

IV-235 - DETECÇÃO DE GENES CODIFICADORES DE CARBAPENEMASES NO MÉDIO CURSO DO RIO ACARAÚ – SOBRAL/CE

Humberlânia de Sousa Duarte⁽¹⁾

Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual do Vale do Acaraú (UVA). Especialista em Gestão Ambiental pelo Instituto Federal do Ceará (IFCE). Mestre em Biotecnologia (UFC) e Doutoranda em Ciências (Microbiologia) (UFRJ).

Renata Cristina Picão⁽²⁾

Graduada em Farmácia e Bioquímica pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Mestre e Doutora em Ciências Básicas em Infectologia (UNIFESP). Professora Adjunto IV do departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes - Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

Francisco Rafael Sousa Freitas⁽³⁾

Engenheiro Ambiental pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Mestre em Engenharia Sanitária (PPgES/UFRN). Professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - IFCE, Campus de Sobral.

Endereço⁽³⁾: Av. Dr. Guarani, 317 - Derby Clube – Sobral – CE - CEP: 62.042-030 – Brasil – Tel: (88) 3112-8050 - e-mail: rafael.freitas@ifce.edu.br

RESUMO

O Rio Acaraú é um manancial de grande relevância social e econômica para a cidade de Sobral, constituindo-se dentre inúmeros aspectos, fonte para abastecimento público de água. Entretanto, a escassez hídrica, associada a crescente urbanização e falhas no sistema de esgotamento sanitário da cidade, têm contribuído para a poluição deste corpo d'água. A presença de genes codificadores de carbapenemases em ambientes aquáticos diversos, poluídos ou não, têm sido relatada em todo o mundo, oferecendo sérios riscos à saúde pública. Desta maneira, este trabalho descreve o estudo realizado em um trecho do Rio Acaraú, que objetivou avaliar as características físico químicas, microbiológicas e identificar a presença de genes codificadores de carbapenemases e genes associados a resistência a colistina mediada por plasmídeo (*mcr*), e discute as possíveis causas para a presença de tais genes neste trecho. Os dados resultantes do estudo de 3 pontos do trecho em questão mostraram que o ponto mais à jusante (AC03) apresentou maiores indícios de contaminação, com níveis elevados de CE, BHT e CTt e que os genes codificadores de carbapenemases *bla_{KPC}*, *bla_{VIM}* e *bla_{SPM}* estiveram presentes ao longo de todo o trecho estudado. Portanto, é evidenciada a contaminação deste manancial no trecho estudado, podendo estar associada a ações antrópicas e aos baixos índices de cobertura de saneamento básico, principalmente no que concerne a coleta e ao tratamento dos esgotos, sendo necessária e urgente a definição de medidas que controlem o lançamento de poluentes em tais ambientes. Nosso estudo é o primeiro relato da presença de carbapenemases no ambiente aquático, em especial em águas de consumo humano, do estado do Ceará

PALAVRAS-CHAVE: Resistência Bacteriana, Recursos Hídricos, Semiárido, Poluição Difusa.

INTRODUÇÃO

O Rio Acaraú constitui um dos principais corpos d'água do Ceará, segmentando várias cidades, dentre estas Sobral, onde tem grande relevância por, principalmente, representar uma importante fonte de abastecimento público de água (MESQUITA et al., 2016).

Entretanto, a qualidade deste reservatório tem sido comprometida pela crescente urbanização e por ações antropogênicas, relacionadas a uma infraestrutura sanitária precária, as quais impactam negativamente o ambiente aquático natural (OLIVEIRA, 2014). Além de ocasionar impactos para o ecossistema, esses fatores geram sérios riscos para a saúde pública, por favorecer a exposição humana e animal à micro-organismos patogênicos, bem como por propiciar o desenvolvimento e a disseminação de micro-organismos resistentes a antimicrobianos.

A resistência bacteriana a carbapenêmicos pela produção de carbapenemases tem tomado espaço, como um problema de saúde pública de abrangência global, por encontrar-se amplamente disseminada em diversos ambientes, dentre estes, no aquático natural (WOODFORD et al., 2014; MONTEZZI et al., 2015; PASCHOAL et al., 2017; BONOMO et al., 2018; DIAB et al., 2018; TANNER et al., 2019). Entretanto, no contexto atual, pouco se sabe sobre a condição dos recursos hídricos do estado do Ceará no que diz respeito a essa abordagem.

Essas enzimas constituem a família mais versátil das β lactamases descritas até o momento, sendo capazes de reconhecer e hidrolisar grande parte dos β -lactâmicos, incluindo os carbapenêmicos, disponíveis atualmente e, algumas apresentam ainda, resistência aos inibidores de β -lactamases frequentemente utilizados (MOXON; PAULUS, 2016). São codificadas por genes transferíveis horizontalmente, por plasmídeos ou transposons, e comumente associados a genes que codificam outros determinantes de resistência, levando a altos índices de falha terapêutica e mortalidade em todo o mundo (MELETIS, 2016; BONOMO et al., 2018).

A enzima do tipo KPC (*Klebsiella pneumoniae Carbapenemase*), codificada pelo gene plasmidial transferível, *bla_{KPC}*, apresenta atividade hidrolítica sobre todos os β -lactâmicos (QUEENAN; BUSH, 2007). Essa carbapenemase foi primeiramente descrita em 2001 (YIGIT et al., 2001) e, o primeiro relato no Brasil foi no ano de 2009, a partir de uma amostra hospitalar de *K. pneumoniae* (MONTEIRO et al., 2009). Atualmente, essa enzima é considerada disseminada mundialmente, atingindo inclusive, todas as regiões brasileiras.

A *São Paulo metalo- β -lactamase* (SPM) é codificada pelo gene *bla_{SPM}* associado a integron e, apresenta ação sobre todos os β -lactâmicos, com exceção do monobactâmico, aztreonam (QUEENAN; BUSH, 2007). Essa enzima foi descrita pela primeira vez em 2002, no Brasil (TOLEMAN et al., 2002) e, curiosamente, manteve-se restrita a uma linhagem específica de *Pseudomonas aeruginosa*, em sua maioria, isoladas neste país (TURANO et al., 2016).

A carbapenemase VIM (*Verona Integron-Encoded metallo- β -lactamase*), codificada pelo gene associado a integron, *bla_{VIM}*, também apresenta ação hidrolítica sobre todos os β -lactâmicos, com exceção do aztreonam (QUEENAN; BUSH, 2007). A primeira descrição desta enzima foi em 1999, a partir de uma amostra hospitalar de *P. aeruginosa* oriunda da Itália (LAURETTI, et al., 1999), sendo sua ocorrência também já evidenciada em algumas cidades brasileiras.

Para além disso, um agravante para tal quadro é o fato de que a real influência da propagação emergente de bactérias produtoras de carbapenemases em ambientes aquáticos naturais é uma questão que ainda possui muitas lacunas, oferecendo além de riscos desconhecidos, a possibilidade de transmissão direta à população humana (MONTEZZI et al., 2015; LAURENS et al., 2018). E assim, se faz necessário conhecer o cenário real de tal disseminação, bem como buscar medidas de controle e elucidar os reais riscos oferecidos à saúde pública.

Nesse contexto, no presente trabalho nós objetivamos estudar um trecho do médio curso do Rio Acaraú intraurbano à cidade de Sobral, através da caracterização físico-química e microbiológica e, mediante a investigação de genes codificadores de carbapenemases e genes associados a resistência a colistina mediada por plasmídeo (*mcr*), de maneira a determinar a qualidade do corpo aquático, bem como a sua situação no que diz respeito a disseminação ambiental de tais determinantes de resistência bacteriana a antimicrobianos.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

A bacia hidrográfica do Rio Acaraú se localiza na região centro-norte do estado do Ceará, com área de 14.427 km² e cerca de 315 km de extensão no sentido sul-norte. É considerada a segunda maior bacia do estado, ocupando cerca de 15% do território cearense e abrangendo um total 30 municípios (GOMES, 2015; MESQUITA, 2016).

A área de estudo do presente trabalho é um trecho hídrico inserido no médio curso do Rio Acaraú, intraurbano a cidade de Sobral, localizada na região Noroeste do Estado do Ceará. Dentro do curso d'água em estudo

foram estabelecidos 03 locais (AC01, AC02 e AC03) a serem analisados, determinados com base na dinâmica natural do rio e na localização, aparentemente passível ou não à interferentes antropogênicos (Tabela 1).

Tabela 1 – Código e localização dos pontos de coleta das amostras de água.

Código	Bairro	Ponto de Referência	Coordenadas*	
AC01	Dom Expedito	Margem direita do rio (em frente a rodoviária)	349976	9591149
AC02	Centro	Margem esquerda do rio (entre as pontes)	350592	9591905
AC03	Derby	Atrás do Derby Club Sobralense	352048	9593011

* UTM: Universal Transversa de Mercator

Amostragem

A coleta foi realizada, durante o período da manhã, no dia 15 de agosto de 2016, e monitoradas as temperaturas do ar e da água. Foram coletados 1 litro de água, de cada amostra, na camada superficial, em frascos de vidro âmbar, estéreis, os quais foram mantidos e transportados em gelo. Os procedimentos de higiene, coleta, conservação, transporte e controle de amostragem seguiram os critérios estabelecidos pela NBR 9898 (ABNT, 1987).

O processamento das amostras foi realizado nos Laboratórios de Análise Físico-Químicas de Águas e Efluentes-LAAE e de Análises Microbiológicas de Águas e Efluentes-LAMAE, do Eixo Ambiente, Saúde e Segurança do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, *Campus* de Sobral.

Análises físico-químicas e microbiológicas

Imediatamente à coleta, no dia 15 de agosto de 2016, foram realizadas análises dos parâmetros temperatura, pH, condutividade elétrica e turbidez, conforme padronizado (APHA, 2005).

A avaliação da qualidade microbiológica das amostras de água foi realizada através dos métodos quantitativos:

(i) Bactérias Heterotróficas Totais (BHT), em que as amostras foram diluídas (10^{-4}) e 1mL foi depositado em uma placa de Petri. Em seguida, 12 mL do meio de cultura PCA (*Plate Count Agar*) foi adicionado e a suspensão homogeneizada. Após solidificação do meio de cultura, as placas foram incubadas ($35 \pm 0,5$ °C; 48 ± 3 h) e após, a contagem das colônias foi realizada (CETESB, 2006).

(ii) Colimetria, a qual se baseia no método de tubos múltiplos e foi segmentada em três etapas: (a) *Teste presuntivo – detecção de micro-organismos fermentadores de lactose*, onde a amostra foi diluída em meio de cultura caldo lactosado (*Lactose Broth*) para as concentrações 10^1 , 10^0 e 10^{-1} , em quintuplicata cada, e os tubos incubados ($35 \pm 0,5$ °C; 48 ± 3 h). Após o período determinado foram considerados positivos os tubos apresentando crescimento visível e produção de gás; (b) *Teste confirmativo – detecção de coliformes totais*, no qual uma alçada obtida de cada tubo considerado positivo para a presença presuntiva de coliformes foi inoculada em 10 mL de caldo BVB (Bile Verde Brillante) e os tubos incubados (37 °C; 24 h). Após esse período foram considerados positivos os tubos apresentando crescimento visível e produção de gás. Os resultados foram expressos em termos de NMP (número mais provável) /100 mL, com base na quantificação do tubos positivos; (c) *Teste confirmativo – detecção de coliformes fecais*, em que uma alçada obtida de cada tubo considerado positivo para a presença presuntiva de coliformes foi inoculada em 10 mL de caldo EC (*E. coli*) e os tubos incubados em banho maria (44,5 °C; 24h). Após, foram considerados positivos os tubos apresentando crescimento visível e produção de gás e os resultados expressos em termos de NMP (número mais provável) /100 mL a partir da quantificação dos tais (APHA, 2005).

Pesquisa de determinantes genéticos de resistência

A investigação genotípica de determinantes de resistência à antimicrobianos de importância clínica nas amostras de água foi realizada no Laboratório de Investigação em Microbiologia Médica (LIMM, UFRJ), por meio da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*), a partir da extração do DNA total.

Imediatamente à coleta, as amostras foram filtradas em membrana de polycarbonato (0,22 µm) e o DNA foi extraído com base no método Fenol: Clorofórmio: Álcool isoamílico, acrescentado do detergente catiônico CTAB (Brometo de Cetiltrimetilamônio) (PASSINI, 2015).

A presença de elementos genéticos associados a resistência a carbapenêmicos pela produção de carbapenemases foi determinada pela investigação dos genes *bla_{GES}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{KPC}*, *bla_{IMP-1}*, *bla_{VIM}*, *bla_{SPM}*, *bla_{GIM}*, *bla_{NDM}*, *bla_{SIM}* e *bla_{BKC}*, enquanto que a presença de determinantes genéticos de resistência à colistina foi investigada com base no gene *mcr-1*.

RESULTADOS

Análises físico químicas

Nos dados obtidos durante as análises físico químicas, os valores de temperatura das amostras de água variaram entre 30,5 °C e 31 °C, os valores de pH estiveram entre 7,41 e 8,38 e valores de turbidez entre 7 e 37 UNT. Já quanto ao parâmetro condutividade elétrica, os pontos AC01 e AC02 mantiveram-se semelhantes, com 867 e 778,1 µS/cm respectivamente, enquanto AC03 mostrou-se acima dos demais, com 1023 µS/cm (Tabela 2).

Tabela 2 – Pontos de coleta, parâmetros físico químicos e padrões de qualidade de água

Parâmetros		Pontos de coleta			Valores médios	Classe II (CONAMA 357/05)
		AC01	AC02	AC03		
Temperatura	Ar	37	35	37	36,3	-
	Água	31	30,5	31	30,8	
Ph		7,41	8,38	7,86	7,9	6,0 – 9,0
Condutividade Elétrica		867	778,1	1023	889,4	-
Turbidez		14	37	7	19,3	≤ 100

Temperatura: °C; pH (potencial hidrogeniônico); Condutividade Elétrica: µS/cm; Turbidez: UNT.

Análises microbiológicas

Foi evidenciada uma maior concentração de bactérias heterotróficas totais no ponto AC03, com 306x10⁴ UFC/mL, enquanto que os pontos AC01 e AC02 apresentaram os valores 117 e 64x10⁴ UFC/mL respectivamente, que apesar de menores em relação a AC03 são considerados índices elevados (Tabela 3).

Todos os pontos estudados apresentaram índices máximos de coliformes totais, com valores em torno de 2400 NMP/100 mL e valores distintos para o parâmetro coliformes termotolerantes, onde AC01 e AC02 apresentaram os índices 81 e 45 NMP/100 mL respectivamente, enquanto AC03 apresentou a maior concentração e acima da permitida pela legislação, evidenciando índice máximo de presença desses micro-organismos (Tabela 3).

Tabela 3 – Pontos de coleta, parâmetros microbiológicos e padrões de qualidade da água

Parâmetros	Pontos de coleta			Valores médios	Classe II (CONAMA 357/05)
	AC01	AC02	AC03		
BHT	117	64	306	162,3	-
CT	2,4	2,4	2,4	2,4	-
CTt	0,081	0,045	2,4	0,8	1

BHT (Bactérias Heterotróficas Totais): $\times 10^4$ UFC/mL; CT (Coliformes Totais): $\times 10^3$ NMP/100mL; CTt (Coliformes Termotolerantes): $\times 10^3$ NMP/100mL

Além disso, de acordo com a Resolução CONAMA 274/00, o ponto AC03 foi classificado como impróprio, quanto ao critério de balneabilidade, enquanto os demais pontos foram classificados como próprios/excelentes (Tabela 4).

Tabela 4 – Pontos de coleta, padrão e classificação de balneabilidade

Pontos de coleta	CF	Classificação	
		Própria	Imprópria
AC01	0,081	Excelente	$\leq 0,25$
AC02	0,045	Muito boa	$\leq 0,5$ > 1
AC03	2,4	Satisfatória	≤ 1

CTt (Coliformes Termotolerantes): 10^3 NMP/100mL

Determinantes genéticos de resistência

De acordo com os resultados obtidos durante a investigação de genes codificadores de carbapenemases e genes associados a resistência a colistina mediada por plasmídeo (*mcr-1*), similarmente, em todas as amostras de água analisadas foram detectados três genes codificadores de carbapenemases dentre os dez investigados, enquanto que o gene *mcr-1* não foi evidenciado em nenhuma das amostras estudadas (Tabela 5).

Tabela 5 - Pontos de coleta e determinantes genéticos de resistência detectados

Pontos de coleta	Determinantes genéticos de resistência
AC01	<i>bla_{KPC}</i> , <i>bla_{SPM}</i> , <i>bla_{VIM}</i>
AC02	<i>bla_{KPC}</i> , <i>bla_{SPM}</i> , <i>bla_{VIM}</i>
AC03	<i>bla_{KPC}</i> , <i>bla_{SPM}</i> , <i>bla_{VIM}</i>

DISCUSSÃO

Conforme a Resolução CONAMA 357/05, corpos de água doce que não possuem aprovação no processo de enquadramento, tais como o Rio Acaraú, são classificados como pertencentes a classe II e, portanto, deverão seguir os parâmetros padrões estabelecidos para esta classe.

Segundo a legislação vigente, não existe um padrão de temperatura estabelecido, como indicador da qualidade da água (CONAMA 357/05). Entretanto, de acordo com o Manual de controle da qualidade da água para técnicos que trabalham em ETAs (FUNASA, 2014), os ambientes aquáticos brasileiros apresentam, em geral, temperaturas na faixa de 20 °C a 30 °C, correspondendo com os dados obtidos no presente estudo.

Ainda de acordo com a Resolução CONAMA 357/05, águas doces enquadradas como pertencentes a classe II e destinadas ao abastecimento público devem apresentar um valor de pH situado na faixa de 6,0 a 9,0. Desta maneira, as amostras de água analisadas encontram-se dentro do padrão estabelecido pela legislação.

Embora a legislação vigente (CONAMA 357/05) não atribua uma faixa de valor padrão para o parâmetro condutividade elétrica, de acordo com a FUNASA (2014) é sugerido que águas naturais apresentem teores de condutividade na faixa de 10 a 100 μ S/cm, enquanto ambientes impactados por esgotos domésticos ou industriais os valores podem atingir 1.000 μ S/cm. Desta maneira, as amostras analisadas encontram-se com valores consideravelmente acima do determinado para águas naturais, o que indica, com maiores indícios no ponto AC03, o possível impacto desses locais por descargas pontuais e não pontuais de águas residuais.

As amostras analisadas apresentaram valor de turbidez que as enquadraram dentro do padrão estabelecido pela legislação, onde segundo a Resolução CONAMA 357/05, o valor limite máximo para águas doces de classe II é de 100 UNT.

A contagem de bactérias heterotróficas não é aplicada como um parâmetro indicador de qualidade microbiológica de corpos aquáticos, nos termos da Resolução CONAMA 357/05. Entretanto, essa análise pode fornecer informações sobre a concentração bacteriana total do ambiente aquático (DOMINGUES et al, 2007). Sendo assim, a Portaria de Consolidação nº5/2017 (Anexo XX), do Ministério da Saúde estabelece esse parâmetro como recomendação para avaliação da integridade dos sistemas de abastecimento de água destinadas ao consumo humano, recomendando como valor limite máximo, 500 UFC/mL, valor inferior ao encontrado nas amostras estudadas.

A maior concentração de bactérias heterotróficas totais no ponto AC03, em relação a AC01 e AC02, pode ser atribuída à eventos de poluição pontual, pelo lançamento de efluentes domésticos, *in natura*, nesse ponto do corpo aquático, bem como à poluição difusa, pelo acúmulo maior de poluentes/matéria orgânica ao longo do seu percurso, visto que este encontra-se mais a jusante no trecho estudado.

Apesar da legislação vigente (CONAMA 357/05) não especificar um limite máximo permitido para coliformes totais, números elevados desses micro-organismos, como no presente estudo, em que todos os pontos apresentaram valor máximo permitido pelo método aplicado, podem indicar índices elevados de contaminação local, sugerindo a presença de coliformes do grupo termotolerante e demais micro-organismos patogênicos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Quanto ao parâmetro coliformes termotolerantes, a Resolução CONAMA 357/05 estabelece o limite máximo de 1×10^3 NMP/100 mL para corpos de água doce de classe II. Dentre os pontos estudados AC03 se mostrou além desse limite, o que se correlaciona ao obtido para BHT e enquadra esse ponto de estudo como impróprio quanto ao critério de balneabilidade, de acordo com a Resolução CONAMA 274/00, a qual determina como impróprio um corpo aquático apresentando valor para coliformes termotolerantes $> 1 \times 10^3$ NMP/100mL.

As características de inconformidade do ponto AC03 com os termos determinados pelas legislações vigentes, podem ser atribuídas ao acúmulo de poluentes que atinge esse local, visto que o mesmo se encontra mais a jusante no trecho em estudo, em relação a AC01 e AC02. Ou ainda, podem estar associadas ao lançamento de efluentes domésticos *in natura* nesse ponto do corpo aquático, o que tende a elevar o grau de proliferação de micro-organismos. Gomes (2015), observou durante as visitas *in loco* de seu estudo a deposição de líquidos de origem desconhecida nesses locais e evidenciou, através dos parâmetros Oxigênio Dissolvido, Demanda Bioquímica de Oxigênio e Fósforo Total, valores em desacordo com os padrões estabelecidos pela legislação vigente (CONAMA 357/05), para corpos de água doce de classe II, como o Rio Acaraú.

No referente a pesquisa de determinantes genéticos de resistência, a evidência de genes codificadores de carbapenemases ao longo do trecho do Rio Acaraú intraurbano à cidade de Sobral é um fato que indica a presença de bactérias apresentando perfil genético de resistência a antimicrobianos de uso restrito na prática clínica. Este evento tende a estar diretamente relacionado à precariedade na infraestrutura sanitária da cidade, visto que o lançamento de efluentes urbanos, *in natura* ou em condições inadequadas de tratamento, nos corpos de água é uma importante via pela qual esses micro-organismos são introduzidos no meio ambiente (BAQUERO; MARTÍNEZ; CANTÓN, 2008; GARCIA-ARMISEN et al., 2011; PICÃO et al., 2013).

De fato, segundo os dados expressos pelo IPECE (2015), no ano de 2014 o município de Sobral contava com uma taxa de 70% de cobertura urbana de esgotamento sanitário. Entretanto, como consequências oriundas da deficiência de serviços de saneamento básico para a população, de acordo com o DATASUS (2013), o município atingiu o segundo lugar em relação ao número de internações por diarreia dentro do estado do Ceará, o que acarretou o gasto de R\$ 160.252,96, pelos altos índices em hospitalizações (CAGECE, 2016). Além disso, como relatado anteriormente, Gomes (2015) observou durante as visitas *in loco* do seu estudo a deposição de líquidos de origem desconhecida nos locais aqui estudados.

Além da contribuição para o desenvolvimento de micro-organismos resistentes a antimicrobianos, falhas no sistema de saneamento contribuem fortemente para a disseminação de tais micro-organismos no meio ambiente

natural, gerando sérios impactos para o equilíbrio do ecossistema e riscos para a saúde da população (GARCIA-ARMISEN et al., 2011). Tal condição possibilita a interação bacteriana, que através de mecanismos de transferência horizontal de genes (THG) possibilita a troca de material genético, potencializando a virulência de espécies bacterianas patogênicas e comensais, oriundas de efluentes urbanos, bem como proporcionando as de origem ambiental não clínicas, a se tornarem reservatórios naturais de genes de resistência. Além disso, a deposição de substâncias (antimicrobianos e metais pesados) no ambiente aquático favorece o processo de pressão seletiva e desta maneira, todo esse cenário funciona como um sistema dinâmico de evolução e disseminação da resistência antimicrobiana (GARCIA-ARMISEN et al., 2011; VON WINTERSDORFF et al., 2016).

Com base nas informações contidas na bibliografia técnica especializada, não foi anteriormente evidenciada a presença de micro-organismos produtores de carbapenemases, ou ainda, a presença de genes codificadores de tais enzimas, em corpos d'água no estado do Ceará (VIEIRA; VASCONCELOS, 2006; COSTA et al., 2008; VASCONCELOS et al., 2010; SILVA et al., 2014), incluindo o Rio Acaraú (CARVALHO et al., 2009; FIGUEREDO et al., 2015), o que torna esse estudo o primeiro relato da presença de tais determinantes de resistência no ambiente aquático, em especial em águas de consumo humano, do estado do Ceará.

Além de afetar o ecossistema natural, bactérias com perfil de resistência a antimicrobianos são uma forte ameaça à saúde e ao bem estar da população, visto que são elevados os índices de mortalidade por infecções ocasionadas por esses micro-organismos. E como forte agravante, a dimensão real dos riscos oferecidos pelo contato direto ou indireto com ambientes contaminados com esses micro-organismos, ou mesmo com determinantes genéticos de resistência ainda permanece com muitas lacunas, o que torna essencial uma maior dedicação a conhecer o cenário real de tal disseminação, bem como buscar medidas de controle e elucidar os reais riscos oferecidos à saúde pública.

CONCLUSÕES

Esse é o primeiro relato da presença de genes codificadores de carbapenemases no ambiente aquático, em especial em águas de consumo humano, do estado do Ceará e com ele pode-se concluir que o trecho do médio curso do Rio Acaraú, situado na região urbana sede do município de Sobral tem sofrido influências da crescente urbanização e de ações antropogênicas ao longo de seu curso, as quais refletem em alterações nas características físico químicas e microbiológicas do corpo aquático, em especial no ponto final do trecho em estudo.

Diante de tal situação e mediante agravantes, tais como a crise hídrica e a população em índices crescentes, se faz necessária a redução de ações antropogênicas que impactam esses locais, bem como medidas de melhoria na infraestrutura sanitária da cidade, principalmente no que se refere a coleta, tratamento e disposição final dos esgotos urbanos, buscando preservar o ambiente aquático natural e contribuir com as ações de controle à emergente disseminação da resistência aos antimicrobianos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas (Brasil). NBR 9898: Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores. ABNT. Rio de Janeiro, 22 p., 1987.
2. APHA, AWWA WPCF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21th edition. Washington D.C. American Public Health Association, 953 p, 2005.
3. BAQUERO, F., MARTÍNEZ, J-L., CANTÓN, R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. Current Opinion in Biotechnology, v. 19, p. 260–265, jun. 2008.
4. BONOMO, R.A., BURD, E.M., CONLY, J., LIMBAGO, B.M., POIREL, L., SEGRE, J.A., WESTBLADE, L.F. Carbapenemase-Producing Organisms: A Global Scourge. Clinical Infectious Diseases, v.66, n.8, p. 1290-1297, 2018.
5. BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 29 de dezembro de 2016.

6. BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 274 de 29 de novembro de 2000. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=272>>. Acesso em: 29 de dezembro de 2016.
7. BRASIL. Ministério de Saúde. Portaria nº 5 de 28 de setembro de 2017. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0005_03_10_2017.html>. Acesso em: 14 de abril de 2019.
8. CAGECE. Companhia de Abastecimento de Água e Esgoto do Ceará. Saneamento Básico: Um compromisso de todos por mais qualidade de vida. CAGECE. Ceará, 48 p., 2016.
9. CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Norma Técnica L5.201: Contagem de bactérias heterotróficas: método de ensaio. CETESB. São Paulo, 14 p, 2006.
10. COSTA, R.A., VIEIRA, G.H.F., SILVA, G.C., VIEIRA, R.H.S. DOS F., SAMPAIO, S.S. Susceptibilidade “in vitro” a antimicrobianos de estirpes de *Vibrio* spp isoladas de camarões (*Litopenaeus vannamei*) e de água de criação destes animais provenientes de uma fazenda de camarões no Ceará – Nota prévia. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 45, n. 6, p. 458-462, dec. 2008.
11. DE CARVALHO, F.C.T., BARRETO, N.S.E., DOS REIS, C.M.F., HOFER, E., VIEIRA, R.H.S DOS F. Susceptibilidade antimicrobiana de *Salmonella* spp. isoladas de fazendas de carcinoculturas no Estado do Ceará. Revista Ciência Agronômica, v.40, n.4, p.549-556, oct-dec. 2009.
12. Diab, M., Hamze, M., Bonnet, R., Saras, E., Madec, J.Y., Haenni, M. Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in water sources in Lebanon. Veterinary Microbiology, v. 217, p.97–103, apr. 2018.
13. DOMINGUES, V.O., TAVARES, G.D., STÜKER, F., MICHELOT, T.M., REETZ, L.G.B., BERTONCHELI, C.DE M., HÖRNER, R. Contagem de bactérias heterotróficas na água para consumo humano: comparação entre duas metodologias. Saúde, Santa Maria, v. 33, n 1, p. 15-19, 2007.
14. FIGUEREDO, F.V., DE CARVALHO, F.C.T., FALAVINA, E.M., HOFER, E., DE SOUSA, O.V., VIEIRA, R.H.S DOS F. Isolamento de *Salmonella* resistente a antimicrobianos em duas regiões estuarinas do estado do Ceará, Brasil. Arquivos de Ciências do Mar, v. 48, n. 2, p. 49–56, 2015.
15. FUNASA. Fundação Nacional de Saúde (Brasil). Manual de controle da qualidade da água para técnicos que trabalham em ETAS. FUNASA. Brasília, 112 p, 2014.
16. GARCIA-ARMISEN, T., VERCAMMEN, K., PASSERAT, J., TRIEST, D., SERVAIS, P., CORNELIS, P. Antimicrobial resistance of heterotrophic bacteria in sewage-contaminated rivers. Water Research, v.45, p.788-796, 2011.
17. GOMES, F.B.M., DA SILVA, A.K.M. Análise dos efeitos antropogênicos na qualidade de água em rio urbano: estudo de caso em Sobral-CE. Sobral, 2015. Trabalho de Conclusão de Curso-Especialização em Gestão Ambiental-Instituto Federal do Ceará, 2015.
18. IPECE. Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará. Perfil básico municipal, 2015: Sobral. IPECE. Ceará, 18 p., 2015.
19. LAURENS, C., JEAN-PIERRE, H., LICZNAR-FAJARDO, P., HANTOVA, S., GODREUIL, S., MARTINEZ, O., JUMAS-BILAK, E. Transmission of IMI-2 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from river water to human. Journal of Global Antimicrobial Resistance, v.15, p.88–92, dec. 2018.
20. LAURETTI, L., RICCIO, M.L., MAZZARIOL, A., CORNAGLIA, G., AMICOSANTE, G., FONTANA, R. Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 43, p. 1584-1590, jul. 1999.
21. MELETIS, G. Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. Therapeutic Advances in Infectious Disease, v. 3, n. 1, p. 15-21, feb. 2016.
22. MESQUITA, N.S., SOUSA, M.C., CARACRISTI, I., DINIZ, S.F. Análise Socioambiental do Médio Curso do rio Acaraú – CE. REGNE, v. 2, p. 1-9, oct. 2016.
23. MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano. Ministério da Saúde. Brasília, 212 p, 2006.
24. MONTEIRO, J., SANTOS. A.F., ASENSI, M.D., PEIRANO, G., GALES, A.C. First report of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strain in Brazil. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 53, n. 1, p. 333-334, jan. 2009.
25. MONTEZZI, L.F., CAMPANA, E.H., CORRÊA, L.L., JUSTO, L.H., PASCHOAL, R.P., DA SILVA, S.L.V. D., SOUZA, M.C.M., DROLSHAGEN, M., PICÃO, R.C. Occurrence of carbapenemase-producing

- bacteria in coastal recreational waters. *International Journal of Antimicrobial Agents*, n. 45, p. 174–177, feb. 2015.
26. MOXON, C.A., PAULUS, S. Beta-lactamases in Enterobacteriaceae infections in children. *Journal of Infection*, v.72, p.41-49, jul. 2016.
 27. OLIVEIRA, U.C. Avaliação do uso e ocupação de áreas de preservação permanente no médio curso do Rio Acaraú e suas implicações na qualidade da água. Fortaleza, 2014. Dissertação de Mestrado-Universidade Estadual do Ceará, 2014.
 28. PASCHOAL, R.P., CAMPANA, E.H., CORRÊA, L.L., MONTEZZI, L.F., BARRUETO, L.R.L., DA SILVA, I.R., BONELLI, R.R., CASTRO, L.S., PICÃO, R.C. Concentration and Variety of Carbapenemase Producers in Recreational Coastal Waters Showing Distinct Levels of Pollution. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.61, p. 1-6, dec. 2017.
 29. PASSINI, M. R. Z. Aperfeiçoamento de uma técnica para extrair DNA de água do mar e comparação de métodos de extração de DNA na caracterização de uma comunidade bacteriana marinha. São Paulo, 2015. Dissertação - Mestrado - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2015.
 30. PICÃO, R.C., CARDOSO, J.P., CAMPANA, E.H., NICOLETTI, A.G., PETROLINI, F.V.B., ASSIS, D.M., JULIANO, L., GALES, A.C. The route of antimicrobial resistance from the hospital effluent to the environment: focus on the occurrence of KPC-producing *Aeromonas* spp. and Enterobacteriaceae in sewage. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 76, p. 80–85, may. 2013.
 31. QUEENAN, A.M.; BUSH, K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 20, n. 3, p. 440-458, jul. 2007.
 32. SILVA, C.M., EVANGELISTA-BARRETO, N.S., VIEIRA, R.H.S.DOS F., MENDONÇA, K.V., DE SOUSA, O.V. Population dynamics and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas* spp. along a salinity gradient in an urban estuary in Northeastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, v. 89, p. 96–101, dec. 2014.
 33. TANNER, W.D., VANDERSLICE, J.A., GOEL, R.K., LEECASTER, M.K., FISHER, M.A., OLSTADT, J., GURLEY, C.M., MORRIS, A.G., SEELY, K.A., CHAPMAN, L., KORANDO, M., SHABAZZ, K.A., STADSHOLT, A., VANDEVELDE, J., BRAUN-HOWLAND, E., MINIHANE, C., HIGGINS, P.J., DERAS, M., JABER, O., JETTE, D., GUNDLAPALLI, A.V. Multi-state study of Enterobacteriaceae harboring extended-spectrum beta-lactamase and carbapenemase genes in U.S. drinking water. *Scientific Reports*, v.9, n.1, p.1-8, mar. 2019.
 34. TOLEMAN, M.A., SIMM, A.M., MURPHY, T.A., GALES, A.C., BIEDENBACH, D.J., JONES, R.N., WALSH, T. R. Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo- β -lactamase isolated in latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 50, p.673-679, nov. 2002.
 35. TURANO, H., GOMES, F., MEDEIROS, M., OLIVEIRA, S., FONTES, L. C., SATO, M. I., LINCOPAN, N. Presence of high-risk clones of OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* (ST79) and SPM-1-producing *Pseudomonas aeruginosa* (ST277) in environmental water samples in Brazil. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v.86, n.1, p.80-82, sep. 2016.
 36. VASCONCELOS, F.R., REBOUÇAS, R.H., EVANGELISTA-BARRETO, N.S., DE SOUSA, O.V., VIEIRA, R.H.S.F. Perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas do açude Santo Anastácio, Ceará, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.77, n.3, p.405-410, jul-sep. 2010.
 37. VIEIRA, R.H.S.DOS F., VASCONCELOS, R.H. Balneabilidade das praias de Iracema e do Meireles (Fortaleza – CE) – Isolamento de cepas de *Escherichia coli* e sua sensibilidade a antimicrobianos. *Boletim Técnico Científico do Cepnor*, Belém, v.6, n.1, p.9-18, dec. 2006.
 38. VON WINTERSDORFF, C.J.H., PENDERS, J., VAN NIEKERK, J.M., MILLS, N.D., MAJUMDER, S., VAN ALPHEN, L.B., SAVELKOUL, P.H.M., WOLFFS, P.F.G. Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. *Frontiers in Microbiology*, v.7, art.173, p.1-10, feb. 2016.
 39. WOODFORD, N., WAREHAM, D.W., GUERRA, B., TEALE, C. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and non-Enterobacteriaceae from animals and the environment: an emerging public health risk of our own making? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, n.69, p.287–291, feb. 2014.
 40. YIGIT, H., QUEENAN, A.M., ANDERSON, G.J., DOMENECH-SANCHEZ, A., BIDDLE, J.W., STEWARD, C.D. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 45, n. 4, p. 1151-1161, apr. 2001.