

Deteção de bactérias gram-negativas resistentes à colistina e minociclina em efluente de estação de tratamento de esgoto doméstico de Minas Gerais, Brasil.

Detection of gram-negative bacteria resistant to colistin and minocycline in effluent from a domestic sewage treatment plant in Minas Gerais, Brazil.

Gabriela de Oliveira Sartori¹, Ana Beatriz de Castro Costa¹, Karina Marjorie Silva Herrera¹, 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.

***Autor correspondente:** Magna Cristina de Paiva (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9375-7261>)

E-mail: magnacpaiva@ufsj.edu.br

Data de Submissão: 14/04/2025; Data do Aceite: 30/06/2025.

Citar: SARTORI, G. O.; COSTA, A. B. C.; HERRERA, K. M. S.; PAIVA, M.C. Detecção de bactérias gram-negativas resistentes a minociclina e colistina em efluente de estação de tratamento de esgoto doméstico de Minas Gerais, Brasil. **Brazilian Journal of Health and Pharmacy**, v. 7, n. 3, p. 64 - 74, 2025. DOI: <https://doi.org/10.29327/226760.7.3-5>

RESUMO

Resistência antimicrobiana (RAM) pode ser detectada em bactérias de diversos ambientes, incluindo o aquático. Micropoluentes como antimicrobianos, chegam aos corpos hídricos por descarte incorreto ou como resíduo em excretas humana e animal, não sendo totalmente removidos pelas estações de tratamento de esgoto (ETEs). Assim, nos efluentes das ETEs, permanecem em concentração subinibitória exercendo pressão seletiva sobre a comunidade bacteriana local. Este estudo visou identificar bactérias gram-negativas resistentes à colistina (COL) e minociclina (MIN) em efluente da ETE Várzea das Flores, Carmópolis de Minas-MG. Dois litros do efluente foram coletados e 20 mL inoculados em caldo BHI (180 mL). Após a incubação (24 h/ 35 ± 2°C), 100 µL das diluições seriadas (10⁻¹ a 10⁻⁷) foram inoculadas em ágar MacConkey puro e suplementado com COL, MIN e COL + MIN, em concentrações determinadas pelo CLSI e BrCAST (2023), utilizando a técnica de *spread plate*. Posteriormente foi realizada a contagem das colônias e os morfotipos obtidos identificados utilizando ágar cromogênico e provas bioquímicas. 31 morfotipos (equivalente a 21.700 UFC/mL) pertencentes à ordem Enterobacterales (seis *Klebsiella pneumoniae*, 17 *Proteus mirabilis* e oito *Escherichia coli*) resistentes a COL+ MIN, de particular preocupação no cenário clínico pelo desafio do manejo terapêutico das infecções, foram submetidos ao teste fenotípico para a investigação da proteína *Mobilized Colistin Resistance* (MCR). Apenas um isolado (*E. coli*) foi considerado produtor de MCR. Esses achados alertam para o risco à saúde humana e animal que o efluente da ETE pode representar e apontam para a necessidade de intervenções em ETEs para mitigar tais riscos e a disseminação da RAM.

Palavras-chave: Enterobactérias; Farmacorresistência bacteriana; Efluente.

ABSTRACT

Antimicrobial resistance (AMR) can be detected in bacteria from various environments, including aquatic environments. Micropollutants such as antimicrobials can reach water bodies through incorrect disposal or as residue in human and animal excreta and aren't completely removed by sewage wastewater treatment

plants (WWTPs). Thus, in WWTP effluents, these residues remain at subinhibitory concentrations and exert selective pressure on the local bacterial community. This study aimed to identify gram-negative bacteria resistant to colistin (COL) and minocycline (MIN) in effluent from Várzea das Flores WWTP, Carmópolis de Minas-MG. Two liters of effluent were collected and 20 mL inoculated in BHI broth (180 mL). After incubation (24 h/ $35 \pm 2^\circ\text{C}$), 100 μL of serial dilutions (10^{-1} to 10^{-7}) were inoculated on unsupplemented and supplemented MacConkey agar with COL, MIN and COL + MIN, using the spread plate technique. Antimicrobial concentrations were defined according to CLSI and BrCAST (2023). Then, the colonies were counted and the morphotypes were identified using chromogenic agar and biochemical tests. 31 morphotypes (equivalent to 21,700 CFU/mL) belonging to the order Enterobacterales (six *Klebsiella pneumoniae*, 17 *Proteus mirabilis* and eight *Escherichia coli*) resistant to COL+ MIN, of particular concern in the clinical setting due to the challenge of therapeutic management of infections, were subjected to phenotypic testing to investigate the Mobilized Colistin Resistance (MCR) protein. Only one isolate (*E. coli*) was considered a producer of MCR. These findings highlight the risk to human and animal health that WWTP effluents may pose and point to the need for interventions in WWTPs to mitigate such risks and the spread of AMR.

Keywords: Enterobacteria; Bacterial drug resistance; Effluent.

INTRODUÇÃO

A água é essencial para a vida na terra e, a propósito de minimizar a sua escassez, a implementação de estações de tratamento de esgotos (ETEs) tem sido uma estratégia extremamente relevante para restauração da potabilidade (DENG et al., 2019).

Alguns micropoluentes, todavia, são recalcitrantes e não são completamente removidos com os tratamentos adotados pelas ETEs (NARCISO-DA-ROCHA et al., 2014). Dentre esses, destacam-se os resíduos de antimicrobianos, dos quais a maioria não é fotodegradada e permanece ativo em concentrações subinibitórias, acarretando riscos ao meio ambiente e a toda população do entorno, além de impactar o microbioma aquático (POLIANCIUC et al., 2020).

De fato, esses resíduos podem agir como favorecedores da resistência antimicrobiana (RAM), uma vez que bactérias do ecossistema natural aquático têm grande plasticidade e podem transferir horizontalmente os genes que conferem essa habilidade (PERVEEN et al., 2023).

Neste contexto, os efluentes das ETEs são de

elevada importância, sendo considerados *hotspot* no desenvolvimento e disseminação da RAM (OJER-USOZ et al., 2014), um evento natural e adaptativo que vem se tornando uma ameaça para a saúde pública, sendo identificado como um dos maiores agravos desse século (WHO, 2014; RODRÍGUEZ et al., 2020). De particular preocupação é o fato de que bactérias que circulam em ambientes aquáticos, tais como da ordem Enterobacterales, são potencialmente patogênicas para os seres humanos (MACHADO et al., 2023).

Enterobacterales com resistência a antimicrobianos betalactâmicos, especialmente a cefalosporinas de terceira geração e carbapenêmicos, são consideradas de prioridade crítica pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2024) no sentido de monitorar e controlar a RAM, assim como de desenvolver pesquisas de novos fármacos. Além disso, deve ser ressaltado que para o manejo clínico das infecções causadas por essas bactérias, antimicrobianos como minociclina e colistina têm sido incluídos nos protocolos (NAVARRO et al., 2023).

Minociclina (MIN), um composto da classe das

tetraciclina, possui um amplo espectro de ação e age a nível ribossomal (subunidade 30s) bacteriano. Apesar de ter sido reintroduzido na clínica em 2009 devido ao aumento da RAM (TSAKRIS et al., 2019), mecanismos de resistência bacteriana a esse fármaco têm sido descritos, sendo o principal o efluxo ativo do antimicrobiano (ASADI et al., 2020).

Por outro lado, colistina (COL, polimixina E) que age a nível da membrana celular bacteriana, é considerada de última linha para o tratamento de infecções causadas por bactérias gram-negativas multirresistentes (MDR) (FABRIN; VIZZOTTO, 2019). Para este fármaco, a resistência bacteriana pode ocorrer de forma intrínseca como para *Proteus* spp., *Morganella morganii* e *Serratia marcescens*, além de mecanismos cromossômicos e plasmidiais com veiculação do gene *mcr-1* (*mobilized colistin resistance*) (FABRIN; VIZZOTTO, 2019), este último de particular preocupação devido ao potencial de disseminação interespecie, incluindo entre Enterobacterales de origem clínica e ambiental (HAMEL et al., 2021).

Conhecer o perfil de resistência de bactérias de ambientes aquáticos, sobretudo poluídos, é de grande relevância, no sentido de mostrar a necessidade de adoção de estratégias de despoluição e preservação ambiental. Além disso, no contexto da RAM, é importante considerar, sob a perspectiva *one health*, a possibilidade de intercâmbio de bactérias, bem como dos seus genes de resistência, entre os cenários humano e animal com risco de infecções, algumas com opções terapêuticas limitadas (NAVARRO et al., 2023).

Assim, o impacto acarretado pela RAM em ambientes aquáticos deve ser avaliado levando em consideração a crescente contaminação. Diante do exposto, esse trabalho teve como objetivo investigar qualitativa e quantitativamente a presença de bactérias gram-negativas resistentes à MIN e COL em efluente de uma ETE. Os dados obtidos evidenciam a necessidade

de tomada de ação frente a descarga de efluentes tratados em cursos d'água, auxiliando no combate da disseminação da RAM e, como consequência, na manutenção da saúde humana e animal.

MÉTODO

Amostra de água

Foram coletados dois litros do efluente (EF) da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) Várzea das Flores do Serviço de Saneamento Ambiental Municipal (SESAM) (coordenadas geográficas -20° 32' 47" S, 44° 39' 18" W), na cidade de Carmópolis de Minas-MG. As amostras foram colocadas em frascos de polipropileno com tampa de rosca previamente esterilizados, que foram armazenados em gelo até a análise no Laboratório de Microscopia, Diagnóstico Laboratorial e Microbiologia Clínica da Universidade Federal de São João del Rei, Campus Centro-Oeste Dona Lindu, Divinópolis-MG. Este trabalho está devidamente cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen, sob o número A237A8E.

Cultura, quantificação e isolamento das colônias de bactérias gram-negativas

Para a verificação do possível crescimento bacteriano, 20 mL da amostra de EF foram submetidos a cultura em balão contendo 180 mL de caldo *Brain Heart infusion* (BHI, Difco) e incubado a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas.

Após o período de incubação, o balão foi observado para a inspeção macroscópica da turbidez, um indício do crescimento bacteriano. 100 µL de diluições seriadas (10^{-1} a 10^{-7}) foram transferidos e distribuídos na superfície de ágar MacConkey (Isofar, Brasil) puro (controle de crescimento) e suplementado com antimicrobianos MIN (16 µg/mL), COL (4 µg/mL) e MIN+COL (16/4 µg/mL), em duplicata. As concentrações dos antimicrobianos foram definidas de acordo com os pontos de corte da categoria de

bactérias gram-negativas resistentes segundo o *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI, 2023) para MIN e COL, além de considerar o estabelecido pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCast, 2023) para COL, baseado no *Epidemiological Cut-off Value* (ECOFF).

Após o período de incubação, foi observado o crescimento de colônias em ágar MacConkey e foi realizada a quantificação do número total de bactérias gram-negativas, considerando as placas com crescimento de 20 a 200 colônias. O número total de colônias de bactérias gram-negativas (UFC/mL) foi calculado usando a equação:

número de colônias x fator de diluição da água x volume inoculo

Em seguida, as colônias foram analisadas para observação das diferenças de morfotipos, os quais foram selecionados e inoculados em 1 mL de caldo BHI em placas *deep well* para o isolamento e incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 h. Após a incubação, uma estria composta de cada inóculo foi feita em ágar MacConkey para verificação da pureza e as placas incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 h.

Apenas os isolados resistentes à COL + MIN foram selecionadas para caracterização (identificação no nível de espécie e investigação de mecanismo de resistência plasmidial a COL codificado pelo gene *mcr*: proteína MCR) considerando seu maior impacto por serem resistentes a antimicrobianos de uso em manejo terapêutico de infecções causadas por bactérias gram-negativas MDR.

Identificação das bactérias gram-negativas resistentes aos antimicrobianos recuperadas do efluente da ETE

Todas as colônias obtidas foram submetidas à coloração de Gram e identificadas utilizando ágar cromogênico (Probac, Brasil) de acordo com as orientações do fabricante. Além disso, para as colônias cuja identificação não foi completamente definida

pelo ágar cromogênico, foram realizadas provas de identificação bioquímico-fisiológicas, 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 e da produção de urease (KONEMAN et al, 2008).

Posteriormente, três a cinco colônias de cada morfotipo identificado foram colocadas em caldo BHI e incubadas à temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por um período de 18-24 horas. Após este período, 500 μL da cultura foram transferidos para microtubos estéreis, nos quais foram acrescidos de glicerol 15% v/v e estocados a -20°C . As espécies bacterianas foram catalogadas e incorporadas à bacterioteca do Laboratório de Microscopia, Diagnóstico Laboratorial/ Microbiologia Clínica do *Campus Centro-Oeste Dona Lindu* da UFSJ.

Investigação fenotípica de MCR nas bactérias gram-negativas resistentes à minociclina e colistina recuperadas do efluente da ETE

Foi realizada a investigação de MCR nos isolados resistentes a MIN+COL de acordo com Escalante e colaboradores (2020). Para o teste, um inóculo em caldo BHI (TM Media, Índia), compatível com a escala 0,5 de Mac Farland (10^8 UFC/mL), foi produzido.

Em seguida, foram realizados inóculos circulares de aproximadamente 10 a 15 mm com auxílio de um *swab* na superfície de placas contendo ágar Mueller-Hinton (MH) (Himedia, Índia) acrescido de COL em concentração final de 3 $\mu\text{g/mL}$ (placa A). Foi realizado também, um inóculo em outra placa contendo ágar MH acrescido de COL (3 $\mu\text{g/mL}$) mais 1 mM EDTA (placa B). Como controle de crescimento, foi produzida uma placa de ágar MH com 1mM de EDTA (placa C), com o objetivo de excluir qualquer interferência no crescimento da bactéria.

As placas foram incubadas a 35°C por 24h, sendo o experimento realizado em duplicata. Os resultados

foram avaliados por meio do crescimento na placa A, onde a presença de pelo menos três colônias indica resistência à COL e, quando combinada a ausência de crescimento na placa B, indica a presença da proteína MCR no isolado bacteriano.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da amostra do EF, foi observado crescimento bacteriano abundante nas culturas controle e suplementadas com antimicrobianos, cuja quantificação é apresentada no Tabela 1.

Tabela 1: Apresentação dos números de morfotipos e de colônias recuperadas a partir da amostra de água do efluente da Estação de Tratamento de Esgoto Várzea das Flores, Carmópolis de Minas, MG.

Meio de cultura e suplemento	Número de morfotipos recuperados (n)	Número de colônias (UFC/mL)
Ágar MacConkey (controle)	50	35.000
Ágar MacConkey + Minociclina	37	25.900
Ágar MacConkey + Colistina	36	25.200
Ágar MacConkey + Minociclina + Colistina	31	21.700

UFC – unidade formadora de colônias

Nas amostras de EF da ETE do presente estudo, foram recuperadas bactérias de relevância clínica, em quantidade elevada quando comparada ao controle ágar MacConkey sem antimicrobianos, que permitiu validar o experimento revelando a viabilidade bacteriana, com as culturas suplementadas com MIN, COL e MIN + COL (Tabela 1). Esses achados são alarmantes, uma vez que esse efluente chega em cursos d'água e pode colocar a população do entorno sob risco de contaminação e aquisição de infecções por bactérias com perfil de resistência a antimicrobianos.

Após identificação, foi observado que todos os morfotipos selecionados (n=31) pertencem a ordem Enterobacterales (seis *Klebsiella pneumoniae*; 17 *Proteus mirabilis* e oito *Escherichia coli*).

É importante destacar que as espécies bacterianas recuperadas a partir de EF da ETE Várzea das Flores de Carmópolis de Minas -MG, também têm sido encontradas em outros ambientes *K. pneumoniae* e *E.*

coli foram encontrados em amostras de ETEs, rios e efluentes hospitalares no Paraná, Brasil (CONTE et al., 2017), enquanto *P. mirabilis* em efluentes não tratados de hospitais em Ibadan, Nigéria (AJAYI-ODOKO et al., 2023).

Também, essas bactérias com perfil de susceptibilidade variável a antimicrobianos de relevância clínica estão amplamente distribuídas em ambientes aquáticos (AGUIAR, 2020, SILVA et al., 2023). Na Tunísia, *K. pneumoniae* e *E. coli* carreando genes de resistência a cefotaxima foram detectadas em ETEs e rio receptor dos efluentes tratados (HASSEN et al., 2020). Por outro lado, *P. mirabilis* carreando genes de resistência à quinolonas foram recuperados de uma ETE em Guelph, Ontário (BOTSCHNER et al., 2023) e em Ibadan, Nigéria (AJAYI-ODOKO et al., 2023). No Brasil, *K. pneumoniae* e *E. coli* resistentes à beta-lactâmicos foram encontradas em ETEs da FIOCRUZ, RJ (ABRANTES, 2022), enquanto *P. mirabilis* resistentes as quinolonas e aminoglicosídeos foram identificados em uma ETE de Belo Horizonte, MG (PAIVA et al., 2017).

Especificamente com resistência aos antimicrobianos aqui estudados, *E. coli* e *K. pneumoniae* resistentes a COL foram detectadas respectivamente em amostras de ETEs na China (WANG et al., 2023) e na Itália (DI CESARE et al., 2024), enquanto no México, *E. coli* resistentes à MIN foram encontradas em águas superficiais (ORTEGA-BALLEZA et al., 2024),

No entanto, no efluente deste estudo, a resistência em *K. pneumoniae*; *P. mirabilis* e *E. coli* foi simultânea a MIN e COL, o que traz preocupação considerando que estas chegarão ao meio ambiente, com seus fenótipos de resistência e com grande potencial de disseminação da RAM interespecíes. Além disso, esses compostos são antimicrobianos amplamente utilizados na clínica, sobretudo em infecções por gram negativo MDR, frequentes agentes de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) (TSAKRIS et al., 2019; CHERAK et al., 2021; MONDAL et al., 2024).

Adicionalmente, os isolados de *K. pneumoniae* (n=6) e *E. coli* (n=8) resistentes à MIN e COL foram submetidos ao teste de investigação fenotípica de MCR, responsável pela resistência à COL, codificada pelo gene *mcr*, de origem plasmidial e com grande potencial de disseminação via elementos genéticos móveis (EL-SAYED AHMED et al., 2020).

Proteus spp., conhecidamente resistentes intrinsecamente a COL, assim como outras espécies dos gêneros *Morganella* e *Serratia* (OLAITAN et al., 2014) não foram submetidos a testes fenotípicos para investigação de MCR, uma vez que testes genotípicos são necessários para detectar a presença do gene *mcr*. Por outro lado, *E. coli* e *Klebsiella* spp. podem adquirir resistência à COL por transferência horizontal do gene *mcr*, passível de ser detectado fenotipicamente nestas bactérias (CHERAK et al., 2021; ESCALANTE et al., 2020).

Dentre os isolados aqui investigados, apenas um isolado de *E. coli* (1/14, 7,1%) foi considerado positivo para MCR, uma prevalência baixa que pode estar relacionada com a menor disseminação desse

mecanismo de resistência descoberto na China em 2015 (LIU et al., 2016). De fato, de acordo com Elbediwi e colaboradores (2019), a prevalência de genes *mcr* no mundo é de cerca de 4,6%, sendo *E. coli* a de maior predominância em que o gene *mcr* tem sido detectado. Como revisado por Mondal e colaboradores (2024), dentre Enterobacterales, a frequência de *mcr* é maior em *E. coli* (91,0%) e menor em *P. mirabilis* (0,2%), mas esse gene também circula entre *Salmonella* entérica e *Enterobacter* spp.

Deve ser destacado que bactérias portadoras do gene *mcr* estão distribuídas tanto no cenário clínico quanto ambiental, incluindo o aquático. *E. coli* e *K. pneumoniae* resistentes à COL e positivos para *mcr-1* foram detectadas em uma ETE na Espanha (OVEJERO et al., 2017), enquanto no Líbano, *P. mirabilis* carreando o mesmo gene foi detectado em águas domésticas e de esgoto de campos de refugiados (ALHAJ SULAIMAN; KASSEM, 2020).

No Brasil, o primeiro relato de *E. coli* resistente à COL mediada pelo gene *mcr-1* ocorreu em 2016 em um hospital de alta complexidade em Natal - RN (FERNANDES et al., 2016a). No ano seguinte, o mesmo grupo de pesquisa, coletou amostras de água em praias do estado de São Paulo e descreveram a presença do gene em isolados de *E. coli*, demonstrando que o mesmo já se encontra disseminado fora do ambiente hospitalar (FERNANDES et al., 2017b). Em outras regiões do país, também tem sido relatado *mcr* em bactérias de ambiente aquático. Na região sul, Ramalho e colaboradores (2022) detectaram *mcr* em amostras de estações de tratamento de água potável e sistemas de esgoto, enquanto SILVA; LINCOPAN (2023) encontraram *E. coli* resistente à polimixina B e carreando o gene *mcr-1* em efluentes de ETEs do Rio de Janeiro.

Vale ressaltar que a presença de bactérias carreando o gene *mcr* em ambientes extraclínicos aponta para um cenário de maior disseminação deste mecanismo

de resistência, o que é crítico. Além disso, sob a ótica *one health*, com a possibilidade de intercâmbio ambiente e clínico, infecções por bactérias com este fenótipo representam um desafio médico no manejo terapêutico pelo pouco arsenal de fármacos a serem utilizados (NAVARRO et al., 2023).

Por fim, os resultados obtidos neste estudo mostram que ações devem ser direcionadas para minimizar o surgimento e a manutenção da RAM no ambiente aquático. Dentre algumas ações, pode ser citada a melhoria da eficiência do tratamento do esgoto, o que resultaria em um efluente com menor densidade bacteriana e consequente redução da disseminação da RAM. Além disso, a coleta e o tratamento distinto de esgoto gerado por instituições de assistência à saúde, o que não acontece no município de origem da amostra estudada. É conhecido que esgotos hospitalares contêm bactérias resistentes e resíduos de antimicrobianos em concentrações altamente impactante no desenvolvimento e disseminação de RAM (RAFRAF et al., 2016).

Apesar das limitações deste trabalho, que incluem o estudo em apenas uma amostra de EF, em apenas uma estação do ano e a não abordagem molecular na detecção dos mecanismos de resistência bacteriana, os dados encontrados são relevantes para a ampliação do conhecimento acerca da distribuição de bactérias gram-negativas resistentes à MIN e COL em ambiente extraclínico. Deve ser ressaltada a possibilidade de intercâmbio destas bactérias para o cenário clínico e que MIN e COL são alternativas potenciais para o tratamento de infecções causadas por Enterobacterales resistentes a carbapenêmicos e MDR.

A disseminação da resistência a esses antimicrobianos aponta para um cenário ainda mais desafiador no manejo de infecções por bactérias MDR, considerando a limitação de opções terapêuticas e a ausência de desenvolvimento e disponibilidade de novos compostos pelas indústrias farmacêuticas. Também,

mais uma vez as ETEs ganham destaque com relação ao potencial de desenvolvimento e disseminação da RAM, o que deve ser considerado na elaboração de estratégias para mitigar os efeitos sobre a comunidade bacteriana e a saúde população do entorno dos rios que recebem os efluentes de ETEs. Considerando a escassez de estudos na literatura e a relevância do tema, mais estudos devem ser conduzidos, inclusive utilizando abordagens moleculares, para ampliar o conhecimento do contexto da resistência bacteriana a MIN e COL em ambientes aquáticos.

CONCLUSÃO

Os dados deste estudo, apesar da utilização de abordagem fenotípica, revelaram que entre os isolados recuperados da ETE Várzea das Flores, Carmópolis de Minas-MG, estão espécies de relevância clínica resistentes simultaneamente a COL e MIN, antimicrobianos de última escolha para o tratamento de infecções por bactérias gram-negativas MDR. Além disso, evidencia a circulação de mecanismo de resistência transferível à colistina (MCR) no ambiente aquático.

Também, este estudo, mesmo com as limitações especialmente relacionada com o número de amostra estudada, reafirma que efluentes de ETE têm impacto na disseminação de resistência bacteriana. Dessa maneira, são necessárias medidas de prevenção de contaminação de ambientes aquáticos e ações de conscientização sobre o uso indiscriminado de antimicrobianos, a fim de intervir na propagação de bactérias resistentes, o que contribuirá para proteger a saúde humana, animal e ambiental.

AGRADECIMENTOS E FINANCIAMENTO INSTITUCIONAL

Os autores agradecem a Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Centro-Oeste Dona Lindu (UFSJ/CCO) pelo apoio e suporte. Este trabalho foi realizado com o apoio do Programa Institucional de Bolsas de

Iniciação Científica (PIBIC), edital nº 006/2023/PROPE/UFSJ.

CONFLITO DE INTERESSE

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

REFERÊNCIAS

ABRANTES, J.A. **Avaliação da resistência bacteriana em Estações de Tratamento de Esgoto da Fiocruz com ênfase no perfil fenotípico e molecular para beta-lactamases em enterobactérias.** 2022. Tese. Fundação Oswaldo Cruz. Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

AGUIAR, E.C.C. **Resistência de cepas gram-negativas a antibacterianos em efluentes de hospitais públicos e na estação de tratamento de esgoto de Boa Vista-RR.** 2020. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais). Universidade Federal de Roraima. Boa Vista, Brasil.

AJAYI-ODOKO, A.O. et al. *Proteus mirabilis* isolated from untreated hospital wastewater, Ibadan, Southwestern Nigeria showed low-level resistance to fluoroquinolone and carried qnrD3 on Col3M plasmids. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 16, p. 47158–47167, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-023-25618-0>.

ALHAJ SULAIMAN, A. A.; KASSEM, I. I. First report of the plasmid-borne colistin resistance gene (mcr-1) in *Proteus mirabilis* isolated from domestic and sewer waters in Syrian refugee camps. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 33, p. 101482, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2019.101482>.

ASADI, A. et al. Minocycline, focus on mechanisms of resistance, antibacterial activity, and clinical effectiveness: Back to the future. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 22, p. 161–174, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.01.022>.

BOTSCHNER, W. et al. Draft genome sequences of two *Proteus mirabilis* isolates recovered from a municipal wastewater treatment plant in Ontario, Canada. **Microbiology Resource Announcements**, v. 12, n. 10, p. e00559-23, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1128/MRA.00559-23>.

BRCAST - Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. **Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos, 2023.** Disponível em: <http://brcast.org.br/documentos/>. Acesso em 23 de nov.2023.

CHERAK, Z. et al. Epidemiology of mobile colistin resistance (mcr) genes in aquatic environments. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 27, p. 51–62, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.07.021>.

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: nineteenth informational supplement.** M100-S33, 2023.

CONTE, D. et al. 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>.

DENG, S. et al. The utilization of reclaimed water: Possible risks arising from waterborne contaminants. **Environmental Pollution**, v. 254, p. 113020, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113020>.

DI CESARE, A. et al. Treated wastewater: A hotspot for multidrug- and colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae*. **Environmental Pollution**, v. 359, p. 124598, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.124598>.

ELBEDIWI, M. et al. Global Burden of Colistin-Resistant Bacteria: Mobilized Colistin Resistance Genes Study

(1980–2018). **Microorganisms**, v. 7, n. 10, p. 461, 2019. DOI <https://doi.org/10.3390/microorganisms7100461>.

EL-SAYED AHMED, M.A.E. et al. Colistin and its role in the Era of antibiotic resistance: an extended review (2000–2019). **Emerging Microbes & Infections**, v. 9, n. 1, p. 868–885, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1754133>.

ESCALANTE, E.G. et al. Phenotypic Detection of Plasmid-Mediated Colistin Resistance in Enterobacteriaceae. **Journal Of Clinical Microbiology**, v. 58, n. 3, p. 1-5, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.01555-19>.

FABRIN, G.; VIZZOTTO, B.S. Resistência bacteriana a polimixinas: uma revisão dos atuais panoramas brasileiro e mundial. **Disciplinarum Scientia | Saúde**, v. 20, n. 2, p. 321–339, 2019. DOI: <https://doi.org/10.37777/2688>.

FERNANDES, M.R. et al. (a) Silent dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli* in South America could contribute to the global spread of the *mcr-1* gene. **Eurosurveillance**, v. 21, n. 17, 2016. DOI: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.17.30214>.

FERNANDES, M.R. et al. (b) Colistin-resistant *mcr-1*-positive *Escherichia coli* on public beaches, an infectious threat emerging in recreational waters. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61 (7), p. 1-4, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.00234-17>.

HAMEL, M.; ROLAIN, J.M.; BARON, S.A. The History of Colistin Resistance Mechanisms in Bacteria: Progress and Challenges. **Microorganisms**, v. 9, n. 2, p. 442, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020442>.

HASSEN, B. et al. 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**,

v. 27, n. 35, p. 44368–44377, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10326-w>.

KONEMAN, E.W. et al. **Diagnóstico Microbiológico Texto e Atlas Colorido**. 6ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

LIU, Y.Y. et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16 (2), p.161-168, 2016. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7).

MACHADO, E.C. et al. Antibiotic resistance profile of wastewater treatment plants in Brazil reveals different patterns of resistance and multi resistant bacteria in final effluents. **Science of Total Environment**. v. 857 (Pt 1):159376, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159376>.

MONDAL, A. H. et al. Review on Colistin Resistance: An Antibiotic of Last Resort. **Microorganisms**, v. 12, n. 4, p. 772, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms12040772>.

NARCISO-DA-ROCHA, C. et al. *bla*_{TEM} and *vanA* as indicator genes of antibiotic resistance contamination in a hospital - urban wastewater treatment plant system. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 2, n.4, p. 309–315, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2014.10.001>.

NAVARRO, A. et al. Study of antibiotic resistance in freshwater ecosystems with low anthropogenic impact. **Science of The Total Environment**, v. 857, p. 159378, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159378>.

OBERHOFER, T. Growth of nonfermentative bacteria at 42° C. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 10, n. 6, p. 800–804,1979. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.10.6.800-804.1979>.

OJER-USOZ, E. et al. High dissemination of extended-

spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in effluents from wastewater treatment plants. **Water Research**, v. 56, p. 37- 47, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.02.041>.

OLAITAN, A.O. et al. Worldwide emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* from healthy humans and patients in Lao PDR, Thailand, Israel, Nigeria and France owing to inactivation of the PhoP/PhoQ regulator mgrB: an epidemiological and molecular study. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 44, n. 6, p. 500 - 507, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.07.020>.

OMS - Organização Mundial da Saúde. **Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance**. *World Health Organization*, 2024.

ORTEGA-BALLEZA, J.L. et al. Resistencia a tetraciclinas en *Escherichia coli* aislada de aguas superficiales y residuales de Tamaulipas, México. **Revista Internacional de Contaminación Ambiental**, v. 40, 2024. DOI: <https://doi.org/10.20937/RICA.54492>.

OVEJERO, C.M. et al. Spread of *mcr-1* -carrying *Enterobacteriaceae* in sewage water from Spain. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n.4, p. 1050 -1053, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dkw533>.

PAIVA, M.C. et al. 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>.

PERVEEN, S. et al. Growth and prevalence of antibiotic-resistant bacteria in microplastic biofilm from wastewater treatment plant effluents. **Science of The Total Environment**, v. 856, p. 1-10, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159024>.

POLIANCIUC, S.I. et al. Antibiotics in the environment: causes and consequences. **Medicine and Pharmacy Reports**, v. 93, n. 3, p. 231-240, 2020. DOI: <https://doi.org/10.15386/mpr-1742>.

RAFRAF et al. Abundance of antibiotic resistance genes in five municipal wastewater treatment plants in the Monastir Governorate, Tunisia. **Environmental Pollution**, v. 219, p. 353- 358, 2016.

RAMALHO, R. et al. The occurrence of antimicrobial residues and antimicrobial resistance genes in urban drinking water and sewage in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 53, n. 3, p. 1483-1489, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42770-022-00786-2>.

RODRÍGUEZ, E.A. et al. Multidrug resistance and diversity of resistance profiles in carbapenem-resistant Gram-negative bacilli throughout a wastewater treatment plant in Colombia. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 22, p. 358–366, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.02.033>.

SILVA, K.C.; LINCOPAN, N. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 48, n. 2, p. 91-99, 2012.

SILVA, L.O.P.; ABRANTES, J.A.; NOGUEIRA, J.M.R. Monitoramento de efluentes hospitalares como ferramenta para a vigilância de patógenos multirresistentes. **Peer Review**, v. 5, n. 19, p. 1-11, 2023. DOI: <https://doi.org/10.53660/959.prw2536>.

TSAKRIS, A.; KOUMAKI, V.; DOKOUMETZIDIS, A. Minocycline susceptibility breakpoints for *Acinetobacter baumannii*: do we need to re-evaluate them? **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 74, n. 2, p. 295–297, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dky448>.

WANG, D. et al. High prevalence of *Escherichia coli* co-harboring conjugative plasmids with colistin- and carbapenem resistance genes in a wastewater treatment plant in China. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 250, p. 114159, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2023.114159>.

WHO- World Health Organization. **Antimicrobial resistance global report on surveillance**, 2014. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 13 maio 2023.