

DETECÇÃO FENOTÍPICA DE BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS PRODUTORAS DE CARBAPENEMASES EM EFLUENTE HOSPITALAR NA AMAZÔNIA^I.

PHYNOTYPIE DETECTION OF CARBAPENEMASE-PRODUCING GRAM-NEGATIVE BACTÉRIA IN A HOSPITAL EFLUENTE IN THE AMAZON STATE OF PARÁ^I.

Graziele Talia Pereira da Silva ^{II}, Iury Kezia Lustosa da Silva ^{III}, Jhessica Lorryanny Silva Carneiro ^{III}, Edlainny Araujo Ribeiro ^{III}, Jose Douglas da Gama Melo ^{III}, Rodrigo Alves de Oliveira ^{III}.

RESUMO: A resistência a antimicrobianos é um problema de saúde pública emergente, infecções que eram tratadas com relativa facilidade podem voltar a matar cerca de 10 milhões de pessoas até 2050. Elementos móveis transferidos horizontalmente são associados à disseminação de genes de resistência a antibióticos em ambiente hospitalar e microbiota ambiental. Determinar as características fenotípicas de resistência aos antimicrobianos de bactérias gram-negativas isoladas em efluente hospitalar em um hospital de média e alta complexidade na Amazônia. Trata-se de um estudo do tipo descritivo, realizado em um hospital que presta serviços de média e alta complexidade. As coletas contaram com uma amostra diária de antes e após o tratamento do esgoto, o que resultou em 50 análises. A detecção fenotípica e perfil de suscetibilidade foram realizados seguindo métodos já validados. Das 50 amostras analisadas, todas apresentaram crescimento $\geq 10^5$ UFC/ml. Com maior frequência antes do tratamento foram detectados *Klebsiella ozaenae* (n=6), *Citrobacter diversus* (n=5) e *Escherichia coli* (n=4). Já após o tratamento, foram detectados com maior frequência isolados de *Klebsiella ozaenae* (n=8), *P. aeruginosa* (n=3), *Salmonella sp.* (n=3) e *A. baumannii* (n=1). Foram detectadas cinco cepas produtoras de Carbapenemases no teste fenotípico, apresentando CIM para imipenem e meropenem ≥ 2 mcg/ml. Foi possível detectar a presença de bactérias gram-negativas que fenotipicamente expressaram a presença de carbapenemases. Cabe ressaltar que se disseminados para o meio ambiente essas bactérias podem alterar a microbiota ambiental e causar grandes danos à saúde das pessoas que utilizam recursos naturais.

Palavras-chave: Bactérias gram-negativas. Multirresistência. Esgoto hospitalar.

Carbapenemases

Datada aprovação: 13 de dezembro de 2019.

^IArtigo apresentado como requisito parcial para conclusão do curso de graduação em Biomedicina da Faculdade de Ensino Superior da Amazônia Reunida- FESAR, ano 2019.

^{II}Acadêmico do curso de Biomedicina da Faculdade de Ensino Superior da Amazônia Reunida- FESAR. E-mail: graziellythalya@gmail.com

^{III}Acadêmico do curso de Biomedicina da Faculdade de Ensino Superior da Amazônia Reunida- FESAR. E-mail: kezialustosa@hotmail.com

^{III}Acadêmico do curso de Biomedicina da Faculdade de Ensino Superior da Amazônia Reunida- FESAR. E-mail: jhessicalooh@gmail.com

^{III}Docente da faculdade de Ensino Superior a Faculdade de Ensino Superior da Amazônia Reunida- FESAR. E-mail: dyy_araujo77@hotmail.com

^{III}Docente da faculdade de Ensino Superior a Faculdade de Ensino Superior da Amazônia Reunida- FESAR. E-mail: melojd3@gmail.com

^{III}Docente da faculdade de Ensino Superior a Faculdade de Ensino Superior da Amazônia Reunida- FESAR. E-mail: rodrigo.alves.biomedico@hotmail.com

Deteccção fenotípica de bactérias Gram-negativa produtoras de carbapenemases em efluente hospitalar na Amazônia no Estado do Pará, Brasil.

Phenotypic detection of carbapenemase-producing gram-negative bacteria in a hospital effluent in the Amazon State of Pará.

Graziele Talia Pereira Da Silva; Iury Kezia Lustosa Da Silva; Jhessica Lorryanny Silva Carneiro; Jose Douglas da Gama Melo; Edlainny Araujo Ribeiro*

Faculdade de Ensino Superior da Amazônia Reunida curso Biomedicina, Avenida Brasil, N° 1435 Alto Paraná CEP 68550-0325 Redenção -PA.

*Autor correspondente: dyy_araujo77@hotmail.com

Resumo

A resistência a antimicrobianos é um problema de saúde pública emergente, infecções que eram tratadas com relativa facilidade podem voltar a matar cerca de 10 milhões de pessoas até 2050. Elementos móveis transferidos horizontalmente são associados à disseminação de genes de resistência a antibióticos em ambiente hospitalar e microbiota ambiental. Determinar as características fenotípicas de resistência aos antimicrobianos de bactérias gram-negativas isoladas em efluente hospitalar em um hospital de média e alta complexidade na Amazônia. Trata-se de um estudo do tipo descritivo, realizado em um hospital que presta serviços de média e alta complexidade. As coletas contaram com uma amostra diária de antes e após o tratamento do esgoto, o que resultou em 50 análises. A detecção fenotípica e perfil de suscetibilidade foram realizados seguindo métodos já validados. Das 50 amostras analisadas, todas apresentaram crescimento $\geq 10^5$ UFC/ml. Com maior frequência antes do tratamento foram detectados *Klebsiella ozaenae* (n=6), *Citrobacter diversus* (n=5) e *Escherichia coli* (n=4). Já após o tratamento, foram detectados com maior frequência isolados de *Klebsiella ozaenae* (n=8), *P. aeruginosa* (n=3), *Salmonella sp.* (n=3) e *A. baumannii* (n=1). Foram detectadas cinco cepas produtoras de Carbapenemases no teste fenotípico, apresentando CIM para imipenem e meropenem ≥ 32 mcg/ml. Foi possível detectar a presença de bactérias gram-negativas que fenotipicamente expressaram a presença de carbapenemases. Cabe ressaltar que se disseminados para o meio ambiente essas bactérias podem alterar a microbiota ambiental e causar grandes danos à saúde das pessoas que utilizam recursos naturais.

Palavras-chave: Bactérias gram-negativas. Multirresistência. Esgoto hospitalar. Carbapenemases.

Abstract

The resistance to antimicrobials is an emerging public health problem, infections that were treated easily can again kill about 10 million people by 2050. Moving elements transferred horizontally are associated to the dissemination of the resistance gene to antibiotics in

ahospital environment and environmental microbiota. Describing the bacterial susceptibility profile of isolated Gram-negative in samples from the sewage treatment system of a hospital in Amazônia. It's about a descriptive, prospective, cross-sectional study with a quantitative approach, performed in a hospital that provides services of medium and high complexity. The collections counted with a daily sample of before and after the sewage treatment, which resulted in 50 analyzes. The phenotypic detection and the susceptibility profile were performed following methods already validated. Between the 50 samples analyzed, they all presented growth $\geq 10^5$ UFC/ml. With higher frequency in the samples of before the treatment were detected *Klebsiella ozaenae* (n=6), *Citrobacter diversus* (n=5) and *Escherichia coli* (n=4). As for the isolated of after the treatment, were detected with higher frequency isolated of *Klebsiella ozaenae* (n=8), *P. aeruginosa* (n=3), *Salmonella sp.* (n=3) e *A. baumannii* (n=1). As for the determination of the Inhibitory Minimum Concentration (CIM) were detected five producing strains of Carbapenemases in the phenotypic test, presenting CIM for imipenem e meropenem ≥ 32 mcg/ml. It was possible to detect the presence of gram-negative bacteria that phenotypically expressed the presence of enzymes that inactivated medicines used as one of the last therapeutic options in cases of serious infections. It is worth mentioning that if disseminated to the environment these bacteria can change the environmental microbiota and consequently cause great damage to the health of the people that use natural resources, as the water that in this region generally is consumed without prior treatment.

Keywords: Gram-negative bacteria. Multiresistance. Hospital sewage. Carbapenemases.

Introdução

A resistência a antimicrobianos é um problema de saúde pública emergente, infecções que eram tratadas com relativa facilidade podem voltar a matar cerca de 10 milhões de pessoas até 2050¹. As bactérias que possuem resistência a três ou mais classes de antimicrobianos são denominadas multirresistentes (MDRs)².

Estima-se que em todo o mundo 700 mil mortes estão associadas às infecções causadas por microrganismos MDRs¹. Estudo realizado em um hospital em Porto Alegre – RS, demonstrou alta mortalidade associada a sepse causada por microrganismos MDRs, das quais, (63,8%) foram causadas por Enterobactérias Resistentes aos Carbapenêmicos (ERC), seguida por bactérias Gram-negativas não fermentadoras resistentes a carbapenêmicos (60,7%), Enterobactérias produtoras de Beta-lactamases de Espectro Estendido (ESBL) (36,4%)³.

Altos índices de resistência bacteriana aos antimicrobianos foram relatados em vários estados brasileiros. No Rio Grande do Sul, de 70 isolados analisados (95,7%) foram cepas ERC. Em São Luís – MA, (36,4%) das cepas de *P. aeruginosa* provenientes de três hospitais foram resistentes ao imipenem⁴⁻⁵. Já em Goiânia a taxa de resistência detectada foi (76,8%) para carbapenêmicos em isolados de *A. baumannii*, essa resistência também foi detectada em Belém⁶⁻⁷. Porém, a maioria dos estudos sobre essa temática são provenientes das regiões sul e sudeste do Brasil, evidenciando a necessidade de novos estudos que tragam dados sobre essa problemática na região norte do país⁴.

Esses índices podem ser associados a mutações ou com maior frequência recombinações genéticas que ocorrem no DNA bacteriano. Os genes que configuram resistência às bactérias quase sempre fazem parte do DNA plasmidial, que pode ser transferido entre microrganismos da mesma espécie ou de espécies distintas⁸. Elementos móveis transferidos horizontalmente são associados à disseminação de genes de resistência a antibióticos em ambiente hospitalar e microbiota ambiental, contribuindo para a emergência de novas cepas resistentes aos antimicrobianos de amplo espectro^{8,9}.

É evidente que a multirresistência é um problema emergente e que precisa ser tratada de forma holística, portanto, não se deve considerar apenas a disseminação de genes que configuram resistência dentro do ambiente hospitalar¹⁰. Os hospitais são potenciais fontes

de disseminação de genes de resistência para o ambiente, devido ao uso exacerbado de antimicrobianos, que podem atingir corpos d'água utilizados para fins domésticos, por meio de esgotos municipais, lodo de esgoto e solo ¹¹⁻¹².

Cabe ressaltar que mesmo após o processo de tratamento de águas residuais por cloração, as bactérias podem se proliferar no sistema de distribuição, evidenciando a possibilidade de disseminação de microrganismos MDRs para a comunidade^{9,12}. Além disso, os elementos patogênicos detectados em efluentes hospitalares estão em concentrações suficientes para causar doenças e contaminações¹¹. Dessa forma, segundo a WHO¹³, 88% das mortes por diarreias no mundo são causadas pelo saneamento inadequado. Esse problema é comum em cidades pequenas, que tem sua fonte de abastecimento proveniente de rios e fontes próximas a desague de efluentes domésticos e hospitalares.

Quando altas concentrações de antimicrobianos são desprezadas em efluentes estes podem executar pressão seletiva sobre os microrganismos, elevando assim a detecção de microrganismos mais virulentos incluindo isolados bacterianos MDRs entre a microbiota ambiental¹⁴. Dentre os principais microrganismos patogênicos isolados em efluentes hospitalares, destacam-se os bacilos Gram-negativos (BGNs) como as enterobactérias¹⁵.

Estes microrganismos estão envolvidos em processos intrínsecos ou adquiridos que conferem a eles fatores de virulência, e podem apresentar mecanismos de resistência aos antimicrobianos, como, alteração da permeabilidade da membrana, bombas de efluxo, alteração nas proteínas de ligação a penicilina (PBP's) e a produção de enzimas com capacidade hidrolítica, sendo a produção de beta-lactamases a principal forma de resistência desenvolvida pelos BGNs¹⁶. Essas enzimas atuam hidrolisando o anel β -lactâmico pela quebra da ligação amida, presente por exemplo, nos carbapenêmicos, perdendo a capacidade de inibir a síntese da parede celular bacteriana⁷.

Portanto, considerando que os efluentes hospitalares podem conter altas concentrações de antimicrobianos e apresentar BGNs extremamente patogênicos com resistência a múltiplas drogas, que se disseminados para o meio ambiente podem alterar a microbiota ambiental. E por consequência podem causar grandes danos à saúde das pessoas que utilizam recursos naturais, como a água que nesta região com frequência é consumida sem tratamento prévio. Tornou-se relevante a realização deste estudo, para obtenção do conhecimento sobre o perfil de suscetibilidade destes microrganismos e em face a esses conhecimentos propor

melhorias para qualidade da assistência à saúde e assim contribuir para redução da disseminação ambiental de microrganismos MDRs.

Diante do exposto, a presente pesquisa teve por objetivo determinar as características fenotípicas de resistência aos antimicrobianos de bactérias gram-negativas isoladas em efluente hospitalar em um hospital de média e alta complexidade na Amazônia.

Materiais e métodos

1. Tipo de estudo, local e população

Trata-se de um estudo do tipo descritivo, prospectivo, transversal com abordagem quantitativa realizado em um hospital público que presta serviços de média e alta complexidade a pacientes de 15 municípios do sudeste do Estado do Pará, Brasil. Esses quinze municípios pertencem ao 12 ° Centro Regional de Saúde (Região do Araguaia) do qual apresenta uma população estimada de 557.913 mil habitantes¹⁷.

Todo efluente produzido pelo hospital é canalizado para 4 câmaras de filtros anaeróbios e posteriormente 2 câmaras de fossas sépticas. Na câmara de saída do efluente há um gerador permanente, gravitacional é adicionada a solução de 50 litros de hipoclorito de sódio a 10%, mais 20 litros de solução concentrada de eucalipto, diluídos em 430 litros de água. Tal quantidade (500 litros de solução) é diluída a proporção de 100 litros/dia, durando 5 dias. Após o tratamento, os dejetos hospitalares são despejados em sistemas de esgoto¹⁸.

2. Coleta e procedimento técnico para determinação de gênero e espécie bacteriana

As coletas das amostras ocorreram no mês de setembro de 2019, foram coletadas uma amostra diária antes do tratamento do esgoto e outra após, o que resultaram em cinco amostras semanais de cada local, totalizando 50 análises. Para a coleta das amostras foi utilizado um becker de vidro previamente esterilizado, as amostras foram coletadas em dois pontos: antes e após o tratamento do esgoto. Após a obtenção das amostras, foram armazenadas em recipientes estéreis e conservadas dentro de uma caixa de isopor com gelo até o laboratório onde ocorreu o processamento¹⁹.

Foram transferidos 10 mL da amostra para o tubo tipo Falcon com uma pipeta estéril e centrifugados durante 10 minutos/3000rpm. Após a retirada do sobrenadante foi feita a suspensão do sedimento em 5mL de meio *Brain Heart Infusion Broth* (BHI) e incubadas à

35 ± 2 °C por 12 a 18 horas¹⁹. Posteriormente foi semeada em Ágar Sangue e realizada a coloração de Gram. Os isolados Gram-negativos ágar MacConkey e incubadas mais 24 horas à 35°C+/-2°C. A identificação do gênero e espécie foi realizada por meio de provas de oxidase e método Bactray I, II e III ²⁰.

3. Determinação do perfil de suscetibilidade frente aos antimicrobianos

O teste de sensibilidade antimicrobiana foi realizado em ágar Mueller-Hinton pelo método do disco-difusão conforme descrito pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*²¹. Foram testados os seguintes antibióticos: ampicilina (10 µg), amicacina (30 µg), cefepime (30 µg), tetraciclina (30 µg), ceftriaxona (30 µg), amoxicilina / clavulânaco (30 µg), sulfazotrim (25 µg), ciprofloxacina (05 µg), cefazolina (30 µg), gentamicina (10 µg), aztreonam (30 µg), piperacilina / tazobactam (100/10 µg), cefoxitina (30 µg), ceftazidima (30 µg), cloranfenicol (30 µg), imipenem (10 µg), meropenem (10 µg). Para este estudo, os isolados com resistência intermediária foram considerados como resistentes.

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi definida pela fita de E-teste®, para os isolados classificados como resistente ao imipenem e meropenem. Como controle foi usado a cepa padrão *Escherichia coli* ATCC 25922. Foi interpretada de acordo com limites estabelecidos pelo FDA (sensível ≤ 2 µg/mL e resistente ≥ 8 µg/mL) ^{22,23}.

4. Detecção de Carbapenemases

Para detecção fenotípica de carbapenemase foi utilizado o kit Carbapenembac™ (PROBAC)²⁴.

5. Análise de dados

Os dados foram tabulados utilizando o programa *Microsoft Office Excel* versão 2013 com o emprego de filtros e consolidados por meio da codificação apropriada de cada uma das variáveis no estudo e o programa *BioEst* 5.3. A análise foi realizada utilizando-se de testes de estatística descritiva por meio de distribuições absolutas e percentuais.

6. Aspectos éticos

Seguindo as diretrizes da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, o projeto de pesquisa não foi submetido ao Comitê de Ética, isso porque o enfoque do estudo foi apenas alíquotas do efluente hospitalar. Entretanto, atendemos às determinações contidas na Resolução 441/12, ficando claro que durante a realização das análises todas as amostras serão armazenadas em biorrepositório e posteriormente esterilizadas e descartadas adequadamente.

Resultados

Foram analisadas 50 amostras de efluente hospitalar no mês de setembro de 2019, todas apresentaram crescimento $\geq 10^5$ UFC/ml. Nas amostras de água obtidas antes do tratamento, foram identificados, principalmente, *Klebsiella ozaenae* (n=6), *Citrobacter diversus* (n=5) e *Escherichia coli* (n=4); e após o tratamento da água dos efluentes foram identificados *Pseudomonas aeruginosa* (n=3), *Salmonella sp.* 12% (n=3) e *Acinetobacter baumannii* 4% (n=1) (figura 1).

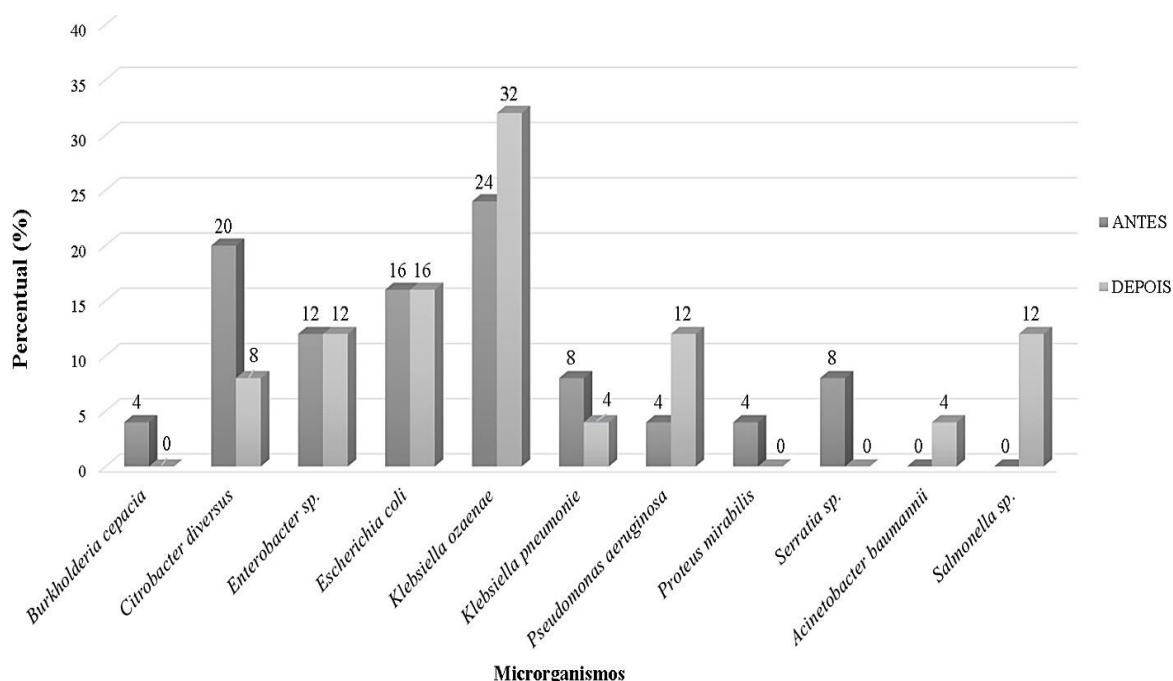


Figura 1. Gráfico com a frequência dos microrganismos isolados antes e depois do tratamento de esgoto em hospital no Sudeste do Estado do Pará, Brasil, 2019.

Quanto ao perfil de suscetibilidade, observou-se que os microrganismos gram-negativos apresentaram baixa sensibilidade para os antimicrobianos pertencentes as classes das tetraciclinas 18%, seguido por penicilinas 14% e quinolonas 26%. Para as cefalosporinas, foi observada variação dependendo da droga utilizada, apresentando percentual médio de sensibilidade para cefepima de 62%, cefriatrixona 30%, cefazolina 28%, cefoxitina 50% e ceftazidima 50%.

Por fim, os carbapenêmicos imipenem e meropenem apresentaram alta sensibilidade para as cepas testadas 86% e 88%, exceto para as MDRs. Os isolados identificados nas amostras obtidas de efluentes após o tratamento apresentaram maiores índices resistência a todas as classes de antimicrobianos, quando comparadas com os microrganismos isolados antes do tratamento (tabela 1).

Foram detectados isolados com perfil de resistência a múltiplas drogas, com destaque para resistência aos carbapenêmicos 10% (n=5), dentre esses, a mais frequente foi *Pseudomonas aeruginosa* (n=3), seguida por *Burkholderia cepacia* (n=1) e *Acinetobacter baumannii* (n=1) apresentando CIMs elevadas para imipenem e meropenem $\geq 32\text{mg/ml}$. Além disso, todos os isolados com resistência a carbapenêmicos apresentaram positividade no teste fenotípico para produção de carbapenemases.

Tabela 1. Perfil de resistência de isolados bacterianos gram-negativos detectados em amostras de esgoto antes e depois do tratamento, Brasil, 2019

		ANTIMICROBIANOS (%) RESISTÊNCIA																
ISOLADOS	LOCAL	AMP	AMI	CPM	TET	CRO	AMC	SUT	CIP	CFZ	GEN	ATM	PIT	CFO	CAZ	CLO	IPM	MPM
<i>Escherichia coli</i>	A (n=4)	25	0	0	25	0	0	50	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	D (n=4)	50	0	0	75	50	25	50	50	25	0	0	25	0	0	25	0	0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	A (n=0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	D (n=1)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>Burkholderia cepacia</i>	A (n=1)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	D (n=0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter diversus</i>	A (n=5)	100	0	40	100	100	60	80	80	80	40	60	0	60	40	40	0	0
	D (n=2)	100	0	100	100	50	50	100	100	33,3	0	33,3	0	50	100	0	50	0
<i>Enterobacter sp.</i>	A (n=3)	100	33,3	100	100	100	100	100	100	50	33,3	50	0	100	100	66,6	0	0
	D (n=3)	100	0	66,6	100	66,6	100	66,6	100	66,6	0	0	0	66,6	66,6	66,6	0	0
<i>Klebsiella ozaenae</i>	A (n=6)	100	0	0	66,6	50	16,6	66,6	50	83,3	33,3	66,6	0	33,3	33,3	25	0	0
	D (n=8)	100	0	25	75	75	87,5	87,5	87,5	100	37,5	62,5	0	25	50	33,3	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	A (n=2)	100	0	0	100	0	100	100	100	100	50	100	0	50	100	0	0	0
	D (n=1)	100	0	50	100	100	100	100	100	100	100	100	0	100	100	100	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	A (n=1)	100	100	100	100	100	100	100	66,6	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	D (n=3)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>Serratia sp.</i>	A (n=2)	50	0	50	100	50	100	50	100	50	0	100	0	100	50	50	0	0
	D (n=0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Salmonella sp.</i>	A (n=0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	D (n=3)	100	33,3	0	66,6	100	100	33,3	66,6	100	0	33,3	0	33,3	0	0	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	A (n=1)	0	0	100	100	100	0	0	0	100	0	0	0	100	100	0	0	0
	D (n=0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Legenda: (%) Dados numéricos demonstrados em porcentagem, representa a frequência de resistência dos isolados frente aos antimicrobianos. A: Antes; D: Depois; AMP: Ampicilina; AMI: Amicacina; CPM: Cefepima; TET: Tetraciclina; CRO: Ceftriaxona; AMC: Amoxilina+Clavulanato; SUT: Sulfametoxazol+Trimetoprim; CIP: Ciprofloxacina; CFZ: Cefazolina; ATM: Aztreonam; PIT: Piper./Tazobactam; CFO: Cefoxitina; CAZ: Ceftazidima; CLO: Cloranfenicol; IPM: Imipenem; MPM: Meropenem.

Discussão

Os hospitais são considerados *nichos* ecológicos para bactérias resistentes, há evidências da presença desses microrganismos antes e após tratamento do esgoto hospitalar²⁵. Nos resíduos hospitalares há uma variedade de substâncias que causam impacto sobre os recursos hídricos destinados ao consumo humano, especialmente quando os sistemas de abastecimento de água e esgoto são precários²⁶.

Dessa forma, o tratamento eficaz do efluente é indispensável, no local de coleta desse estudo utiliza-se o filtro biológico anaeróbio através de fossas sépticas. O princípio desse tratamento é utilizar os próprios microrganismos anaeróbios presentes no esgoto na decomposição da matéria orgânica, transformando-as em substâncias inorgânicas estáveis²⁷. Posteriormente, ocorre a dissolução do hipoclorito de sódio a 10% e eucalipto na etapa final através de um gerador gravitacional, este tem a função de inibir as reações enzimáticas, desnaturando as proteínas e inativando o ácido nucléico dos microrganismos^{28,29}.

Nesta pesquisa, verificou-se alta prevalência de bactérias pertencentes a família *Enterobacteriaceae* antes do tratamento, isso se deve a sua fácil sobrevivência em ambientes *hostis*, além de já estarem presentes em águas, solos, plantas e no trato intestinal de seres humanos³. Correspondem a maior família de microrganismos gram-negativos de importância clínica, a *Escherichia coli* é responsável por cerca de (33%), (40%) e (90%) das Infecções do Trato Urinário (ITUs) em homens, mulheres e crianças, respectivamente^{30,31}.

Essas bactérias também são causadoras de doenças entéricas, um estudo sobre a prevalência de diarreia infecciosa causada por *Salmonella* sp, revelou que entre os anos de 2013 a 2015 os casos aumentaram cerca de (152%) em média. Isso após inundação de um rio que servia para deságue de esgoto hospitalar³². Dessa forma, cabe ressaltar, que a região norte possui as maiores proporções de internações anuais por doenças diarreicas (7,5 internações por 1000 habitantes), demonstrando que o saneamento básico é incompatível com o desenvolvimento da região. Em Belém no Estado do Pará as doenças diarreicas e gastroenterites apresentaram a maior taxa de mortalidade (2,8/100 mil pessoas)^{33,34}.

Já com relação às análises de após o tratamento de esgoto foi isolado bactérias altamente patogênicas como a *P. aeruginosa*, *Salmonella* spp., *B. cepacia* e *A. baumannii*. Esse resultado pode estar associado à enorme pressão seletiva no meio ambiente pela possível presença de antimicrobianos no efluente. Podem ser citadas também como preditores para esses achados as condições de temperatura, pH, concentração de bactérias e

o tempo de exposição, que favorecem as trocas de informações genéticas²⁵. Em um estudo foi possível detectar concentrações consideráveis de antimicrobianos nos efluentes hospitalares, variando de $21,2 \pm 0,13$ a $4886 \pm 3,80$ ng/L no verão e de $497 \pm 3,66$ a $322.735 \pm 4,58$ ng/L no inverno³⁵.

Alguns dos microrganismos identificados por meio desse estudo são considerados oportunistas em infecções e outros como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* são considerados prioritário para o controle e prevenção das infecções relacionadas com assistência em saúde^{36,37}. São considerados assim pela sua alta capacidade de se adaptar, adquirir e disseminar genes que configuram resistência aos antimicrobianos^{36,37}. O heterotrofismo e a versatilidade metabólica da *P. aeruginosa* foram confirmados em um estudo que identificou a presença do gene *qacEΔ1* em 90% das cepas isoladas em efluente hospitalar responsável pela resistência a desinfetantes como o quaternário amônio^{25, 38}.

Em hospitais, infecções por *Acinetobacter* sp., *Salmonella* spp. e principalmente *Pseudomonas aeruginosa*, são frequentemente isolados de pacientes colonizados ou acometidos por Infecções Relacionas a Assistência e Saúde (IRAS) e estão associadas ao contato com água e soluções antissépticas³⁹. Essas infecções ocorrem principalmente em pacientes com doença de base severa e pior prognóstico que são submetidos a procedimentos invasivos e internados em UTI. Em um centro de tratamento de queimaduras 404 pacientes foram admitidos em leitos de UTI, dentre eles, (64,9%) foram acometidos por IRAS durante o tempo de internação e com relação a etiologia *Acinetobacter baumannii* foi detectado em (93,4%) dos casos, seguido por *Pseudomonas aeruginosa* em (50,2%) e *Klebsiella* spp. em (23,1%)⁴⁰.

Além dos malefícios inerentes a saúde de pacientes internados, a presença dessas bactérias em esgoto hospitalar em associação com as matérias orgânicas se torna altamente capazes de mudar o pH e levar a eutrofização, prejudicando a biota marinha. Esses microrganismos também foram isolados de frutos do mar e de peixes marinhos na China. Nesse estudo até (37%) dos peixes, tartarugas e camarões comercializados em mercado livre estavam colonizados por bactérias resistentes a antimicrobianos²⁶.

Com relação ao perfil de suscetibilidade foi possível verificar no presente estudo que as cepas isoladas após o tratamento são mais resistentes aos antimicrobianos testados e algumas foram produtoras de carbapenemases. De forma semelhante, um estudo realizado na Alemanha, com águas residuais urbanas hospitalares detectou 475 isolados, dentre eles,

P. aeruginosa (11%), *Klebsiella* spp. (21%) e *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* (19%)⁴¹.

Nesse mesmo estudo, os isolados apresentaram resistência elevada para cefalosporinas de 3ª geração (cefotaxima e ceftazidima) (99,6%) e os produtores de carbapenemases expressaram resistência a colistina de (9,7%). Além disso, os principais genes detectados foram *bla_{GIM}*, *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{OXA-48}* e *bla_{OXA-51}*, intimamente relacionados com a resistência para carbapenêmicos^{41,42}. Dessa forma, a resistência a carbapenêmicos detectada no presente estudo, pode estar associada a presença de carbapenemases como foi observado em isolados provenientes de um efluente hospitalar em Cingapura, no qual um total de 94 cepas de BGNs foram analisadas e (81,9%) apresentaram resistência a cefalosporinas e (68%) resistência a carbapenêmicos⁴³.

Corroborando esses dados outro estudo realizado no efluente hospitalar na Irlanda detectou 142 cepas de enterobactérias, registrando resistência aos carbapenêmicos de (14%), (27%), (59%), nos pontos pós-hospitalar, pré-hospitalar e efluentes hospitalares, respectivamente. Dentre elas (36%) foram produtoras de carbapenemases⁴⁴. Já em Manaus foi possível detectar no córrego Mindu cepas de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes provenientes de três estações de esgoto urbanos predispondo a população que vive em contato com essas águas a desenvolver infecções comunitárias e nosocomiais⁴⁵.

Portanto, é imprescindível destacar a relevância da detecção dessas bactérias em efluente hospitalar, pois, uma vez que essas bactérias são detectadas no meio ambiente podem alterar a microbiota ambiental e contaminar alimentos, por meio de transferência horizontal de genes⁴⁶. Dessa, forma esses genes podem ser incorporados por bactérias sensíveis causando distúrbios ambientais e prejuízos à saúde humana, por exemplo, através da ingestão de alimentos contaminados⁴⁷.

Isso pode ocorrer se o tratamento de águas residuais não for capaz de remover pequenas quantidades de bactérias resistentes a antibióticos, dessa forma, DNA flutuantes conseguem atravessar a membrana de filtração e sair da estação de tratamento no que é chamado de efluente tratado, sendo responsável pela liberação de altas cargas de bactérias e genes de resistência a antimicrobianos que podem contaminar diferentes compartimentos ambientais, em particular as águas superficiais^{29, 41}.

Outro aspecto importante é a possível clonalidade entre as cepas isoladas em efluentes, em um estudo se verificou relevante similaridade entre as estirpes encontradas em diversos pontos de efluentes hospitalares, demonstrando percentuais de (99,9%) para o efluente 3,

(99,9%) para o 9, (99,5%) para o 10 e (99,9%) para o 21. Tal constatação pode impactar diretamente na saúde das pessoas e as infecções comunitárias que deveriam ser facilmente tratadas irão apresentar microrganismos capazes de expressar facilmente mecanismos de resistência que dificultarão o tratamento e um melhor prognóstico^{1,48}.

Embora a propagação da resistência bacteriana seja o foco principal, a atualização dos serviços de tratamento de esgoto precisa de enfoque, nota-se a necessidade de novas abordagens de tratamento que acompanhem a evolução desses microrganismos. O uso de ozônio e a radiação UV por sua vez é um método já utilizado, sendo capaz de reduzir com eficiência (99,0%) dos genes de resistência aos antimicrobianos⁴⁹. Outra opção avançada é a irradiação UV/cloração sequencial que também apresenta eficiência na remoção de genes de resistência. Dessa forma, é necessário desenvolver estratégias e diretrizes adaptadas para a remoção de contaminantes ambientais como as MDRs⁵⁰.

Foi possível detectar em amostras de após o tratamento do esgoto a presença de bactérias gram-negativas que fenotipicamente expressaram a presença de enzimas que inativam medicamentos utilizados como umas das últimas opções terapêuticas em casos de infecções graves. Cabe ressaltar, que se disseminados para o meio ambiente essas bactérias podem alterar a microbiota ambiental e consequentemente causar grandes danos à saúde das pessoas que utilizam os recursos naturais, como a água que nesta região com frequência é consumida sem tratamento prévio. Esse estudo possibilitará melhorias para qualidade da assistência à saúde e irá contribuir para redução da disseminação ambiental de microrganismos multirresistentes.

Referências

1. SUTHERLAND, N. & BARBER, S. 2017. O'Neill Review into Antibiotic Resistance. *House of Commons Library*, v.1, n.1, p. 1-41.
2. MAGIORAKOS, A.; SRINIVASAN, UM .; CAREY, RB.; CARMELI, Y.; FALAGAS, ME.; GISKE, CG.; HARBARTH, S.; HINDLER, JF.; KAHLMETER, L.; OLSSON-LILJEQUIST, B.; PATERSON, DL.; RICE, LB.; STELLING, J.; STRUELENS, MJ.; VATOPOULOS, UM.; WEBER, JT.; MONNET, DL. 2012 Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* Mar;18(3):268-81.
3. SABINO, S.; SOARES, S.; RAMOS, F.; MORETTI, M.; ZAVASCKI AP.; RIGATTO MH. 2019. A Cohort Study of the Impact of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* Infections on Mortality of Patients Presenting with Sepsis. *MSphere* vol. 4,2 e00052-19.
4. LORENZONI, V, V.; RUBERT, F, C.; RAMPELOTTO, R,F.; HORNER, R. 2018. Increased antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae* from a University Hospital in Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 51(5):676-679.
5. . CARVALHO, R, M, L.; MARQUES, S, G.; GONÇALVES, L, H, B.; ABREU, A, G.; MONTEIRO, S,G.; GONÇALVES, A G. 2013. Phenotypic detection of metallo- β -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from hospitalized patients in São Luis, State of Maranhão, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 46(4):506-509.
6. CASTILHO, S, R, A.; GODOY, C, S, M.; GUILARDE, A,O.; CARDOSO, J, L.; ANDRE, M, C, P.; KIPNIS, A. 2017. Cepas de *Acinetobacter baumannii* isoladas de pacientes em unidades de terapia intensiva em Goiânia, Brasil: Perfis de suscetibilidade molecular e medicamentosa. *Molecular and drug susceptibility profiles*.

7. BRASILIENSE, D, M.; LIMA, K, V, B.; CHAPARRO, P J, P.; MAMIZUKA, E, M.; DUTRA, L, M, G.; MCCULLOCH, J, A. 2019. Surgimento de *Acinetobacter pittii* resistentes a carbapenêmicos portadores do gene bla OXA-72 na Amazônia, Brasil. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 93 82–84.
8. COSTA, A. L. P. & SILVA JUNIOR, A. C. S. 2017. Resistencia bacteriana aos antibióticos e Saúde público; uma breve revisão de literatura. Estado científico. (UNIFAP), *Macapá*, v.7, n.2, p.45,7.
9. BORBA, M. R. 2018. Resistência a antimicrobianos criticamente importante à saúde humana em populações bacterianas de animais de produção criados no Brasil, 2008-2017. Porto Alegre, RS,
10. PRADO, T.; PEREIRA, WC.; SILVA, DM.; SEKI, LM.; CARVALHO, AP.; ASENSI, MD.; 2008. Detection of extended spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in effluents and sludge from a hospital sewage treatment plant. *Lett Appl Microbiol.* 46 (1): 136-41.
11. ALLEN, H. K.; DONATO, J.; WANG, H. H.; CLOUD-HANSEN, K. A.; DAVIES, J.; HANDELSMAN, J. 2010. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nat. Rev. Microbiol.* 8:251 -259.
12. PICCIRILLI, A.; POMPILIO, A.; ROSSI, L.; SEGTORE, B.; AMICOSANTE, G, R.; PERILLI, M, BONAVENTURA, G, D. 2019. Identificação de CTX-M-15 e CTX-M-27 em bactérias gram-negativas resistentes a antibióticos de três rios correndo na Itália Central. *Microbial Drug Resistance*. Volume 00, Number 00.
13. WHO - World Health Organization. Diarrhea: why children are still dying and what can be done. *UNICEF; WHO*: Geneva; New York: 2009.
14. DAVIES, J. & DAVIES, D. Rigins and evolution of antibiotic resistance. Department of Microbiology and Immunology. *Rev. University of British Columbia*, sep, 2010.

15. DE PAULA, N. M. C. & COSTA, T. L. Prevalência de infecções causadas por bactérias gram-negativas produtoras de carbapenemases em um hospital terciário de Goiânia-Goiás. Hospital das Clínicas. Universidade Federal de Goiás – HC/UFG, 2015.
16. FERRI, M.; RANUCCI, E.; ROMAGNOLI, P.; GIACCONE, V. 2017. Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems. 2017. 57:13, 2857-2876
17. IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2018. IBGE: Panorama cidade. Disponível em: <//cidades.ibge.gov.br/brasil/pa/redenção/panorama>. Acesso em: 28 de agosto de 2019.
18. NBR7229/93 e 13969/97
19. RESENDE, A, C, B.; SOARES, R, B, A.; SANTOS, D, B.; MONTALVÃO, E, R. 2009. Detecção de bactérias gram-negativas antimicrobianas resistentes em efluentes de hospitais e na estação tratamento de esgoto de Goiânia, Brasil. Mundo saúde (); 33(4): 385-400, out.-dez. 2009.
20. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2013. NOTA TÉCNICA - No 01/2013 Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multirresistentes. Brasília.
21. Redefinição das categorias dos testes de sensibilidade S, I e R. versão 9.0 ano 2019. <http://www.eucast.org>
22. IDELEVICH, E. A.; FREEBORN, D. A.; SEIFERT, H.; BECKER, K. 2018. Comparison of tigecycline susceptibility testing methods for multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 91:360-362.
23. FDA - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. TYGACIL ®. 2018. Disponível em: www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/021821s016lbl.pdf. Acesso em: 26 de novembro de 2019 as 20:35hrs.

24. MARTINO, M. D.; KOGA, P. C.; PASTERNAK, J.; DOI, A. M.; CIOLA, C. S.; DA SILVA, C. B.; ARAÚJO, M. R. E. 2015. Evaluation of a new rapid test for carbapenemase detection in carbapenem resistant Enterobacteriaceae. *J. Microbil. Methods*. 115:20-21.
25. NOVAES, R, M, P.; SOBRAL, M, M, R.; BARRETO, C.; NASCIMENTO, A, P, A.; MONTEIRO, M, A.; SPISSO, B, F.; BIANCO, K.; ROMÃO, C, M, C, P, A.; CLEMENTINO, M, M. 2018. Antibiotic resistance pattern and prevalence of qacEΔ1 and sul1 genes in *Pseudomonas aeruginosa* from hospital wastewater. *Revista Vigil. sanit. Debate*. 6(2):18-28.
26. DENG, Y.; WU, Y.; TAN, A.; HUANG, Y.; JIANG, L.; XUE, H.; WANG, J, W.; ZHAO, L, L, F. 2014. Análise de genes de resistência antimicrobiana em *Aeromonas spp.* Isolado de animais de água doce cultivados na China. *Microbial Drug Resistance*, . 350-356.
27. FERREIRA, J. C. 2014. 2015. Bactérias potencialmente resistentes a antibióticos, desinfetantes e radiação ultravioleta, isoladas de esgoto hospitalar e esgoto sanitário. Londrina: [s.n.],
28. PEREIRA, S. S. P.; OLIVEIRA, H. M.; TURRINI, R. N. T.; LACERDA, R. A. 2015. Desinfecção com hipoclorito de sódio em superfícies ambientais hospitalares na redução de contaminação e prevenção de infecção: revisão sistemática. *Rev Esc Enferm USP* · 2015; 49(4):681-688.
29. CHRISTGEN, B.; YANG, Y.; AHAMMAD, S. Z.; LI, B.; RODRIQUEZ, D. C.; ZHANG, T.; GRAHAM, D. W. 2015. A metagenômica mostra que os reatores de tratamento anaeróbico-aeróbico de baixa energia reduzem os níveis dos genes de resistência a antibióticos das águas residuais domésticas. *Environ Sci Technol*. 49 (4): 2577-84.
30. LEUNG, A. K. C.; WONG, A. H. C.; LEUNG, A. A. M.; HON, K. L. 2019. Infecção do trato urinário em crianças. *Recentes Pat Inflamm Allergy Drug Discov* .; 13 (1): 2–18.

31. PATEL, H. B.; SONI, S. T.; BHAGYLAXMI, A.; PATEL, N. M. 2019. Agentes causadores de infecção do trato urinário e seus padrões de suscetibilidade antimicrobiana em um centro de referência no oeste da Índia: uma auditoria para ajudar os clínicos a prevenir o uso indevido de antibiótico. *J Family Med Prim Care.*; 8 (1): 154-159.
32. SONG, Q.; ZHANG, D.; GAO, H.; WU, J. 2018. Salmonella Species' Persistence and Their High Level of Antimicrobial Resistance in Flooded Man-Made Rivers in China. *Microbial Drug Resistance.*
33. TEIXEIRA, J. C.; OLIVEIRA, G. S.; VIALI, A. M.; MUNIZ, S. S. 2014. Estudo do impacto das deficiências de saneamento básico sobre a saúde pública no Brasil no período de 2001 a 2009. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 19, n. 01, p. 87-96, jan./mar.
34. LIMA, J. S.; SANTOS, G. C. S.; RODRIGUES, R. S. S.; SANTOS F, V. 2018. Morbidade e mortalidade por doenças relacionadas ao saneamento ambiental inadequado em Belém do Pará. *Revista Ciência e Sustentabilidade – CeS.*
35. AYDIN, S.; AYDIN, M. E.; ULVI, A. E.; KILIC, H. 2018. Antibióticos em efluentes hospitalares: ocorrência, contribuição para águas residuais urbanas, remoção em uma estação de tratamento de águas residuais e avaliação de riscos ambientais. *Pesquisa em Ciências Ambientais e Poluição.*
36. TACONELLI, E. & MAGRINI, N. 2017. Lista prioritária global de bactérias resistentes a antibióticos para orientar a pesquisa, descoberta e desenvolvimento de novos antibióticos. URL http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1 .
37. OMS - Organização Mundial da Saúde. Lista prioritária global de bactérias de resistência a antibióticos para orientar a pesquisa, descoberta e desenvolvimento de novos antibióticos. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2017.
38. SANTOS, G. & COLOMBO, T. E. 2015. Prevalence of pseudomonas aeruginosa in water and surface. *J Health Sci Inst.*;33(4):314-8.

39. HUANG, H.; CHEN, B.; LIU, G.; RAN, J.; LIAN, X.; HUANG, X.; WANG, N.; HUANG, Z. 2018. A multicenter study on the risk factors of infection caused by multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. *BMC Infect. Dis.* 18:1-11.
40. ZAMPAR, E. F.; ANAMI, E. H. T.; KERBAUY, G. et al. 2017. Complicações infecciosas em pacientes adultos queimados e padrão de resistência antimicrobiana de microrganismos isolados. *Ann Burns Desastres de incêndio*. 30 (4): 281–285.
41. MÜLLER, H.; SIB, E.; GAJDISS, M.; KLANKE, U.; LENZ-PLET, F.; BARABASCH, V.; BIERBAUM, G. 2018. Disseminação de bactérias Gram-negativas multirresistentes em águas residuais e águas superficiais alemãs. *FEMS Microbiology Ecology*, 94 (5).
42. CHEN, L.; TODD, R.; KIEHLBAUCH, J. 2017. Notes from the field: Pan-resistant New Delhi metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* - Washoe County, Nevada, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 66, 33.
43. HALLER, LAURENCE.; CHEN, HONGJIE.; NG, CHARMAINE.; LE, H, T.; KON, H. T.; BARKHAM, T.; SOBSEY, M.; GIN, Y, K.; 2018. Ocorrência e características de β -lactamase de espectro alargado e bactérias produtoras de carbapenemase em efluente hospitalar em Cingapura. *Rev. Ciência do total Environment* 615, 1119 – 1125.
44. CAHILL, N.; O'CONNOR, L.; MAHON, B.; VARLEY, Á.; MCGRATH, E.; RYAN, P.; CORMICAN, M.; BREHONY, C.; JOLLEY, K. A.; MAIDEN, M. C.; BRISSE, S.; MORRIS, D. 2019. Efluentes hospitalares: um reservatório para Enterobacterales produtoras de carbapenemase? *Sci Total Environ.* 672: 618-624.
45. MAGALHÃES, M. J. T. L.; PONTES, G.; SERRA, P. T. et al. 2016. Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente em um córrego que recebe efluentes de plantas hospitalares de águas residuais ineficazes. *BMC Microbiol* 16, 193.
46. LOBOVA, T, I.; YEMELYANOVA, E.; ANDREEVA, I, S.; PUCHKOVA, L, I.; REPIN, V, Y. 2015. Antimicrobial Resistance and Plasmid Profile of Bacterial Strains

Isolated from the Urbanized. *Microbial drug resistance*. Volume 00, Number 00, 2015 ^a
Mary Ann Liebert, Inc.

47. ROMERO, J. L.; GRANDE BURGOS, M. J.; PÉREZ-PULIDO, R.; GÁLVEZ, A.; LUCAS, R. 2017. Resistance to antibiotics, biocides, preservatives and metals in bacteria isolated from seafoods: co-selection of strains resistant or tolerant to different classes of compounds. *Front. Microbiol.* 8, e1650.

48. MOREIRA, I. V.; VARELA, A. R.; PEREIRA, T. V.. Fochat; MANAIA, C. M. 2015. Multidrug Resistance in Quinolone-resistant Gram-Negative Bacteria Isolated from Hospital Effluent and the Municipal Wastewater Treatment Plant. *Microbial Drug Resistance* Volume 00, Number 00.

49. JAGER, T.; HEMBACH, N.; ELPERS, C.; WIELAND, A.; ALEXANDER, J.; HILLER, C.; KRAUTER, G.; SCHWARTZ, T. 2018. Redução de bactérias resistentes a antibióticos durante o tratamento convencional e avançado de águas residuais e as cargas disseminadas liberadas para o meio ambiente. *Microbiol dianteiro*. 9: 2599.

50. BARANCHESHME, F. & MARIYA, M. 2018. Estratégias para combater a resistência a antibióticos nas estações de tratamento de águas residuais. *Fronteiras em mic1robiologia* vol. 8 2603.