



Investigação e determinação da susceptibilidade antimicrobiana de potenciais uropatógenos gram-negativos resistentes a ciprofloxacina em um esgoto doméstico da cidade de Divinópolis-MG

Investigation and determination of the antimicrobial susceptibility of potential gram-negative uropathogens resistant to ciprofloxacin in domestic sewage in the city of Divinópolis-MG

Rosana Cristina de Mello Andrade¹; Suellen Rayane Santos Carvalho¹; Bárbara de Oliveira Gomes¹; Daniela Carolina Simião²; William Gustavo Lima³; Magna Cristina de Paiva^{1*}

¹ Laboratório de Diagnóstico Laboratorial e Microbiologia Clínica, Campus Centro Oeste Dona Lindu, Universidade Federal de São João del Rei, Divinópolis, Minas Gerais, Brasil.

² Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

³ Faculdade Santa Casa de Belo Horizonte, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

***Autora Correspondente:** Magna Cristina de Paiva. Laboratório de Diagnóstico Microbiológico, Campus Centro Oeste Dona Lindu/ Universidade Federal de São João del-Rei. Rua Sebastião Gonçalves Coelho, 400, Chanadour, Divinópolis, Minas Gerais, Brasil CEP: 35501-293. (ORCID: 0000-0001-9375-7261) E-mail: magnacpaiva@ufsj.edu.br

Data de Submissão: 01/08/2023; Data do Aceite: 25/03/2024

Citar: ANDRADE, R. C. M.; CARVALHO, S. R. S.; GOMES, B. O.; SIMIÃO, D. C.; LIMA, W. G.; PAIVA, M. C. Investigação e determinação da susceptibilidade antimicrobiana de potenciais uropatógenos gram-negativos resistentes a ciprofloxacina em um esgoto doméstico da cidade de Divinópolis-MG. **Brazilian Journal of Health and Pharmacy**, v. 6, n. 1, p. 20-35, 2024. DOI: <https://doi.org/10.29327/226760.6.1-2>

RESUMO

As infecções do trato urinário (ITUs) são comuns na prática clínica e bactérias gram-negativas da ordem Enterobacterales, destacando *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.*, e gram-negativas não fermentadores de glicose são os principais uropatógenos. O tratamento das ITUs geralmente é instituído de forma empírica utilizando fluoroquinolonas, mas a resistência bacteriana a esses fármacos vem aumentando. Espécies potencialmente uropatogênicas podem fazer parte da microbiota humana e animal e chegam aos esgotos, onde são menos estudadas. Este trabalho teve como objetivo investigar a presença de potenciais uropatógenos gram-negativos resistentes a ciprofloxacina, bem como determinar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos, em amostra coletada em um esgoto doméstico em drenagem espontânea em uma cidade da região centro-oeste de Minas Gerais. Um litro de esgoto foi coletado e 100 µL da amostra (diluído e bruto) foram inoculados em caldo infuso cérebro e coração e, posteriormente, em ágar MacConckey suplementados com 4 µg/mL de ciprofloxacina. Para a identificação dos isolados foram utilizadas provas bioquímicas-fisiológicas e ágar cromogênico. O perfil de susceptibilidade dos isolados foi determinado pelo método de disco-difusão, e a produção de betalactamase de espectro estendido (ESBL) foi investigada fenotipicamente. Um total de 31 isolados gram-negativos resistentes a ciprofloxacina foi recuperado, todos pertencentes a ordem Enterobacterales: *E. coli* (n = 27), *Klebsiella pneumoniae* (n = 2), *Klebsiella oxytoca* (n = 1) e *Pantoea agglomerans* (n = 1). O perfil de susceptibilidade revelou alta taxa de resistência entre esses isolados para sulfametoxazol-trimetoprima (77,4%), amoxicilina/ácido clavulânico (48,4%), aztreonam (25,8%) e fosfomicina (22,5%). Dentre os 31 isolados Enterobacterales, oito (25,8%) foram ESBL-positivos. Os dados obtidos revelam que potenciais uropatógenos resistentes a ciprofloxacina circulam fora do ambiente clínico e por estarem em esgoto podem chegar aos cursos d'água, constituindo um risco a saúde da população.

Palavras-chave: Infecção urinária, Ciprofloxacina, Esgoto doméstico.



ABSTRACT

Urinary tract infections (UTIs) are common in clinical practice and gram-negative bacteria of the Enterobacteriales order, highlighting *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., and gram-negative non-glucose fermenters are the main uropathogens. The treatment of UTIs is usually instituted empirically using fluoroquinolones, but bacterial resistance to these drugs has been increasing. Potentially uropathogenic species can be part of the human and animal microbiota and reach the sewers, where they are less studied. This work aimed to investigate the presence of potential gram-negative uropathogens resistant to ciprofloxacin, as well as determine the susceptibility profile to antimicrobials, in a sample collected in a spontaneously draining domestic sewage in a city in the center-west region of Minas Gerais. One liter of sewage was collected and 100 µL of the sample (diluted and crude) were inoculated in brain and heart infused broth and, subsequently, in MacConkey agar supplemented with 4 µg/mL of ciprofloxacin. Biochemical-physiological tests and chromogenic agar were used to identify the isolates. The susceptibility profile of the isolates was determined by the disk-diffusion method, and the production of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) was investigated phenotypically. A total of 31 gram-negative ciprofloxacin-resistant isolates were recovered, all belonging to the order Enterobacteriales: *E. coli* (n = 27), *Klebsiella pneumoniae* (n = 2), *Klebsiella oxytoca* (n = 1) e *Pantoea agglomerans* (n = 1). The susceptibility profile revealed a high rate of resistance among these isolates to trimethoprim-sulfamethoxazole (77.4%), amoxicillin/clavulanic acid (48.4%), aztreonam (25.8%) and fosfomicin (22.5%). Among the 31 Enterobacteriales isolates, eight (25.8%) were ESBL-positive. The data obtained reveal that potential ciprofloxacin-resistant uropathogens circulate outside the clinical environment and, because they are in sewage, they can reach water courses, constituting a risk to the health of the population.

Keywords: urinary infection, ciprofloxacin, domestic sewage.

INTRODUÇÃO

As infecções do trato urinário (ITUs) estão entre as mais comuns doenças na prática clínica, atingindo pessoas de todas as faixas etárias. Além disso, tem sido relatada complicações no tratamento das ITUs, incluindo falha terapêutica em função do aumento da resistência bacteriana aos antimicrobianos com consequente aumento no número de internações, dos casos de bacteremia e exigência de terapia intravenosa (SCHWARTZ *et al.*, 2023).

Dentre as principais bactérias uropatogênicas, destaca-se *Escherichia coli*, outras gram-negativas pertencentes à ordem Enterobacteriales tais como *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., além de *Acinetobacter baumannii* complex e *Pseudomonas aeruginosa* (HEILBERG *et al.*, 2003).

O tratamento das ITUs habitualmente é iniciado por terapia empírica envolvendo diversas classes de antimicrobianos, tais como inibidores de folato, fosfomicina, compostos betalactâmicos, nitrofurantoína e quinolonas, direcionada pelo local

de infecção no trato urinário e a bactéria causadora (ZOWAWI *et al.*, 2015; BADER *et al.*, 2017; FEBRASGO, 2021). Deve ser ressaltado que têm sido descritas baixas taxas de resistência bacteriana para fosfomicina, nitrofurantoína e sulfametoxazol-trimetoprima, o que reforça a recomendação destes fármacos como opções primárias para o tratamento de ITUs (MICHALOPOULOS *et al.*, 2011; LI *et al.*, 2015).

Apesar da classe de antimicrobianos quinolonas não ser de primeira escolha para o tratamento de ITUs (BADER *et al.*, 2021); deve ser destacado que ciprofloxacina é o fármaco mais utilizado nas prescrições empíricas nestes casos, o que pode ser atribuído a sua maior capacidade de concentração nos tecidos e fluidos corpóreos. Além disso, está disponibilizada nas formas orais e intravenosas, favorecendo o manejo das ITUs em ambiente extra-hospitalar (SHARIATI *et al.*, 2022).

Quinolonas são antimicrobianos que inibem a atividade catalítica das enzimas topoisomerase II ou DNA girase e topoisomerase IV, induzindo danos ao DNA bacteriano (HUTCHINGS *et al.*, 2019; SPENCER *et al.*, 2023); e são



amplamente utilizadas, inclusive como promotores de crescimento de animais para consumo humano, o que tem resultado em aumento da resistência bacteriana (PASCHOAL *et al.*, 2009).

Em Enterobacteriales, o principal mecanismo de resistência as quinolonas envolve mutações cromossômicas nos genes que codificam as topoisomerases (*gyrA*, *gyrB*, *parC* e *parE*), em uma região denominada região determinante de resistência às quinolonas (QRDR, do inglês, *quinolone-resistance-determining regions*) (HERNÁNDEZ *et al.*, 2011). Porém, a partir de 1998, determinantes de resistência a quinolonas (*qnr*, *aac(6')Ib-cr*, *qeqpA* e *oqxAB* e seus variantes) transferidos por elementos genéticos móveis foram descritos, o que torna o cenário ainda mais desafiador (MARTINEZ-MARTINEZ *et al.*, 1998, ROBICSEK *et al.*, 2006; HERNÁNDEZ *et al.*, 2011). No Brasil os genes *qnrA*, *qnrB2*, *qnrB8*, *qnrB19*, *qnrS1* e *aac(6')Ib-cr* (CASTANHEIRA *et al.*, 2007, MINARINI *et al.* 2008, PAIVA *et al.*, 2012, VIANA *et al.*, 2013) já foram descritos em isolados clínicos.

Bactérias gram-negativas resistentes a quinolonas têm sido encontradas em ambientes aquáticos, tais como esgoto (PAIVA *et al.*, 2017). A água residual ou esgoto doméstico constitui um dos ambientes que recebem excretas humanas, água da chuva e outros resíduos das atividades antrópicas, incluindo resíduos de antimicrobianos, além de uma grande diversidade de microrganismos (STALDER *et al.*, 2013, NAIDOO, OLANIRAN, 2014). De acordo com Leonard *et al.* (2015), os ambientes aquáticos, incluindo os esgotos, são considerados reservatórios de bactérias, muitas com fenótipo de multirresistência e potencialmente uropatogênicas, com possibilidade de intercâmbio entre bactérias presentes em ambientes naturais e clínicos, o que pode oferecer risco à saúde da população.

Deve ser ressaltado que a maioria dos antimicrobianos, assim como quinolonas, não é totalmente metabolizada

pelo organismo humano e animal e os seus resíduos são excretados juntamente com as fezes e urina, podendo chegar a ambientes diversos, incluindo os aquáticos (BATT *et al.*, 2006). Também, resíduos de antimicrobianos não são removidos pelos tratamentos usualmente realizados em estações de tratamento de esgoto (ETE), podendo então atingir corpos d'água favorecendo o desenvolvimento e a disseminação de bactérias resistentes a antimicrobianos (PAIVA *et al.*, 2017).

Especificamente com as quinolonas, consideradas micropoluentes ambientais, o grupo funcional carboxila (-COOH) da molécula não é degradado pela luz solar quando em solução aquosa (TORNIANEN *et al.*, 1997). Assim, resíduos de quinolonas podem contaminar solo, água superficial, esgoto e efluente de estações de tratamento de esgoto, além da água disponibilizada para consumo humano, favorecendo o desenvolvimento e a disseminação da resistência bacteriana (JIA *et al.*, 2012; XIE *et al.*, 2012).

Estudos que visam atualizar os conhecimentos acerca das bactérias gram-negativas uropatogênicas em esgoto e que determinam os padrões de susceptibilidade aos antimicrobianos considerados como opções terapêuticas de grande relevância. Da perspectiva *one health* o monitoramento da circulação de bactérias potencialmente patogênicas e resistentes a antimicrobianos é imperativo, considerando a possibilidade de interação do microbioma ambiental, animal e humano. Neste contexto, deve ser destacado que esgotos são considerados *hotspots* para o desenvolvimento da resistência antimicrobiana, incluindo a ciprofloxacina, além da disseminação de genes ou determinantes de resistência via transmissão horizontal interespecie (PAIVA *et al.*, 2015; KIM, CHA, 2021). Assim, claramente, o achado de bactérias resistentes a ciprofloxacina em esgotos representa um risco à saúde pública, sobretudo devido à possibilidade de falência terapêutica na utilização empírica deste fármaco para o tratamento de ITUs.



Este trabalho teve por objetivo investigar a presença de potenciais uropatógenos gram-negativos resistentes a ciprofloxacina, bem como determinar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos, em amostra coletada em um esgoto em drenagem espontânea em uma cidade da região centro-oeste de Minas Gerais. Os dados deste trabalho poderão contribuir para a atualização dos protocolos de tratamento empírico de ITUs, minimizando assim as falências terapêuticas e as complicações clínicas do paciente.

METODOLOGIA

Coleta da amostra de esgoto

Foi coletado um litro de água de esgoto em drenagem direta e espontânea para um curso d'água na cidade de Divinópolis-MG, Brasil (20°08'20"S e 44°53'02"W). A amostra foi coletada em frasco de polipropileno com tampa de rosca previamente esterilizada e armazenada em gelo até a análise no Laboratório de Diagnóstico Laboratorial e Microbiologia Clínica da Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Centro-Oeste Dona Lindu, Divinópolis-MG.

Recuperação e identificação dos potenciais uropatógenos gram-negativos na amostra de esgoto doméstico

Para o isolamento das bactérias gram-negativas, foi realizada uma diluição seriada (10^{-1} a 10^{-7}) a partir de 50 mL da amostra de esgoto. Posteriormente 100 μ L de cada diluição e também da amostra bruta foram inoculados em caldo infuso cérebro e coração (LabM, Reino Unido) suplementado com 4 μ g/mL de ciprofloxacina e incubado a 37°C por 24 horas. Posteriormente, 100 μ L de cada caldo foi inoculado em ágar MacConckey (Isofar, Brasil) acrescido de 4 μ g/mL de ciprofloxacina (Sigma-Aldrich) utilizando a técnica de *spread plate*, em duplicata. A concentração de ciprofloxacina utilizada seguiu o Manual M100 S28 do *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2018), que estabelece que isolados bacterianos gram-negativos,

incluindo membros da ordem Enterobacterales e *Pseudomonas aeruginosa*, para os quais a concentração inibitória mínima (CIM) é ≥ 4 μ g/mL são considerados resistentes a este antimicrobiano. Para a identificação da espécie bacteriana foram utilizadas a técnica de coloração de Gram e testes bioquímicos-fisiológicos (KONEMAN *et al.*, 2008), incluindo: produção da enzima oxidase, fermentação de carboidratos (glicose, lactose e sacarose), produção de pigmentos, motilidade, descarboxilação de lisina, produção de indol, produção de H_2S , utilização de citrato e malonato como fonte de carbono, produção de urease, crescimento em temperatura de 4 e 42°C. Além disso, foi utilizado o ágar cromogênico (Renylab, Brasil) para identificação das colônias segundo a coloração resultante no ágar, de acordo com as instruções dos fabricantes.

Determinação do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos e da produção de mecanismo de resistência enzimática aos betalactâmicos

O perfil de susceptibilidade dos isolados bacterianos a fosfomicina (Sensifar), sulfametoxazol-trimetoprima (Sensifar) e a antimicrobianos betalactâmicos (CECON®) amoxicilina/ácido clavulânico (AMC), aztreonam (ATM), ceftazidima (CAZ), cefotaxima (CTX) e ceftriaxona (CRO) foi determinado pela técnica de difusão em ágar padronizada e interpretada segundo o CLSI, 2018, considerando os pontos de corte (*breakpoints*) estabelecidos pelo mesmo para cada antimicrobiano. *E. coli* ATCC 25922 foi utilizada como controle do experimento.

A produção de betalactamases de espectro estendido (ESBL) pelos isolados foi investigada utilizando um teste fenotípico com os substratos antimicrobianos ceftazidima, aztreonam, ceftriaxona e cefotaxima (CECON®), de acordo com o protocolo do CLSI (2018). Uma linhagem clínica de *K. pneumoniae* ESBL-positiva foi utilizada como controle positivo do experimento.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 31 isolados bacterianos resistentes a ciprofloxacina foi recuperado da amostra de esgoto coletada, todos da ordem Enterobacterales: *E. coli* (n = 27), *Klebsiella pneumoniae* (n = 2), *Klebsiella oxytoca* (n = 1) e *Pantoea agglomerans* (anteriormente *Enterobacter agglomerans*) (n = 1). Estudos têm mostrado que essas espécies são comuns em esgoto doméstico, uma vez que fazem parte da microbiota intestinal de humanos e animais e, dessa forma, são descarregadas neste ambiente (PAIVA *et al.* 2017; HARA *et al.*, 2018).

Estudos em amostra de estação de tratamento de esgoto (PAIVA *et al.* 2017) e de efluentes hospitalares, esgotos e águas superficiais (CONTE *et al.*, 2017) no Brasil têm revelado a presença de bactérias resistentes a fluoroquinolonas, sobretudo a ciprofloxacina, e assim como observado neste estudo, *E. coli* foi a mais recuperada. Ainda no Brasil, Ferreira (2015) também relataram maior recuperação de *E. coli* em esgoto hospitalar e doméstico resistentes a antimicrobianos, além da resistência a desinfetantes e tolerância à radiação ultravioleta.

Neste estudo, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* e *P. agglomerans* foram recuperadas, as quais são espécies importantes causadoras de infecção relacionada à assistência a saúde (IRAS) incluindo pneumonia, infecções na corrente sanguínea, feridas, meningites e infecções no trato urinário (CORNAGLIA *et al.*, 2017). *K. oxytoca* têm

sido raramente detectadas em esgotos, assim como *P. agglomerans*, o qual tem sido recuperado de amostra de lodo de estação de tratamento de esgoto (CONTE *et al.*, 2017, CHALE-MATSAU, SNYMAN, 2006). Em contraste, *K. pneumoniae*, sobretudo com alto perfil de resistência aos antimicrobianos, tem sido encontrada em ambientes relacionados a esgoto (SAVIN *et al.*, 2020).

Os dados epidemiológicos revelam que os patógenos *E. coli* e *K. pneumoniae* recuperados de amostras de urina na China apresentavam taxas de resistência a ciprofloxacina de 58,1% e 31,5%, respectivamente (NIU *et al.*; 2023). Porém, em outros estudos, taxas variáveis de resistência a fluoroquinolonas são observadas em *E. coli* e *Klebsiella* spp. recuperadas de esgoto doméstico. Por exemplo, Neyestani *et al.* (2023) relatam baixa prevalência de *E. coli* resistente a ciprofloxacina em água de esgoto (14,7%) no Iran, e, ao contrário, Paiva *et al.* (2017) apontam taxa de resistência de 52,5% a 100% no Brasil.

Considerando que fosfomicina, sulfametoxazol-trimetoprima e betalactâmicos são opções terapêuticas para o tratamento de ITUs causadas por Enterobacterales, sobretudo nos casos de resistência bacteriana às fluoroquinolonas, o perfil de susceptibilidade a esses compostos foi investigado neste estudo e é apresentado no Quadro 1.

Quadro 1: Perfil de susceptibilidade a fosfomicina, sulfametoxazol-trimetoprima e betalactâmicos entre os isolados bacterianos resistentes a ciprofloxacina recuperados de um esgoto doméstico da cidade de Divinópolis, MG.

IDENTIFICAÇÃO DO ISOLADO BACTERIANO	PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE							TESTE FENOTÍPICO PARA PRODUÇÃO ESBL
	FOS	SUT	Antimicrobianos Betalactâmicos				CAZ	
<i>Escherichia coli</i> _CIP1	S	R	R	R	R	R	R	+
<i>Escherichia coli</i> _CIP2	S	R	R	R	R	R	R	+
<i>Escherichia coli</i> _CIP3	S	R	R	R	R	R	R	+
<i>Escherichia coli</i> _CIP4	R	S	R	R	R	R	R	+
<i>Escherichia coli</i> _CIP5	S	R	R	R	R	R	R	+
<i>Escherichia coli</i> _CIP6	R	S	R	R	R	R	R	+
<i>Escherichia coli</i> _CIP7	S	S	R	R	R	R	R	+
<i>Escherichia coli</i> _CIP8	S	R	S	S	S	S	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP9	S	S	S	S	S	S	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP10	S	R	S	S	S	S	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP11	S	S	S	S	S	S	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP12	S	R	S	S	S	S	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP13	S	R	S	S	S	S	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP14	S	R	S	S	S	R	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP15	S	R	S	S	S	S	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP16	S	R	S	S	S	S	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP17	S	S	I	S	I	R	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP18	R	R	S	S	S	S	S	-
IDENTIFICAÇÃO DO ISOLADO BACTERIANO	PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE							TESTE FENOTÍPICO PARA PRODUÇÃO ESBL
	FOS	SUT	Antimicrobianos Betalactâmicos				CAZ	
<i>Escherichia coli</i> _CIP19	S	R	R	S	S	S	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP20	S	S	R	S	S	S	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP21	S	R	I	S	S	S	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP22	S	R	S	S	S	S	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP23	S	R	S	S	S	R	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP24	S	R	I	S	S	I	I	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP25	S	R	S	S	S	I	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP26	R	R	I	S	I	S	S	-
<i>Escherichia coli</i> _CIP27	R	R	S	S	S	S	S	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> _CIP28	S	R	S	S	S	S	S	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> _CIP29	S	R	R	R	R	R	R	+
<i>Klebsiella oxytoca</i> _CIP30	R	R	I	S	S	S	S	-
<i>Pantoea agglomerans</i> _CIP31	R	R	S	S	S	S	S	-

FOS-fosfomicina, SUT- sulfametoxazol-trimetoprima, AMC- amoxicilina/ácido clavulânico, ATM – aztreonam, CRO-ceftriaxona, CTX-cefotaxima,

CAZ-ceftazidima, ESBL-enzima betalactamase de espectro estendido, S- sensível, I-intermediário, R-resistente, (-) - negativo, (+) - positivo.



Para a fosfomicina foi observada uma taxa de resistência geral de 22,5% (07/31), sendo *E. coli* (5/27), *K. oxytoca* (1/1) e *P. agglomerans* (1/1) apresentaram esse fenótipo. Quanto aos isolados de *K. pneumoniae* (n=2), foi observada sensibilidade a fosfomicina, em contraste aos relatos de aumento da resistência a esse fármaco observados entre 2010 e 2015 na Alemanha (CORNAGLIA *et al.*, 2015). De fato, fosfomicina tem boa ação contra bactérias gram-negativas, principalmente *E. coli*, sendo considerado um antimicrobiano de primeira escolha para o tratamento de ITUs não complicadas (KOLONTAREV *et al.*, 2017; PARIKH *et al.*, 2017). No entanto, para *E. coli* produtora de enzima betalactamase de espectro estendido (ESBL), portanto resistente a alguns compostos betalactâmicos, a taxa de resistência a fosfomicina é maior que 81,0% (CORNAGLIA *et al.*, 2017). Porém, os mecanismos de resistência a fosfomicina nestas bactérias ainda não são completamente esclarecidos.

Deve ser ressaltado que estudos do perfil de susceptibilidade a fosfomicina em bactérias recuperadas de esgoto doméstico são escassos na literatura e limitado a algumas espécies bacterianas. Ishiguro *et al.* (2005) relatam ausência de resistência a fosfomicina em *Salmonella enterica* serovar Newport em Fukui Prefecture (Japão), porém Zaheer *et al.* (2019) detectaram determinantes de resistência a fosfomicina no resistoma de esgoto urbano do Canadá. Assim, os achados deste estudo são de grande relevância, pois revelam a resistência a fosfomicina entre potenciais patógenos e contribuem para ampliar o conhecimento do contexto da resistência aos antimicrobianos de importância clínica em ambientes extra clínicos.

Com relação ao sulfametoxazol-trimetoprima, uma alta taxa de resistência entre os isolados foi detectada (77,4%, 24/31), sendo observada resistência em 20/27 *E. coli*, e em todos os isolados de *Klebsiella* spp. e *P. agglomerans* (Quadro 1). De uma maneira geral, é observado no contexto clínico que bactérias gram-negativas da ordem Enterobacterales apresentam

resistência a fluoroquinolonas e sulfametoxazol-trimetoprima, o que pode resultar em falha terapêutica para o tratamento empírico de algumas infecções, incluindo ITUs (CORNAGLIA *et al.*, 2017). Hassen *et al.* (2020) relatam o achado de alta porcentagem (81,1%) de resistência simultânea a ciprofloxacina e sulfametoxazol/trimetoprima em espécies de Enterobacterales, principalmente *E. coli* e *K. pneumoniae* de águas residuais na Tunísia. Da mesma forma, isolados de *E. coli* e *Klebsiella* spp. recuperados de esgotos diversos (doméstico, hospitalar e de matadouros) mostraram também resistência a sulfametoxazol/trimetoprima e ciprofloxacina, mas maior sensibilidade a fosfomicina (SAVIN *et al.* 2020).

De um modo geral, com relação ao perfil de susceptibilidade aos betalactâmicos, foi observado que 45,1% (14/31) dos isolados foram sensíveis a todos os compostos testados. Dentre os antimicrobianos testados, amoxicilina/ácido clavulânico é o betalactâmico mais utilizado empiricamente na terapêutica das infecções causadas principalmente por *E. coli* (BADER *et al.*, 2017). Neste estudo, mesmo com a alta sensibilidade encontrada entre os isolados, foram identificadas espécies de *E. coli* (9/27) e uma *K. pneumoniae* resistentes a amoxicilina/ácido clavulânico, e, no geral isolados resistentes ou com sensibilidade diminuída a este composto resultaram em uma taxa de 48,4% (15/31).

Da mesma forma, Oliveira (2016) relata uma taxa de resistência a amoxicilina/ácido clavulânico de 50% em *E. coli* de esgoto doméstico de Itanhém - BA, Brasil, mostrando que esgotos domésticos podem configurar um ponto crítico da manutenção e disseminação da resistência bacteriana a esse fármaco. Também Nunes (2017) relatou a presença de isolados de *Klebsiella* spp. resistentes a diversos antimicrobianos, incluindo amoxicilina/ácido clavulânico recuperadas de um lago da cidade de Tramandaí - RS, Brasil. Além disso, Machado *et al.* (2015) mostraram que resistência bacteriana a este composto pode ser observada



em isolados de *E. coli* relacionados com o ambiente aquático, tal como em isolados a partir de pescados marinhos de Fortaleza- CE, Brasil.

De fato, em ambientes aquáticos que recebem efluente de esgoto doméstico, resistência a antimicrobianos amplamente utilizados na clínica tem sido observado. Moretto (2018) observou uma alta prevalência de *E. cloacae*, *E. coli* e *K. pneumoniae* resistentes a antimicrobianos em coleções hídricas de Ubaíra-BA, Brasil. De particular preocupação foi a detecção de isolados de *K. pneumoniae* ESBL-positivos e resistentes a antimicrobianos, tais como ampicilina/sulbactam, meropenem e imipenem, que apresentam potencial de disseminação e podem chegar ao cenário clínico.

Por outro lado, *P. agglomerans* foi sensível a todos os betalactâmicos testados (amoxicilina/ácido clavulânico, aztreonam, ceftriaxona, cefotaxima e ceftazidima) mas esta espécie pode produzir enzimas betalactamases em níveis baixos, não evidenciada fenotipicamente (SILVA, 2005). Esta espécie não tem sido recuperada de ambientes aquáticos com frequência. No Brasil, Ruiz (2010) encontrou bactérias do gênero *Enterobacter* spp., incluindo *P. agglomerans*, resistentes a alguns antimicrobianos tais como cefalotina, cefoxitina, ampicilina, ciprofloxacina e gentamicina em amostras de água de esgoto hospitalar de Votuporanga – SP. Em ambiente hospitalar, infecções causadas por *P. agglomerans* são frequentes e antimicrobianos betalactâmicos são opções terapêuticas (SILVA, 2005). Assim, o achado de espécies resistentes a esses antimicrobianos em esgoto hospitalar pode estar relacionado com a exposição prévia aos fármacos utilizados na terapêutica.

Vale ressaltar que aztreonam foi o antimicrobiano betalactâmico para os quais os isolados bacterianos apresentaram maior perfil de sensibilidade (23/31, 74,2%), seguido por ceftazidima e ceftriaxona (Quadro 1). Corroborando com os nossos resultados, Canal (2010) observou 100% de sensibilidade dos isolados

bacterianos de amostras de água da Lagoa dos Patos – RS a aztreonam, ceftazidima, cefotaxima, cefepime e cefoxitina. Entretanto, Dropa (2012) encontrou em seus estudos de amostras ambientais e clínicas cepas de *K. pneumoniae* com sensibilidade intermediária ao aztreonam e resistentes a ceftazidima.

Porém, para ceftaxima, 41,9% dos isolados aqui obtidos apresentaram algum mecanismo de resistência. Ruiz (2010) encontrou em amostras de água do Córrego Marinheiro em Votuporanga - SP, uma única cepa de *E. coli* com resistência intermediária a cefotaxima. Porém, ao analisar os isolados da mesma espécie de um esgoto hospitalar, o índice de resistência a cefotaxima foi de 61,9%. Considerando amostra de origem animal, Dias *et al.* (2010) observaram que 100% das cepas de *E. coli* de amostras de mexilhões em Niterói – RJ foram sensíveis a cefotaxima, possivelmente devido às condições do ambiente aquático. Dessa forma, o maior achado de isolados bacterianos cefotaxima-resistentes pode estar relacionado com a presença de resíduos de antimicrobianos nestes ambientes.

Dos 31 isolados Enterobacterales recuperados, oito (25,8%) foram considerados ESBL-positivo, sendo sete *E. coli* e uma *K. pneumoniae*. A produção dessa enzima é um importante mecanismo de defesa das Enterobacterales, uma vez que ela é capaz de hidrolisar penicilinas, cefalosporinas de todas as gerações e monobactâmicos e resulta em diminuição das opções terapêuticas (LAGO *et al.* 2010). Alguns estudos relatam a concomitância da resistência à ciprofloxacina e da produção de ESBL em bactérias do esgoto e isolados de pacientes com ITU (LAGO *et al.* 2010; SOUSA, 2014; TOLUN *et al.*, 2004). Chagas (2011) também identificou no esgoto hospitalar do Rio de Janeiro, Brasil, Enterobacterales produtoras de ESBL (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. agglomerans*, *E. cloacae*, entre outras) e uma taxa de 33% de co-resistência à ciprofloxacina. Da mesma forma, Diab *et al.* (2018) encontraram *E. coli* ESBL-positiva e com resistência associada às quinolonas em amostras de água oriundas



do esgoto do Líbano, com uma taxa maior (48,5%) que a verificada neste estudo.

Os mecanismos conhecidos de resistência as quinolonas são mutações nas enzimas DNA-girase e topoisomerase IV, bombas de efluxo, modificação do antimicrobiano, proteção do sítio alvo e redução da permeabilidade da membrana bacteriana, sendo que alguns desses podem ser disseminados principalmente via plasmídeos. Considerando que esses plasmídeos veiculam simultaneamente outros determinantes de resistência, tais como a compostos betalactâmicos e quaternários de amônio, a chance de a espécie bacteriana ser também produtora de ESBL é aumentada (SOUSA, 2014; TOLUN *et al.*, 2004; CHAGAS, 2011).

O achado de Enterobacterales ESBL-positivas em esgoto doméstico alerta para a disseminação deste mecanismo de resistência fora do cenário clínico, onde é mais descrito em função da alta pressão seletiva exercida pelos antimicrobianos. Achados similares a esse estudo mostram que estratégias devem ser elaboradas para conter essa disseminação. Por exemplo, Enterobacterales ESBL-positivo foram detectadas em amostras de esgoto municipal e hospitalar na Polônia (KORZENIEWSKA *et al.* 2013), no esgoto hospitalar do Rio de Janeiro, Brasil (CHAGAS, 2011) e também no esgoto doméstico do Peru (ALIAGA *et al.* 2015). Em todos esses estudos, as espécies mais resistentes foram *E. coli* e *K. pneumoniae*. Para além das Enterobacterales, Fontes *et al.* (2011) relataram a presença de *Pseudomonas aeruginosa* ESBL-positiva em amostras de água do Rio Tietê, SP, o que sugere a disseminação deste mecanismo de resistência entre bactérias encontradas no ambiente aquático.

A maioria das *E. coli* ciprofloxacina-resistentes foram ESBL-negativo, mas 7/27 apresentaram resistência a pelo menos um dos betalactâmicos testados (Quadro 1), o que sugere a presença de outros mecanismos de resistência a esses fármacos circulando no ambiente

estudado. Além disso, dentre todos os antimicrobianos, amoxicilina/ácido clavulânico foi o betalactâmico para o qual os isolados ESBL-negativos apresentaram o maior perfil de resistência ou sensibilidade intermediária (07/31, 22,5%). Possivelmente, esse fato se deve ao seu uso indiscriminado a longo prazo e descarte incorreto deste antimicrobiano, gerando pressão seletiva na comunidade bacteriana (ZAGUI, 2019).

Um dado importante deste trabalho foi o achado que todos os isolados ESBL-negativo apresentaram sensibilidade ao aztreonam. Esse antimicrobiano é uma importante opção terapêutica, sobretudo para o tratamento de infecções causadas por bactérias produtoras de carbapenemases do tipo metalobetalactamase, uma vez que não é hidrolisado por estas enzimas (TAN *et al.*, 2021).

Importantemente, isolados bacterianos multirresistentes (MDR), ou seja, apresentando perfil de resistência a um antimicrobiano de pelo menos três classes diferentes (MAGIORAKOS *et al.*, 2012) foram detectados neste estudo (10/31), incluindo todas as espécies identificadas. O Quadro 2 mostra os fenótipos de resistência encontrados. Ainda, foi observada também a presença de isolados (29/31) com resistência a pelo menos dois antimicrobianos simultaneamente (Quadro 1), sendo mais frequente isolados resistentes a sulfametoxazol-trimetoprima e ciprofloxacina (20 *E. coli* e quatro não *E. coli*). Considerando que os antimicrobianos testados são opções terapêuticas de ITU, é possível observar um cenário desafiador no manejo destas infecções, com limitações importantes das opções terapêuticas.



Quadro 2: Fenótipos de multirresistência identificados entre os isolados de Enterobacteriales a partir do esgoto doméstico.

FENÓTIPO DE RESISTÊNCIA	BACTÉRIAS (IDENTIFICAÇÃO/N)
CIP/SUT/Betalactâmico	<i>E. coli</i> (05), <i>K. pneumoniae</i> (01)
CIP/FOS/ Betalactâmico	<i>E. coli</i> (02)
CIP/FOS/SUT	<i>E. coli</i> (03), <i>K. oxytoca</i> (01), <i>P. agglomerans</i> (01)
CIP-ciprofloxacina, SUT- sulfametoxazol-trimetoprima, FOS-fosfomicina	

Voigt *et al.* (2019) relatam que há associação entre resíduos de antimicrobianos e a presença de bactérias portadoras de genes de resistência a antimicrobianos em águas residuais. Nesta direção, destaca-se a ciprofloxacina cujos resíduos permanecem em água de esgoto ou em instalações sanitárias, exercendo pressão seletiva sobre a população microbiana aquática (ARSAND *et al.*, 2020; SAVIN *et al.*, 2020).

No Brasil, investigação de resíduos de antimicrobianos em ambientes aquáticos ainda é pouco realizada. Arsand *et al.* (2020) demonstraram a presença de resíduos de ciprofloxacina e sulfametoxazol, dentre outros, em altas concentrações em vários pontos do rio Dilúvio, Porto Alegre-RS. Além disso, bactérias portadoras de genes de resistência a quinolonas foram detectadas, certamente como consequência da exposição a estes compostos.

Todo este cenário aponta mais uma vez para a necessidade de observar o uso racional de antimicrobianos, além de repensar a liberação do uso destes compostos como promotores de crescimento na criação de animais. Especificamente sobre quinolonas, existe uma sugestão à Organização Mundial de Saúde para priorizar a proibição do seu uso neste setor, apoiado sobre o fato de que a proibição na Austrália resultou em diminuição dos níveis da resistência bacteriana as quinolonas (SAVIN *et al.*, 2020).

De nota, o Brasil é considerado como um dos maiores mercados farmacêuticos do mundo na produção de medicamentos de uso humano e veterinário, e na contramão, apenas cerca de 40% do esgoto gerado é tratado, fato alarmante e que tem forte impacto com o desenvolvimento da resistência bacteriana (ARSAND *et al.*, 2020).

Por fim, bactérias gram-negativas, tanto de origem clínica quanto ambiental, têm apresentado alto perfil de resistência a antimicrobianos de importância clínica, o que requer uma atenção especial, pois isso causa um estreitamento nas opções de antimicrobianos para o tratamento das infecções, tornando uma real ameaça para a saúde pública.

Este trabalho apresenta limitações. Um maior número amostral poderia reforçar os achados e ou trazer mais informações a respeito da diversidade de Enterobacteriales ciprofloxacina-resistente em esgotos domésticos. Além disso, a utilização de abordagem molecular poderia evidenciar maior número de isolados produtores de ESBL, os quais podem não estar expressando os genes e, por tanto, não exibindo tal fenótipo.

CONCLUSÃO

Os achados deste estudo alertam para a presença de bactérias resistentes a ciprofloxacina no esgoto doméstico e que têm potencial de causar infecções em seres humanos, sobretudo no trato urinário.

Além disso, evidencia a resistência, ainda que em baixas proporções, a fosfomicina e sulfametoxazol-trimetoprima entre os isolados ambientais, o que é de grande relevância na elaboração de protocolos de tratamento empírico e alerta para a necessidade de mais pesquisas em isolados bacterianos desta origem.

A produção de ESBL entre os isolados recuperados, apesar da relativa baixa prevalência em esgotos, deve ser monitorada considerando a facilidade de disseminação a ambiente diversos, incluindo não clínico



e para preservar os antimicrobianos betalactâmicos que são de grande relevância clínica. Mais pesquisas nesta área devem ser conduzidas para monitorar e conter a disseminação da resistência antimicrobiana entre bactérias gram-negativas.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

R.C.M.A., S.R.C. e B.O.G. realizaram os testes para recuperação e identificação das espécies bacterianas além de realizarem dos testes de atividade aos antimicrobianos e de detecção de mecanismos de resistência enzimática aos betalactâmicos. D.C.S. auxiliou na manutenção/ crescimento dos microrganismos, interpretação dos dados, formatação e revisão crítica do manuscrito. W.G.L. realizou a revisão crítica do manuscrito. M.C.P. participou no desenho do estudo, desenvolvimento do conteúdo intelectual, e revisão crítica do manuscrito.

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram que não existe qualquer conflito de interesse com instituições públicas ou privadas.

Este trabalho está devidamente cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen, sob o número AB47537.

AGRADECIMENTOS

R.C.M.A. e D.C.S. agradecem a PROPE/UFSJ pela bolsa de iniciação científica.

Os autores agradecem a Sabrina Pereira pelo fornecimento da linhagem clínica de *K. pneumoniae* ESBL-positiva.

REFERÊNCIAS

ALIAGA, F.C.; ANDRADE, C.S.; ESCALANTE, E.G. Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en muestras fecales en el Instituto Nacional de Salud del Niño, Perú. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica**, v. 32, n. 1, p.

26-32, 2015.

ARSAND, B.J.; HOFF, B.R.; JANK, L.; BUSSAMARA, R.; DALLEGRAVE, A.; BENTO, M.F.; KMETZSCH, L.; FALÇÃO, A.D.; PERALBA, R.C.M.; GOMES, A.A.; PIZZOLATO, M.T. Presence of antibiotic resistance genes and its association with antibiotic occurrence in Dilúvio River in Southern Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 10, n. 738: 139781, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139781>

BADER, M.S.; LOEB, M.; BROOKS, A. A. An update on the management of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance, **Postgraduate Medicine**, v. 129, n. 2, p. 242-258, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/00325481.2017.1246055>

BATT, A.L.; BRUCE, B.; AGA, D.S. Evaluating the vulnerability of surface waters to antibiotic contamination from varying wastewater treatment plant discharges. **Environmental Pollution**, v. 142, n. 2, p. 295-302, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.10.010>

CANAL, N. **Caracterização de resistência a antimicrobianos e diversidade genética em Escherichia coli isoladas de amostras de água da Lagoa dos Patos, RS**. 2010. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

CASTANHEIRA, M.; PEREIRA, A.S.; NICOLETTI, A.G.; PIGNATARI, A.C.C.; BARTH, A.L.; GALES, A.C. First report of plasmid-mediated *qnrA1* in a ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* strain in Latin America. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 4, p. 1527-1529, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.00780-06>

CHAGAS, T.P.G. **Detecção de bactérias multirresistentes aos antimicrobianos em esgoto hospitalar no Rio de Janeiro**. 2011. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.



CHALE-MATSAU, J.R.; SNYMAN, H.G. The survival of pathogens in soil treated with wastewater sludge and in potatoes grown in such soil. **Water Science and Technology**, v. 54, n. 5, p. 163-168, 2006. DOI: <https://doi.org/10.2166/wst.2006.559>

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance for antimicrobial disk susceptibility tests**. M100 S28, 2018.

CONTE, D.; PALMEIRO, K.J.; NOGUEIRA, S.K.; LIMA, R.M.T.; CARDOSO, A.M.; PONTAROLO, R.; PONTESE, D.L.F.; COSTA, D.M.L. Characterization of CTX-M enzymes, quinolone resistance determinants, and antimicrobial residues from hospital sewage, wastewater treatment plant, and river water. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 136, p. 62-69, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.10.031>

CORNAGLIA, G.; BAZAJ, A.; MAZZARIOL, A. Multi-drug-resistant Gram-negative bacteria causing urinary tract infections: a review. **Journal of Chemotherapy**, v. 29, p. 2-9, 2017.

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, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.03.007>

DIAS, M.T.; SANTOS, P.C.R.F.; OLIVEIRA, L.A.T.; MARIN, V.A. Avaliação da sensibilidade de cepas de *Escherichia coli* isoladas de mexilhões (*Perna perna* Linnaeus, 1758) à antimicrobianos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 319-324, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000200005>

DROPA, M. **Disseminação da resistência a antimicrobianos em cepas clínicas e ambientais de Enterobacteriaceae: identificação e mapeamento do ambiente genético de genes codificadores de ESBL**. 2012. Tese (Doutorado em Saúde Pública). Universidade de São Paulo, São Paulo.

Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO). Infecção do trato urinário. (Protocolos FEBRASGO-Ginecologia, n. 49/ Comissão Nacional Especializada em Uroginecologia e Cirurgia Vaginal). São Paulo; 2021. Disponível em: <https://sogirgs.org.br/area-do-associado/Infeccao-do-trato-urinario-2021.pdf> Acesso em: 19/10/2023.

FERREIRA, C.J. **Bactérias potencialmente resistentes a antibióticos, desinfetantes e radiação ultravioleta, isoladas de esgoto hospitalar e esgoto sanitário**. 2015. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina.

FONTES, LC.; NEVES, P.R.; OLIVEIRA, S.; SILVA, K.C.; HACHICH, E.M.; SATO, M.I.Z.; LINCOPAN, N. Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* co-producing metallo- β -lactamase SPM-1 and 16S rRNA methylase RmtD-1 in an urban river. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 6, p. 3063-3064, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.00138-11>

HARA, H.; YUSAIMI, Y. A.; ZULKEFLLE, S. N. M.; SUGIURA, N.; IWAMOTO, K.; GOTO, M.; UTSUMI, M.; OTHMAN, N. B.; ZAKARIA, Z. Molecular characterization of multi-drug resistant *Escherichia coli* isolates from tropical environments in Southeast Asia. **The Journal of general and applied microbiology**, v. 64, n. 6, p. 284-292, 2018. DOI: <https://doi.org/10.2323/jgam.2018.02.003>

HASSEN, B.; ABBASSI, S.M.; BENLABIDI, S.; RIPA, R.L.; MAMA, M.O.; IBRAHIM, C.; HASSEN, A.; HAMMAMMI, S.; TORRES, C. Genetic characterization of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from wastewater and river water in Tunisia: predominance of CTX-M-15 and high genetic diversity. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 27, n. 35, p. 44368–44377, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10326-w>

HEILBERG, I.P.; SCHOR, N. Abordagem diagnóstica e



terapêutica na infecção trato urinário- ITU. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 49, n. 1, p. 109-116, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0104-42302003000100043>

HERNÁNDEZ, A.; SÁNCHEZ, M.B.; MARTINÉZ, J. Quinolone resistance: much more than predicted. **Frontiers in microbiology**, v. 2, n. 22, 2011. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00022>

HUTCHINGS, M.; TRUMAN, A.W.; WILKINSON, B. Antibiotics: past, present and future. **Current Opinion in Microbiology**, v. 51, p. 72-80, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>

ISHIGURO, F.; KYOTA, Y.; MOCHIZUKI, M.; FUSEDA, T.; OMOVA, S.; IZUMIYA, H.; WATANABE, H. Comparison of multidrug-resistant *Salmonella* enterica serovar Newport isolates from a patient and sewages in Fukui Prefecture. *Kansenshogaku zasshi*. **The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases**. v. 79, n. 4, p. 270-275, 2005. DOI: <https://doi.org/10.11150/kansenshogakuzasshi1970.79.270>

JIA, A.; WAN, Y.; XIAO, Y.; HU, J. Occurrence and fate of quinolone and fluoroquinolone antibiotics in a municipal sewage treatment plant. **Water Research**, v. 46, n. 2, p. 387-394, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.10.055>

KIM, D.W.; CHA, C.J. Antibiotic resistome from the One-Health perspective: understanding and controlling antimicrobial resistance transmission. **Experimental Molecular Medicine**, v. 53, n. 3, p. 301-309, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00569-z>

KOLONTAREV, B. K.; ZAITSEV, V.A. The role of fosfomycin in the management of urinary tract infections. **Urologia**, n. 4, p. 91-96, 2017. DOI: <https://doi.org/10.18565/urol.2017.4.91-96>

KONEMAN, E.; WINN JR, W.; STEPHEN, A.; JANDA, W.; PROCOP, G.; SCHRECKENBERBER, P.; WOODS, G. **Koneman. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas**

colorido. 6^a-ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KORZENIEWSKA, E.; KORZENIEWSKA, A.; HARNISZ, M. Antibiotic resistant *Escherichia coli* in hospital and municipal sewage and their emission to the environment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 91, p. 96-102, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.01.014>

LAGO, A.; FUENTEFRIA, S.R.; FUENTEFRIA, D.B. Enterobactérias produtoras de ESBL em Passo Fundo, estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 4, p. 430-434, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822010000400019>

LEONARD, A. F.; ZHANG, L.; BALFOUR, A.J.; GARSIDE, R.; GAZE, W.H. Human recreational exposure to antibiotic resistant bacteria in coastal bathing waters. **Environment International**, v. 82, p. 92-100, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.02.013>

LI, Y.; ZHENG, B.; LI, Y.; SAINAN, Z.; XUE, F.; LIU, J. Antimicrobial susceptibility and molecular mechanisms of fosfomycin resistance in clinical *Escherichia coli* isolates in Mainland China. **Plos One**, v. 10, n. 8, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135269>

MACHADO, A.D.; ARAUJO, R.L.; SOUSA, O.V.; VIEIRA, R.H.S.F. Resistência antimicrobiana em cepas de *Escherichia coli* isoladas de pescado marinho comercializado na feira livre do Mucuripe-Fortaleza-CE, Brasil, **Boletim do Instituto da Pesca**, v. 41, p. 931-943, 2015.

MAGIORAKOS, P.A.; SRINIVASAN, A.; CAREY, B.R.; CARMELI, Y.; FALAGAS, E.M.; GISKE, G.C.; HARBARTH, S.; HINDLER, F.J.; KAHLMETER, G.; LILJEQUIST, O.B.; PATERSON, L.D. RICE, B.L.; STELLING, J.; STRUELENS, J.M.; VATOPOULOS, A.; WEBER, T.J.; MONNET, L.D. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired



resistance. **Clinical microbiology and infection**, v. 18, p. 268–281, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>

MARTINEZ-MARTINEZ, L.; GARCIA, I.; BALLESTA, S.; BENEDI, V.J.; HERNÁNDEZ-ALLÉS, S.; PASCUAL, A. Energy dependent accumulation of fluoroquinolones in quinolone resistant *Klebsiella pneumoniae* strains. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**; v. 42, n. 7, p. 1850-1852, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.42.7.1850>

MICHALOPOULOS, A.S.; LIVADITIS, I.G.; GOUGOUTAS, V. The revival of fosfomycin. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 15, n. 11, p. 732-739, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.07.007>

MINARINI, L.A.R.; POIREL, L.; CATTOIR, V.; DARINI, A.L.C.; NORDMANN, P. Plasmid-mediated quinolone resistance determinants among enterobacterial isolates from outpatients in Brazil. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 62, n. 3, p. 474-478, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dkn237>

MORETTO, V.T. **Avaliação Microbiológica Da Água E O Perfil De Resistência Antimicrobiana Em Enterobactérias De Coleções Hídricas De Salvador E Área Rural Da Bahia**. 2018. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa). Fundação Oswaldo Cruz, Salvador.

NAIDOO, S.; OLANIRAN, A. O. Treated wastewater effluent as a source of microbial pollution of surface water resources. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, n. 1, p. 249–270, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph110100249>

NEYESTANI, Z.; KHADEMI, F.; TEIMOURPOUR, R.; AMANI, M.; ARZANLOU, M. Prevalence and mechanisms of ciprofloxacin resistance in *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients, healthy carriers, and wastewaters in Iran. **BMC Microbiology**, v. 23, n. 1: 191, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02940-8>

NIU, X.; HOU, B.; YANG, L.; WANG, W.; YU, Q.; MAO, M.; SHEN, W. Patterns of Drug Resistance and Bacterial Pathogen Distribution in Patients with Urinary Tract Infections in the Jiaying Region from 2020 to 2022. **Infection and Drug Resistance**, v. 6, n. 16, p. 5911-5921, 2023. DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S424158>

NUNES, A.A.T. **Resistência A Antimicrobianos E Fatores De Virulência Em *Klebsiella sp.* Isoladas Da Laguna De Tramandaí**. 2017. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

OLIVEIRA, S.R. **Densidade e diversidade de fenótipos de resistência a antimicrobianos de *Enterococcus sp.*, *Escherichia coli* e *Aeromonas sp* isoladas de água, sedimento e mexilhão coletados em Santos e Itanhaém**. 2016. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Aquática). Universidade Estadual Paulista / UNESP. São Paulo.

PAIVA, M.C.; NASCIMENTO, A.M.A.; CAMARGO, I.L.B.C.; LIMA-BITTENCOURT, C.I.; NARDI, R.M.D. The first report of the *qnrB19*, *qnrS1* and *aac(6)Ib-cr* genes in urinary isolates of ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 5, p. 687-689, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0074-02762012000500018>

PAIVA, M.C.; REIS, M.P.; COSTA, P.S.; DIAS, M.F.; BLEICHER, L.; SCHOLTE, L.L.S.; NARDI, R.M.D.; NASCIMENTO, A.M.A. Identification of new bacteria harboring *qnrS* and *aac(6)Ib-cr* and mutations possibly involved in fluoroquinolone resistance in raw sewage and activated sludge samples from a full-scale WWTP. **Water Research**, v. 110, p. 27-37, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.11.056>

PAIVA, M.C.; ÁVILA, M.P.; REIS, M.P.; COSTA, P.S.; NARDI, R.M.; NASCIMENTO, A.M. The Microbiota and Abundance of the Class 1 Integron-Integrase Gene in Tropical Sewage Treatment Plant Influent and Activated



Sludge. **PLoS One**, v. 10, n; 6, e0131532, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131532>

PARIKH, S.F. Fosfomycin: A Revisited Antibiotic for Urinary Tract Infections. **The Journal of the Association of Physicians of India**, v. 65, p. 9-11, 2017.

PASCHOAL, J.A.R.; REYES, F.G.R.; RATH, S. Quantitation and identity confirmation of residues of quinolones in tilapia fillets by LC-ESI-MS-MS QToF. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 394, n. 8, p. 2213-2221, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2900-z>

ROBICSEK, A.; STRAHILEVITZ, J.; JACOBY, G. A.; MACIELAG, M.; ABBANAT, D.; PARK, C. H.; BUSH, K.; HOOPER, D. C. Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. **Nature Medicine**, v. 12, n. 1, p. 83-88, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm1347>

RUIZ, L.G.P. **Resistência aos beta-lactâmicos e detecção dos genes *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M} e *bla*_{GES} em Enterobacteriaceae isoladas de efluentes hospitalar e comunitário em um município do noroeste paulista**. 2010. São José do Rio Preto. 92p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia). Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto.

SAVIN, M.; BIERBAUM, G.; HAMMER, J.A.; HEINEMANN, C.; PARCINA, M.; SIB, E.; VOIGT, A.; KREYENSCHMIDTA, J. ESKAPE Bacteria and Extended-Spectrum-Lactamase Producing *Escherichia coli* Isolated from Wastewater and Process Water from German Poultry Slaughterhouses. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 86, n. 8, e02748-19, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.02748-19>

SCHWARTZ, L.; DEDIOSRUIZ-ROSADO, J.; STONEBROOK, E.; BECKNELL, B.; SPENCER, J.D. Uropathogen and host responses in pyelonephritis. **Nature Reviews Nephrology**, v. 19, n. 10, p. 658-671, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41581-023-00737-6>

SHARIATI, A.; ARSHADI, M.; KHOSROJERDI, M.A.;

ABEDINZADEH, M.; GANJALISHAHI, M.; MALEKI, A.; HEIDARY, M.; KHOSHNOOD, S. The resistance mechanisms of bacteria against ciprofloxacin and new approaches for enhancing the efficacy of this antibiotic. **Frontiers in Public Health**, v. 10:1025633, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1025633>

SILVA, J.B. **Análise do perfil de sensibilidade a antimicrobianos, similaridade genética e adequação da terapia antimicrobiana em amostras de *Enterobacter* spp. resistentes à cefalosporina de quarta geração isoladas em hemoculturas no Hospital São Paulo**. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Básicas em Doenças Infecciosas e Parasitárias). Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.

SOUSA, R.R.F. **Pesquisa de genes de resistência a quinolonas em bacilos Gram negativos de origem clínica e ambiental**. 2014. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública). Universidade de São Paulo, São Paulo.

SPENCER, A.C.; PANDA, S.S. DNA Gyrase as a Target for Quinolones. **Biomedicines**, v. 11, n. 2:371, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines11020371>

STALDER, T.; ALRHMOUN, M.; CASELLAS, M.; MAFTAH, C.; CARRION, C.; PONS, M. N.; PAHL, O.; PLOY, M. C.; DAGOT, C. Dynamic assessment of the floc morphology, bacterial diversity, and integron content of an activated sludge reactor processing hospital effluent. **Environmental Science and Technology**, v. 47, n. 14, p. 7909-7917, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1021/es4008646>

TAN, X.; KIM, H.S.; BAUGH, K.; HUANG, Y.; KADIYALA, N.; WENCES, M.; SINGH, N.; WENZLER, E.; BULMAN, Z.P. Therapeutic Options for Metallo- β -Lactamase-Producing Enterobacterales. **Infection and Drug Resistance**, v. 14, p. 125-142, 2021.

TOLUN, V.; KÜÇÜKBASMACI, O.; TÖRÜMKÜNEY-AKBULUT, D.; CATAL, C.; ANĞ-KÜÇÜKER, M.; ANĞ, O. Relationship between ciprofloxacin resistance and extended-spectrum β -lactamase production in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*



strains. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 10, n. 1, p.72-75, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2004.00723.x>

TORNIAINEN, K.; MATTINEN, J.; ASKOLIN, C.; TAMMILEHTO, S. Structure elucidation of a photodegradation product of ciprofloxacin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 15, n. 7, p. 887-894, 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0731-7085\(96\)01921-8](https://doi.org/10.1016/s0731-7085(96)01921-8)

VIANA, A.L.; CAYO, R.; AVELINO, C.C; GALES, A. C.; FRANCO, M. C.; MINARINI, L. A. R. Extended-spectrum betalactamases in Enterobacteriaceae isolated in Brazil carry distinct types of plasmid mediated quinolone resistance genes. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, p. 1326–1331, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.055970-0>

VOIGT, A.M.; ZACHARIAS, N.; TIMM, C.; WASSER, F.; SIB, E.; SKUTLAREK, D.; PARCINA, M.; SCHMITHAUSEN, R.M.; SCHWARTZ, T.; HEMBACH, N.; TIEHM, A.; STANGE, C.; ENGELHART, S.; BIERBAUM, G.; KISTEMANN, T.; EXNER, M.; FAERBER, H.A.; SCHREIBER, C. Association between antibiotic residues, antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in anthropogenic wastewater – An evaluation of clinical influences. **Chemosphere**, v. 241, n. 125032, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125032>

XIE, Y. F.; LI, X. W.; WANG, J. F.; CHRISTAKOS, G.; HU, M. G.; AN, L. H.; LI, F. S. Spatial estimation of antibiotic residues in surface soils in a typical intensive vegetable cultivation area in China. **The Science of the Total Environment**, v. 430, p. 126-131, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.071>

ZAGUI, G.S. **Avaliação da mutirresistência a antibióticos e produção de ESBL e carbapenemases em bacilos gram-negativos de efluente hospitalar e urbano**. 2019. Dissertação (Mestrado em Enfermagem em Saúde Pública). Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

ZAHEER, R.; LAKIN, S.M.; POLO, R.O.; COOK, S.R.; LARNEY, F.J.; MORLEY, P.S.; BOOKER, C.W.; HANNON, S.J.; DOMSELAAR, G.V.; READ, R.; ALLISTER, T.A. Comparative diversity of microbiomes and resistomes in beef feedlots, downstream environments and urban sewage influente. **BMC Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 197, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1548-x>

ZOWAWI, H. M.; HARRIS, P. N.; ROBERTS, M. J.; TAMBYAH, P. A.; SCHEMBRI, M. A.; PEZZANI, M. D.; WILLIAMSON, D. A.; PATERSON, D. L. The emerging threat of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in urology. **Nature Reviews Urology**. v. 12, n. 10, p. 570-584, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrurol.2015.199>