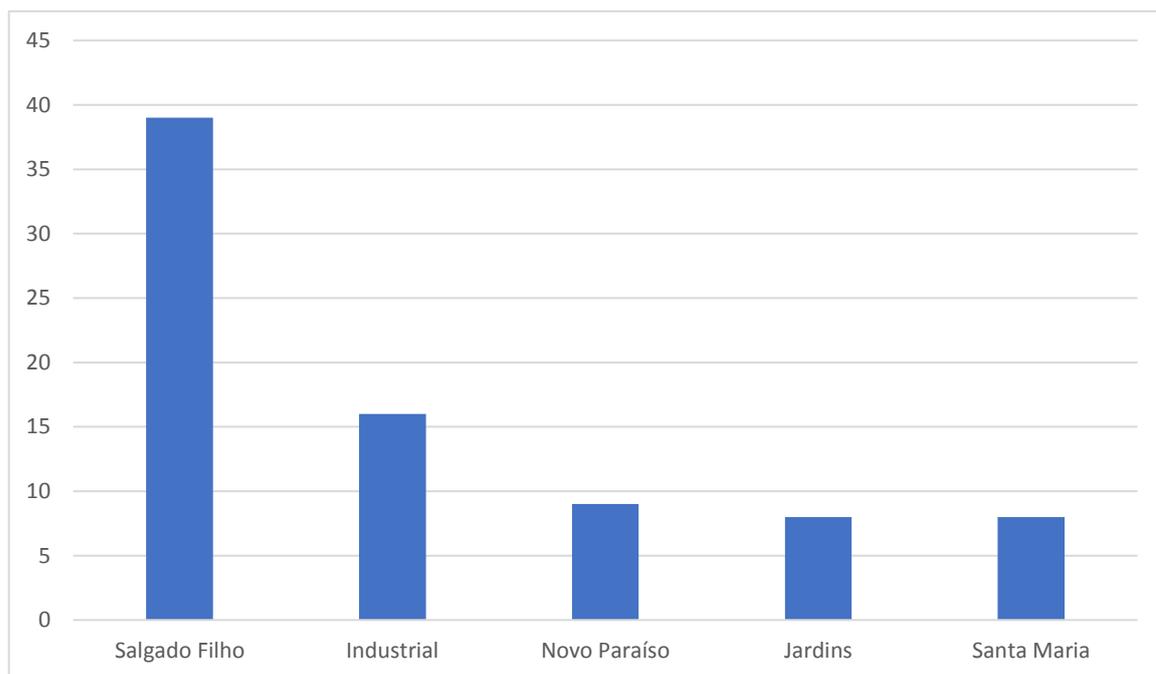


Figura 7. Gráfico da quantidade total de isolados multi-resistentes aos cinco antibióticos testados, por bairro da cidade de Aracaju, Sergipe.

### 5.3 Identificação dos resistentes por bairro

#### 5.3.1 Bairro Industrial

No bairro Industrial foram encontrados dois gêneros (Tabela 4), no primeiro ponto de coleta os isolados foram identificados até o gênero: (11) *Salmonella*; e no segundo ponto: (2) *Escherichia*, identificadas até o nível de espécie, *Escherichia coli*, e (3) *Salmonella*.

Gênero	N° de isolados
<i>Escherichia</i>	2
<i>Salmonella</i>	14
<b>Total</b>	<b>16</b>

Tabela 4. Microrganismos multi-resistentes isolados no Bairro Industrial, por gênero.

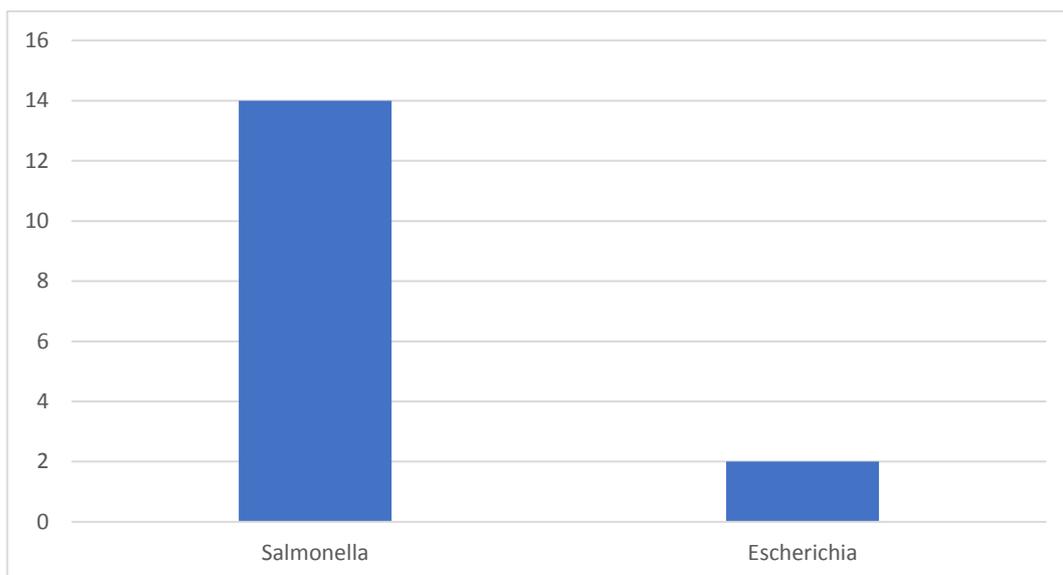


Figura 8. Gráfico da quantidade total de gêneros multi-resistentes isolados aos cinco antibióticos testados, no bairro Industrial, Aracaju, Sergipe.

### 5.3.2 Bairro Salgado Filho

No bairro Salgado Filho foram encontrados sete gêneros (Tabela 5), no primeiro ponto de coleta os isolados foram identificados até o gênero: (5) *Escherichia*, identificadas até o nível de espécie *Escherichia coli*, (2) *Klebsiella*, espécie *Klebsiella pneumoniae*, (3) *Proteus*, espécie *Proteus vulgaris*, (12) *Salmonella*, (1) *Shigella*, espécie *Shigella dysenteriae*. No segundo ponto: (1) *Enterobacter*, (3) *Escherichia*, espécie *Escherichia coli*, (1) *Hafnia*, (2) *Klebsiella*, espécie *Klebsiella pneumoniae*, (1) *Proteus*, espécie *Proteus vulgaris*, (6) *Salmonella*, (2) *Shigella*, espécie *S. dysenteriae* e *S. somei*.

Gênero	Nº de isolados
<b>Enterobacter</b>	1
<b>Escherichia</b>	8
<b>Hafnia</b>	1
<b>Klebsiella</b>	4
<b>Proteus</b>	4
<b>Salmonella</b>	18

<b>Shigella</b>	3
<b>Total</b>	39

Tabela 5. Microrganismos multi-resistentes isolados no Bairro Salgado Filho, por gênero.

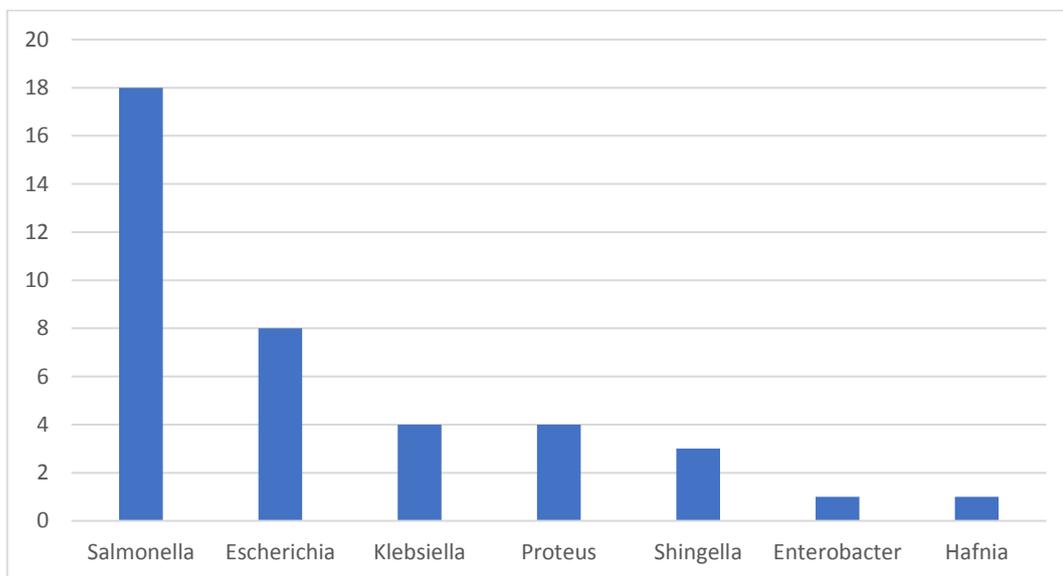


Figura 9. Gráfico da quantidade total de gêneros multi-resistentes isolados aos cinco antibióticos testados, no bairro Salgado Filho, Aracaju, Sergipe.

### 5.3.3 Bairro Jardins

No bairro Jardins foram encontrados quatro gêneros (Tabela 6), no primeiro ponto de coleta os isolados foram identificados até o gênero: (1) Klebsiella, identificada até o nível de espécie *Klebsiella pneumoniae*, (1) Proteus, espécie *Proteus vulgaris*, (2) Salmonella, (1) Shigella, *Shigella dysenteriae*. No segundo ponto: (1) Proteus, espécie *Proteus vulgaris*, (2) Salmonella.

<b>Gênero</b>	<b>Nº de isolados</b>
<b>Klebsiella</b>	1
<b>Proteus</b>	2
<b>Salmonella</b>	4
<b>Shigella</b>	1
<b>Total</b>	8

Tabela 6. Microrganismos multi-resistentes isolados no Bairro Jardins, por gênero.

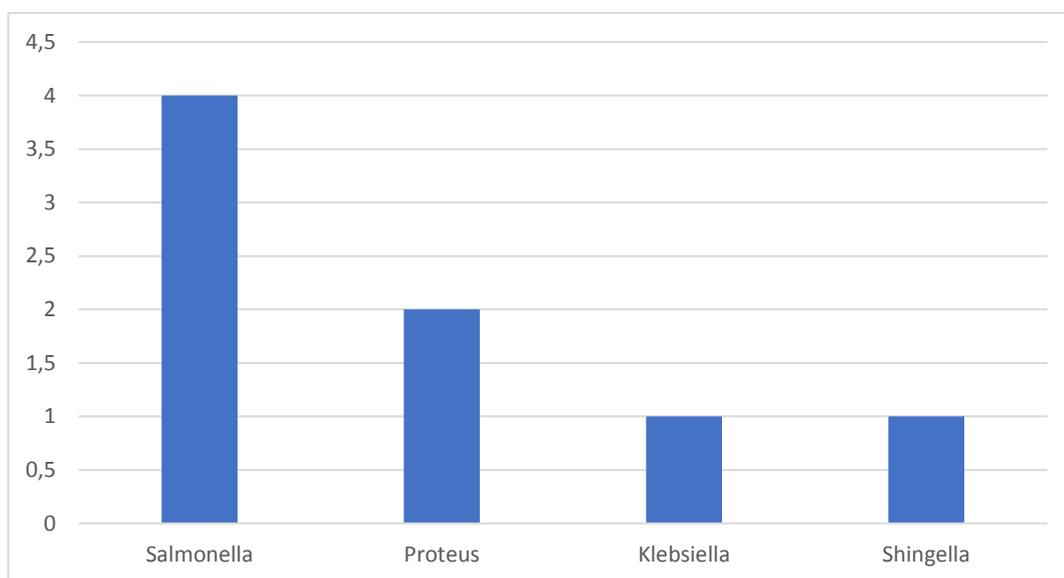


Figura 10. Gráfico da quantidade total de gêneros multi-resistentes isolados aos cinco antibióticos testados, no bairro Jardins, Aracaju, Sergipe.

#### 5.3.4 Bairro Santa Maria

No bairro Santa Maria foram encontrados cinco gêneros (Tabela 7), no primeiro ponto de coleta os isolados foram identificados até o gênero: (1) Klebsiella, espécie *Klebsiella pneumoniae*, (1) Salmonella, (1) Proteus, espécie *Proteus vulgaris*, (1) Shigella, espécie *Shigella sonnei*. No segundo ponto: (1) Escherichia, espécie, *Escherichia coli*, (1) Proteus, espécie *Proteus vulgaris*, (2) Salmonella.

Gênero	Nº de isolados
Escherichia	1
Klebsiella	1
Proteus	2
Salmonella	3
Shigella	1
<b>Total</b>	<b>8</b>

Tabela 7. Microrganismos multi-resistentes isolados no Bairro Santa Maria, por gênero.

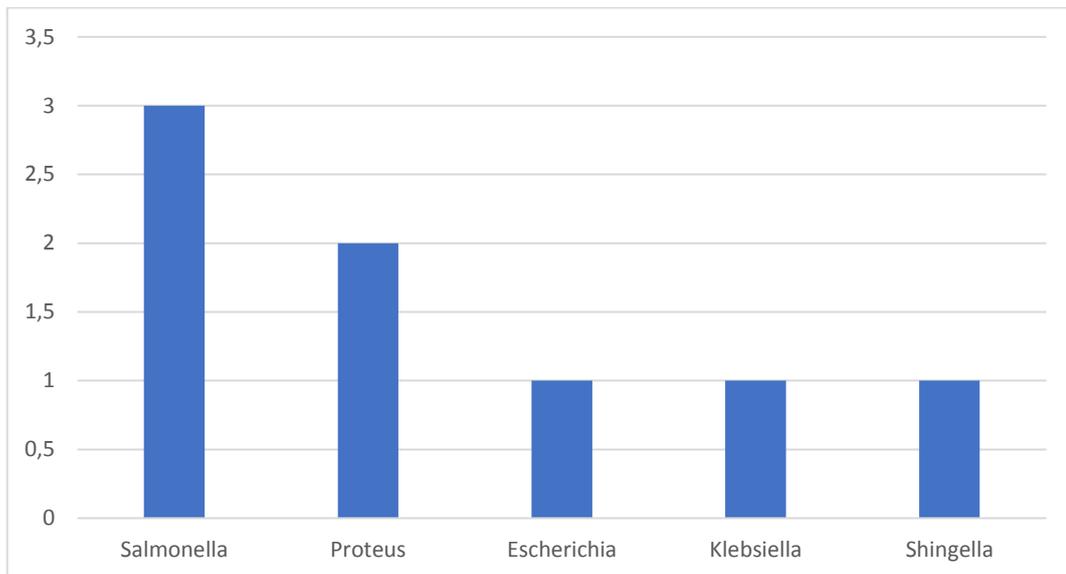


Figura 11. Gráfico da quantidade total de gêneros multi-resistentes isolados aos cinco antibióticos testados, no bairro Santa Maria, Aracaju, Sergipe.

### 5.3.5 Bairro Novo Paraíso

No bairro Novo Paraíso foram encontrados quatro gêneros (Tabela 8), no primeiro ponto de coleta os isolados foram identificados até o gênero: (2) *Escherichia*, espécie *Escherichia coli*, (1) *Klebsiella*, espécie *Klebsiella pneumoniae*, (1) *Proteus*, espécie *Proteus vulgaris*, (1) *Salmonella*. No segundo ponto: (3) *Klebsiella*, espécie *Klebsiella pneumoniae*, (1) *Salmonella*.

Gênero	N° de isolados
<b>Escherichia</b>	2
<b>Klebsiella</b>	4
<b>Proteus</b>	1
<b>Salmonella</b>	2
<b>Total</b>	9

Tabela 8. Microrganismos multi-resistentes isolados no Bairro Novo Paraíso, por gênero.

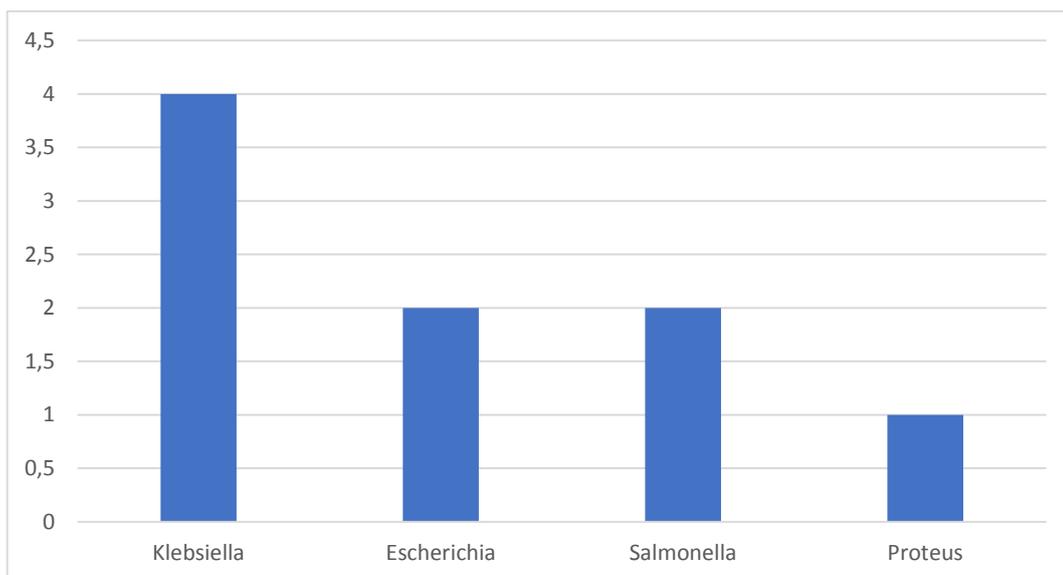


Figura 12. Gráfico da quantidade total de gêneros multi-resistentes isolados aos cinco antibióticos testados, no bairro Novo Paraíso, Aracaju, Sergipe.

#### 5.4 Multirresistência a cada antibiótico por bairro

Os isolados que apresentaram resistência (Tabela 9) nos bairros investigados (Primeiro ponto/Segundo ponto), por antibiótico separadamente, seguem abaixo:

- Bairro Industrial: (101/102) amoxicilina, (163/142) ampicilina, (47/25) azitromicina, (51/23) ciprofloxacina, e (95/65) tetraciclina.;

- Bairro Salgado Filho: (135/111) amoxicilina, (113/174) ampicilina, (87/107) azitromicina, (72/74) ciprofloxacina e (77/102) tetraciclina.;

- Bairro Jardins: (66/111) amoxilina, (94/152) ampicilina, (33/35) azitromicina, (43/31) ciprofloxacina, (56/37) tetraciclina.;

- Bairro Santa Maria: (53/71) amoxilina, (78/118) ampicilina, (29/32) azitromicina, (17/44) ciprofloxacina, (26/38) tetraciclina.;

- Bairro Novo Paraíso: (70/76) amoxilina, (133/133) ampicilina, (36/51) azitromicina, (32/90) ciprofloxacina, (47/87) tetraciclina.

N° e % de isolados resistentes					
Bairro \ Antibiótico	Industrial	Salgado Filho	Jardins	Santa Maria	Novo Paraíso
<b>Amoxicilina</b>	203 40,6%	246 49,2%	177 35,4%	124 24,8%	146 29,2%
<b>Ampicilina</b>	305 61%	287 57,4%	246 49,2%	196 39,2%	266 53,2%
<b>Azitromicina</b>	<b>72</b> 14,4%	194 38,8%	<b>68</b> 13,6%	<b>61</b> 12,2%	<b>87</b> 17,4%
<b>Ciprofloxacina</b>	74 14,8%	<b>146</b> 29,2%	74 14,8%	<b>61</b> 12,2%	122 24,4%
<b>Tetraciclina</b>	160 32%	179 35,8%	93 18,6%	64 12,8%	134 26,8%
<b>Multirresistente aos cinco antibióticos</b>	16 0,64%	39 1,56%	8 1,6%	8 1,6%	9 1,8%

Tabela 9. Isolados de enterobactérias multi-resistentes por cada antibiótico, na cidade de Aracaju, Sergipe. Em itálico está o maior valor do antibiótico com mais isolados resistentes em todos os bairros, a ampicilina. Em negrito está o menor valor do antibiótico com menos isolados resistentes por bairro.

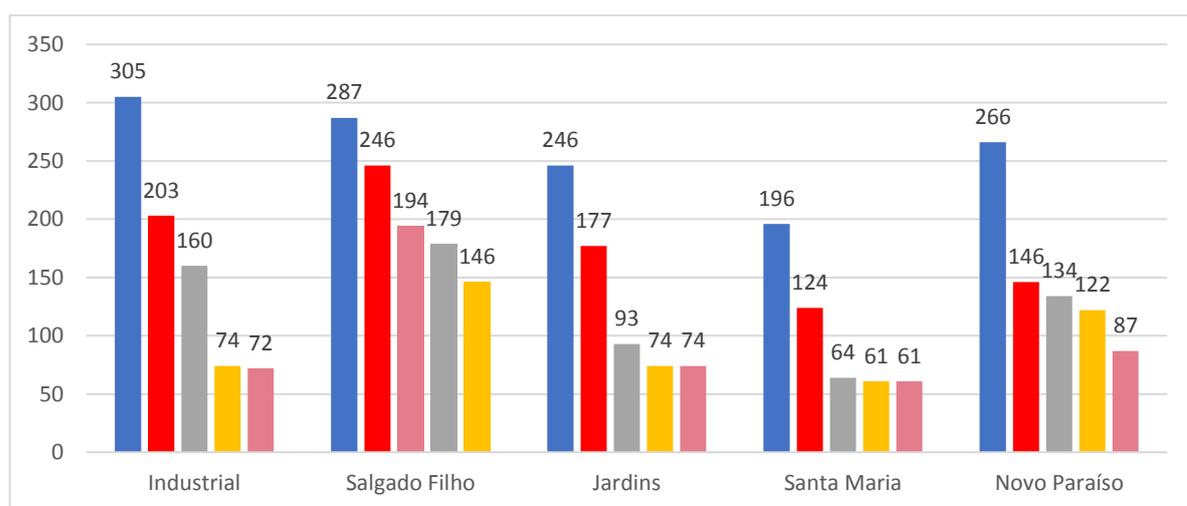


Figura 13. Gráfico da quantidade total de isolados multi-resistentes do o maior ao menor valor, por bairro da cidade de Aracaju, Sergipe. Azul, ampicilina; vermelho, amoxicilina; rosa, azitromicina; amarelo, ciprofloxacina; cinza, tetraciclina.

## 6 DISCUSSÃO

Os dados da ocorrência de bactérias da família Enterobacteriaceae multi-resistentes a antibióticos nos efluentes urbanos na cidade de Aracaju, Sergipe, foram obtidos a partir da coleta e isolamento de colônias. Os bairros analisados possuem múltiplos fatores distintos entre si, e estes provavelmente podem ser os fatores que influenciaram os resultados, alguns como: a localização do bairro, estando mais próximo ou não do local onde desemboca o efluente, o ponto de coleta, o perfil do bairro, podendo ser mais residencial ou comercial, as condições demográficas, socioeconômicas, a época do ano, dentre outros (SAKER et al., 2004; MADIGAN et al, 2016).

Com relação aos bairros coletados, todos possuem vários tipos de estabelecimentos comerciais e prestadores de serviços, como shoppings, supermercados e fábricas. Mas alguns deles possuem locais hospitalares, como o Industrial, Salgado Filho e Jardins, com hospitais e clínicas.

Dessa forma, o uso inapropriado de antimicrobianos aumenta a carga desses fármacos nos efluentes. Porém, eles não se restringem aos medicamentos, mas também podem ser encontrados em produtos de limpeza como detergentes e alvejantes, ou de higiene íntima, como sabonetes e cremes dentais. (MEIRELES, 2008; ACURCIO et al, 2013).

Os antibióticos que atingem os esgotos a partir da excreção humana após a administração de drogas antimicrobianas, como os do grupo penicilina, são excretados via renal ainda em torno de 70% inalterados pelo metabolismo. (KÜMMERER et al, 2000; MELO, DUARTE, SOARES, 2012).

Conseqüentemente, quando já presentes nas águas residuais, os antibióticos, por pressão seletiva, aumentam o número de bactérias resistentes ao fármaco por ela deparada, ou adquirem horizontalmente ou verticalmente (DAVISON, 1999).

A identificação dos isolados multi-resistentes aos cinco antibióticos testados através das provas bioquímicas, mostrou algumas similaridades e

diferenças. Os dois bairros com maior número disparado de isolados multirresistentes, foram o Salgado Filho e Industrial, respectivamente, ambos possuem comércio intenso, porém, o Salgado Filho possui diversas clínicas médicas, enquanto mesmo o Industrial contando com um hospital, este não se destaca no número de clínicas. Porém se diferem na proporção quantitativa, o Industrial ainda teve menos da metade de isolados multirresistentes.

Por outro lado, a identificação nos bairros Novo Paraíso, Jardins e Santa Maria, apresentou enorme similaridade número de isolados e em gêneros encontrados. Neste caso, as diferenças entre os bairros não os distanciaram em relação a ocorrência de enterobactérias nos canais de efluentes que os cortam.

Predominantemente, o gênero mais frequente foi a Salmonella, com muitos isolados representantes em todos os bairros. A exceção foi no bairro Novo Paraíso, sendo a Klebsiella o gênero mais representativo.

Com relação aos antimicrobianos testados, a ampicilina foi o antibiótico que teve mais isolados resistentes em todas as áreas de coleta, seguida da amoxicilina. Isto é provavelmente devido ao uso médico em larga escala e a longo tempo. Além do uso indevido influenciado principalmente pelo fator socioeconômico, em que muitos pacientes compram medicamento antibióticos de qualidade duvidosa, alterados, falsificados, com concentrações subterapêuticas do componente ativo, ou até vencidos (MEIRELES, 2008).

Os antibióticos azitromicina e a ciprofloxacina tiveram menos isolados resistentes, provavelmente, este fato pode ser explicado por estes serem usados com menos frequência, tanto pelo uso médico quanto pelo uso indevido dentre os antibióticos testados.

Tais resultados permitem avaliar uma resistência cada vez maior de enterobactérias para os cinco antibióticos testados (BATISTA, 2007). Tanto a localidade quanto o espaço de tempo não parece ser de maior relevância, desde que os parâmetros necessários sejam respeitados, como a maré e época de chuvas. No entanto, os dois bairros de maior representatividade com isolados multi-resistentes, Salgado Filho e Industrial, estão próximos de onde a maré desemboca nos corpos d'água. Além de ambos possuírem uma composição estrutural similar em questão do

grande número de edifícios residenciais e comerciais, com a presença marcante de estabelecimentos clínicos-hospitalares no bairro Salgado Filho.

## 7 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que há dois antibióticos que as enterobactérias apresentam maior resistência em todos os bairros, a ampicilina e a amoxicilina, são os mais comumente usados e de maior tempo na indústria farmacêutica. Sendo seguidos pela tetraciclina, a azitromicina e a ciprofloxacina, podendo ser uma tendência que tende a ser intensificada com o tempo.

Em comparação com um estudo anterior nos bairros Jardins e Industrial da cidade de Aracaju, Sergipe (BATISTA, 2007), onde identificaram isolados que apresentaram resistência a dois ou mais dos quatro dos antibióticos testados. Os gêneros encontrados no presente estudo em comum com o anterior foram: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*. E os outros gêneros encontrados apenas no presente estudo: *Hafnia*, *Proteus*, *Salmonella* e *Shigella*. Neste estudo não foi encontrado isolados do gênero *Pantoea* e *Pseudomonas*, que foram descritas em Batista (2007).

A natureza dos estabelecimentos que compõem a localidade e a condições ambientais são mais influentes que a localização em si, o clima e as condições socioeconômicas.

As diferentes localizações dos bairros e suas diversas composições estruturais influenciaram, principalmente, no número de diferentes gêneros encontrados, mas não no número total de isolados multirresistentes.

Em relação ao fluxo dos efluentes, este pode ser um fator determinante na flora bacteriana identificada. As águas residuais percorrem diversos bairros, com percursos mais ou longos e mais curtos.

Além da vegetação, que cerca algumas zonas destes efluentes, e pode ser um dos fatores que influenciam diretamente a flora bacteriana local.

Os hábitos indevidos da utilização de antibióticos indiscriminadamente, mesmo com a proibição recente da venda destes sem a prescrição médica, ainda é um costume difundido na população brasileira (ANVISA, 2018).

Quanto mais dados postos a luz do conhecimento, mais esclarecida será a população acadêmica, e no que tange o possível, transmitir este conhecimento para o cidadão, com o intuito de trazer mudanças benéficas para toda a sociedade.

Para que mudanças benéficas para a sociedade ocorram, é necessário que ações como a promoção a educação ambiental e a divulgação dos atuais dados. Além do suporte de uma legislação coerente, visando a importância do fenômeno que a resistência aos antimicrobianos representa.

O atual estudo sugere que mais gêneros de enterobactérias estão tornando-se resistentes aos antibióticos mais utilizados. E estão tornando-se mais resistentes a um número maior de antibióticos.

## REFERÊNCIAS

- ABRAAM, E.P., CHAIN, E. **An enzyme from bacteria able to destroy penicillin.** Nature, 146: 837, 1940.
- ACURCIO, F.A. **Medicamentos: Políticas, Assistência Farmacêutica, Farmacoepidemiologia e Farmacoeconomia.** Belo Horizonte, Coopmed. 2013.
- ANVISA – **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 01 de janeiro de 2018.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Plano Nacional para a Prevenção e o Controle da Resistência Microbiana nos Serviços de Saúde.** 2017.
- AZEVEDO I., ALBANO H., SILVA J., TEIXEIRA P. **Antibiotic Resistance of Enterobacteriaceae Isolated from The Domestic Food Related Environments.** Journal of Food Quality & Hazards Control. 51-55. 2015.
- BAPTISTA, M. G. F. M. **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos.** 42f. monografia (Dissertação de Mestrado) – Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa. 2013.
- BATISTA M.V.A., SANTOS M.I.S., MENEZES L.C.S., CARNEIRO M.R.P. & CÂNDIDO A.L. **ENTEROBACTERIACEAE E PSEUDOMANAS SP. MULTIRESISTENTES ISOLADAS DE EFLUENTES URBANOS EM ARACAJU, SERGIPE.** BIOLOGIA GERAL EXPERIMENTAL, 1:15:18. 2007.
- BAYLIS C., UYTENDAELE M., JOOSTEN H. & DAVIES A. **The Enterobacteriaceae and their significance to the food industry.** ILSI - International Life Sciences Institute. 2011.
- BLAIR, J. M. et al. **Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance.** Nature, v. 13, p. 42- 51. 2015.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - Office of Infectious Disease. **Antibiotic resistance threats in the United States - 2013.** Disponível em: <<http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013>>. Acesso em: 07 de março de 2018.

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

DAVISON, J. **Genetic exchange between bacteria in the environment**. Plasmid. 42(2):73-91. 1999.

FRANCO, O. **História da febre amarela no Brasil**. DNER, Div. de Cooperação e Divulgação, Rio de Janeiro. 1969.

HOWARD, D.H., SCOTT R.D., PACKARD R., JONES D. **The Global Impact of Drug Resistance**. Clinical Infectious Diseases. 36, 1. 2003.

JEKINS, C., RENTENAAR, R. J., LANDRAUD, L., BRISSE, S. **Enterobacteriaceae**. Infectious Diseases, 4<sup>o</sup>ed, vol. 2, p. 1565-1578. 2017.

KONEMAN, E.W., ALLEN, S.D., JANDA, W.M., SCHRECKENBERGER, P.C., WINN JUNIOR, W.C. **Diagnóstico microbiológico. Texto e Atlas Colorido**. 5 ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1465p. 2001.

KÜMMERER K., AL-AHMAD A., MERSCH-SUNDERMANN V. **Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test**. Chemosphere, vol 40, 701-710. 2000.

ORTHO BULLETS. **LINEAGE MEDICAL**. Disponível em: <<https://www.orthobullets.com/basic-science/9059/antibiotic-classification-and-mechanism>>. Acesso em: 07 de março de 2018.

KIRBY, W. M. M. **Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant staphylococci**. Science, 99:452-453. 1944.

KONEMAN, E.W., ALLEN, S.D., JANDA, W.M. **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 5.ed. Rio de Janeiro: MEDSi, 2001.

MAIOLI E., BANDETTINI R., BONA R., BOTTARO L.C., CAPUZZO R., DONO M., DUSI P.A., MAZZARELLO G.M., REALI S., SANTORIELLO L., SERRA D., USIGLIO D., MARCHESE A., DEBBIE E.A. **Epidemiological study on distribution and antibiotic susceptibility patterns of Enterobacteriaceae and non-fermenting**

**bacteria, isolated in Liguria and in a neighbouring area.** *Microbiologia Medica*, vol 23, 2. 2008.

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock.** 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

McGOWAN, J. E., TENOVER, F. C. **Control of antimicrobial resistance in the health care system.** *Infect. Dis. Clin. North. Am.*, 11:297-311. 1997.

MEIRELES, M. A. O. M. **Uso de Antimicrobianos e Resistência Bacteriana: Aspectos Socioeconômicos e Comportamentais e seu Impacto Clínico e Ecológico.** monografia (Especialização em Microbiologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2008.

MEIRELLES-PEREIRA F., PEREIRA, A.M.S., DA SILVA M.C.G., GONÇALVES V.D., BRUM P.R., CASTRO E.A.R., PEREIRA A.A., ESTEVES F.A. & PEREIRA J.A.A. **Ecological aspects of the antimicrobial resistance in bacteria of importance to human infections.** *Braz. J. Microbiol.*, São Paulo, vol 33, n 4, 287-293. 2002.

MELO, V. V., DUARTE, I. P., SOARES, A. Q. **Guia Antimicrobianos.** 1°.ed. Goiânia: Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (HC-UFG). 2012.

ORÚS, P. et al. **Increasing Antibiotic Resistance in Preservative-Tolerant Bacterial Strains Isolated from Cosmetic Products.** *International Microbiology*, n.18, p. 51-59. 2015.

PETERSON, L. R. **Squeezing the antibiotic balloon: the impact of antimicrobial classes on emerging resistance.** *Clin Microbiol Infect. Suppl* 5:4-16. 2005.

PUBLIC HEALTH ENGLAND. **Identification of Enterobacteriaceae.** UK Standards for Microbiology Investigations. 2015.

SAKER., L. S. et al. **Globalization and Infectious diseases: a review of the linkages.** UNICEF/UNDP/WORLD BANK/WHO Special Program for Research and Training in Tropical Diseases. 2004.

TRABULSI, L. R., ALTERTHUM, F. *Microbiologia.* 5°ed. São Paulo: Atheneu. 2008.

VENTOLA, C. L. **The Antibiotic Resistance Crisis - Part 1: Causes and Threats.** *P&T - Pharmacy and Therapeutics.* Vol. 40. n 4. p 277-283. 2015.

VIEIRA, D. A. P., FERNANDES, N. C. A. Q. **Microbiologia Geral**. Inhumas: IFG; Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria. 2012.

WELLINGTON E.M., BOXALL A.B., CROSS P., FEIL E.J., GAZE W.H., HAWKEY P.M., JOHNSON-ROLLINGS A.S., LEE N.M., OTTEN W., THOMAS C.M., WILLIAMS A.P. **The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria**. *The Lancet Infectious Diseases*. 13:155-165. 2013.