

## **Genes de resistência a $\beta$ -lactamases na água bruta do Rio Meia Ponte – Goiás**

### **Genes of resistance to $\beta$ -lactamase in the raw water of the Meia Ponte River - Goiás**

DOI:10.34117/bjdv7n4-206

Recebimento dos originais: 07/03/2021

Aceitação para publicação: 01/04/2021

#### **Thais Reis Oliveira**

Graduada em Biomedicina – Universidade Federal de Goiás. R. 235, s/n – Setor Leste Universitário CEP 74605-050 Goiânia – Goiás – Brasil.  
E-mail: thaisreisoliveira@hotmail.com

#### **Raylane Pereira Gomes**

Mestre pelo Programa de Pós-Graduação Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro – Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás. R. 235, s/n – Setor Leste Universitário CEP 74605-050 Goiânia – Goiás – Brasil.  
E-mail: raylanepgomes@gmail.com

#### **Aline Gama Rodrigues**

Doutora pelo Programa de Pós-Graduação Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro – Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás. R. 235, s/n – Setor Leste Universitário CEP 74605-050 Goiânia – Goiás – Brasil.  
E-mail: alinerodriguesgama15@gmail.com

#### **Jose Daniel Gonçalves Vieira**

Doutor em Ciências Biológicas (Microbiologia) – Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Departamento de Biotecnologia, Universidade Federal de Goiás. R. 235, s/n – Setor Leste Universitário CEP 74605-050 Goiânia – Goiás – Brasil.  
E-mail: jdgvieira62@gmail.com

#### **Lilian Carla Carneiro**

Doutora em Biologia Celular e Molecular – Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás. R. 235, s/n – Setor Leste Universitário CEP 74605-050 Goiânia – Goiás – Brasil.  
E-mail: carlacarneirolilian@gmail.com

### **RESUMO**

O rio Meia Ponte é um dos corpos hídricos mais importante do estado de Goiás, sendo que, beneficia não somente a população, mais também, o meio ambiente. Entretanto, com o aumento de antibióticos e poluentes presentes na água no rio, tem contribuído para o aumento de resistência a antimicrobianos e provocado prejuízos para a saúde da população consumidora dessa água. O objetivo deste estudo foi demonstrar e identificar bactérias resistentes a  $\beta$ -lactamase, utilizando métodos de PCR convencional. Foi obtida amplificação de 11,1% para o gene blaCTX-M, 66,7% para os genes blaTEM e blaKPC das nove amostras de Escherichia coli testadas neste estudo. Para o gene blaSME não se obteve amplificação dentre das amostras estudadas. A identificação dessas resistências

bacterianas é de extrema importância, pois podem ocasionar um problema relacionado à saúde, dificultando nas formas de tratamento do paciente que obtiver contato com essas bactérias resistentes.

**Palavras-chaves:** antibióticos, blaSME, Escherichia coli, meio ambiente e PCR.

## ABSTRACT

The Meia Ponte River is one of the most important water bodies in Goiás State, and it benefits not only the population, but also the environment. However, with the increase of antibiotics and pollutants present in the water river, it has contributed to the increase in antimicrobials resistance and has caused damage to the health of the population consuming this water. The objective was to demonstrate and identify bacteria resistant to  $\beta$ -lactamase, using conventional PCR methods. We obtained an amplification of 11.1% for the blaCTX-M gene, 66.7% for the blaTEM and blaKPC genes of the nine samples of Escherichia coli tested in this study. For the blaSME gene, amplification was not obtained within the samples. The identification of these bacterial resistances is extremely important, as they can cause a health-related problem, making it difficult in the treatment of the patient who obtains contact with these resistant bacteria.

**Keywords:** antibiotics, blaSME, environment, Escherichia coli and PCR.

## 1 INTRODUÇÃO

O rio Meia Ponte – Goiás é um dos principais afluentes do Estado, sendo responsável por abastecer cerca de 37 municípios. Além disso, a bacia hídrica beneficia o meio ambiente, contribuindo para a cobertura vegetal e favorece possíveis animais que têm seu habitat próximo ao rio. Entretanto, com o desmatamento da vegetação presente ao seu redor, liberação de componentes químicos no ambiente e o aumento da excreção de esgoto, está provocando a poluição das águas e ocasionando o desequilíbrio ecológico na região (CARVALHO; SIQUEIRA, 2011).

A contaminação fecal na água ou em regiões ambientais está diretamente associado a urbanização, onde os benefícios do saneamento básico não acompanham a multiplicação populacional. Além disso, os animais ao excretarem no meio ambiente, liberam os dejetos nos afluentes, contribuindo para com a disseminação de doenças gastrointestinais. A bactéria *Escherichia coli* é um indicador de contágio fecal; a proliferação desse microrganismo na água indica a necessidade de operações de tratamento (HOLCOMB, et al, 2020).

A forma incorreta de eliminação dos antibióticos tem contribuição no aumento da poluição dos rios e estimulam a resistência bacteriana, pois a maioria desses resíduos alcança os corpos hídricos e entram em contato com bactérias ambientais presente no

local, induzindo a troca horizontal de genes e recombinações, podendo promover a alteração genética e impedir a funcionalidade de determinados antimicrobianos (LEPUSCHITZ, et al., 2017). Os antimicrobianos utilizados pela população não são totalmente degradados e os seus resquícios são descartados por meio das fezes e urina, ocasionando o aumento dessas drogas no esgoto e contribuindo para a poluição dos afluentes (SABRI, et al., 2020).

Comumente, certas populações bacterianas ambientais residem nas águas dos rios e têm contato com diversos fatores industriais, tratamentos de água, detergentes, entre outros poluentes que favorecem sua resistência. Ao serem expostos às bactérias comensais ou patogênicas de seres humanos e á antibióticos presentes na água, esses microrganismos podem adquirir resistências e disseminá-los (NARCISO-DE-ROCHA; MANAIA, 2016).

A resistência aos antibióticos é um fator que ocorre naturalmente, porém, demanda um tempo para manifestar. Entretanto, o uso demasiado de antimicrobianos pela população, tratamentos errôneos de infecções e poluentes ambientais que possuem componentes antibióticos; têm provocado à aceleração do processo de resistências á antimicrobianos e ocasionando problemas graves para a saúde pública (LÜBBERT, et al., 2017).

Uns dos problemas relacionados à saúde pública é a resistência das bactérias aos antibióticos, sendo que o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) alerta para a resistência da *E. coli* e desenvolvimento de novos medicamentos para combater esse microrganismo (GEKENIDIS, et al, 2018). A resistência adquirida em relação aos  $\beta$ -lactâmicos ocorre através da enzima  $\beta$ -lactamase. Quando o microrganismo expressa essa enzima, ele pode hidrolisar medicamentos carbapenêmicos (ABBAS, et al., 2019). A *E. coli*, por exemplo, é uma das bactérias que mais sinaliza resistência antimicrobiana dessa magnitude, sendo que em meados dos anos 1980, essa espécie bacteriana apresentou produção de  $\beta$ -lactamase, capaz de hidrolisar o antimicrobiano ampicilina (PADMINI, et al., 2017). A *E. coli* produtora da enzima  $\beta$ -lactamase de espectro estendido (ESBL), possibilita a hidrólise de antimicrobianos da classe das cefalosporinas de geração avançada, ou seja; a bactéria portadora da enzima ESBL ativada, impede que a droga tenha ação antibacteriana. A presença desses microrganismos resistentes está cada vez mais frequente em hospitais e no meio ambiente. Estudos descrevem que os genes TEM, SHV e CTX-M; são os mais frequentes em *E. coli* (SON, et al., 2018).

Há relatos da circulação do gene *blaKPC* entre as *Enterobacteriaceae*, considerando que a característica KPC é a capacidade de “quebra” de antimicrobianos da classe dos  $\beta$ -lactâmicos (LOGAN; WEINSTEIN, 2017; REYES, 2019). Autores descrevem que o gene *blaSME* em cepas de *Serratia marcescens* (SME), produzem a enzima  $\beta$ -lactamase (REYES, et al., 2019; BIAGI, et al., 2020)

As bactérias secretoras de  $\beta$ -lactamase, quando infectam pacientes, proporcionam dificuldades no tratamento; somando ao fato de que os medicamentos para combater esses microrganismos, estão cada vez mais escassos e podem expor o indivíduo a uma situação de risco de vida (OLUTAYO; YETUNDE; OBASOLA; 2017).

Diante da resistência que a bactéria *E. coli* vem apresentando na literatura, é recomendável observar a existência ou não de genes de resistência á  $\beta$ -lactamase na água bruta do rio Meia Ponte. O local de estudo é uma das principais bacias hídricas do estado de Goiás e contribui para o abastecimento de inúmeras residências regionais. Assim o objetivo desse trabalho foi identificar bactérias resistentes a  $\beta$ -lactamase, em isolados de *E. coli*.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 RESSUSPENSÃO DAS BACTÉRIAS ISOLADAS PREVIAMENTE

As cepas bacterianas utilizadas neste artigo foram isoladas previamente de um trabalho anterior intitulado “*Assessment of the bacteriological quality of the raw water and the antimicrobial susceptibility profile of bacteria isolated in water surface of a river*” Gomes, et al (2017), no qual estavam conservadas em glicerol a 20% á - 4°C. As bactérias isoladas escolhidas para realizar dos experimentos foram da coleta 1 as cepas P1-1-EC (1), P1-2-EC (2) e P2-2-VB (3) e da coleta 4 as cepas P01-1-A (4), P01-1-B (5), P01-1-D (6), P03-3-A (7), P04-1-D (8) e P05-1-C (9). As cepas escolhidas foram previamente identificadas no estudo anterior como *E. coli*, devido serem indicadores de contaminação fecal em amostras de água previstas na legislação brasileira vigente.

Uma alíquota de 100  $\mu$ L das cepas de *E. coli* armazenadas em glicerol, foram inoculadas em 5 mL de caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) e incubada a 30 °C por 24 horas em estufa bacteriológica. Após o crescimento, estas foram semeadas em ágar nutriente e incubadas a 30 °C por 24 horas, para eliminar possíveis contaminações. Posteriormente, as cepas purificadas, foram utilizadas nos testes a seguir.

## 2.2 ANTIBIOGRAMA

Os isolados de *E. coli* ressuspensos em solução salina a 0,85% ajustando a turvação de acordo com a escala 0,5 de McFarland. A suspensão bacteriana foi semeada uniformemente, em ágar Mueller-Hinton. Em seguida, um conjunto de discos de antimicrobianos foram distribuídos na superfície do ágar. As amostras foram incubadas a 30 °C por 24 horas e posteriormente, foi realizada a leitura dos halos de inibição (Wilder et al. 2005). A interpretação dos resultados foi de acordo com o *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLS, 2016).

Para a realização do teste utilizou-se os seguintes antimicrobianos da POLISENSIDISC 15 DME GRAM NEGATIVO®: amoxicilina/ácido clavulânico 30 µg, ampicilina 10 µg, aztreonam 30 µg, cefepime 30 µg, ceftazidima 30 µg, ceftriaxona 30 µg, meropenem 10 µg.

## 2.3 EXTRAÇÃO DE DNA CROMOSSOMAL

As cepas bacterianas foram inoculadas em 5 mL de caldo BHI e incubadas a 30 °C por 24 horas. Posteriormente ao crescimento, foram utilizadas para a extração de DNA cromossomal.

A metodologia utilizada para a realização do procedimento de extração de DNA cromossomal, seguiu de acordo com Sambrook et al. (1989), com adaptações: Pipetou-se 1,5 mL (mols) da cultura bacteriana em BHI. Logo após, centrifugou os tubos por 5 minutos a 6.000 rpm a 4 °C, descartou o sobrenadante, pipetou mais 1,5 mL do crescimento bacteriano e repetiu a centrifugação. Em seguida pipetou 400 µL de tampão TE e 40 µL de lisozima, ressuspendeu o pellet, incubou por 30 minutos a 37 °C. Pipetou 70 µL de SDS e 6 µL de proteinase K e homogeneizou, incubou por 10 minutos a 56 °C. Depois de incubado, adicionou 100 µL de NaCl e 80 µL de solução (TAB) NaCl, agitou até se tornar leitosa e incubou por mais 10 minutos a 65 °C. Adicionou 400 µL de clorofil e agitou 30 vezes por inversão os tubos identificados, centrifugou por 5 minutos a 12.000 rpm.

Um volume de 400 µL do sobrenadante foi transferido para tubos novos, logo após, pipetou 240 µL (mols) de isopropanol e incubou a – 20 °C por 1 hora. Em seguida centrifugou por 20 minutos a 12.000 rpm a temperatura de 4 °C, desprezou o sobrenadante e adicionou 1 mL de etanol gelado a 70%, centrifugou por 5 minutos a 12.000 rpm a 4 °C. Desprezou o sobrenadante e deixou o material secando por aproximadamente 20

minutos. Posteriormente, ressuspendeu com 40  $\mu$ L de água Mili Q e armazenou as amostras em  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Na sequência houve o preparo do gel de agarose, foi adicionada 1g de agarose pulverizada e 100 mL de TBE 1x (tris base 6,05g/L, ácido bórico 3,085 g/L e EDTA 0,395 g/L, pH 8,3). Foi utilizado 1,0  $\mu$ L de *blue green loading dye I* da LGC Biotecnologia® e 2,0  $\mu$ L da amostra de DNA cromossomal, após homogeneizados, a mistura foi emergida em poços no gel de agarose. Utilizou-se 60 amperes por aproximadamente 40 minutos e visualizou o DNA em gel de agarose sob incidência de luz ultravioleta.

#### 2.4 EXTRAÇÃO DE DNA PLASMIDIAL

As amostras bacterianas semeadas ágar Nutriente, foram novamente inoculadas em caldo BHI e incubou-se á  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Após o crescimento bacteriano, o material foi utilizado para extração de DNA plasmidial.

A extração de DNA plasmidial foi realizada segundo o manual do kit de extração FLEXIPREP da Pharmacia®, seguindo a metodologia a seguir: Pipetou-se 1,5 mls (mols) do crescimento bacteriano no meio BHI, logo após, centrifugou os tubos por 30 segundos a 6.682 rpm, repetiu o processo 3x. Desprezou o sobrenadante, ressuspendeu o sedimento com 200  $\mu$ L da solução I (tris-HCl pH 7,5-100mM, EDTA-10mM, RNase 400/mL), homogeneizou e adicionou 200  $\mu$ L da solução II (NaOH-0,2M, SDS 1%) – O NaOH e SDS foram colocados em tubos separados antes de adicionar na solução.

Após a adição da solução II, misturou o conteúdo dos tubos por inversão, durante 5 minutos e adicionou 200  $\mu$ L da solução III (acetato de sódio 3M, ácido acético 2M), homogeneizou novamente por inversão durante 5 minutos e centrifugou a 6.682 rpm por 5 minutos. Desprezou o sobrenadante e adicionou 420  $\mu$ L de isopropanol, homogeneizou deixou em repouso por 10 minutos em temperatura ambiente. Ao término do repouso, os tubos foram centrifugador por 10 minutos a 6.682 rpm. O sobrenadante foi desprezado e o precipitado deixado em temperatura ambiente, o precipitado foi ressuspensão em 50  $\mu$ L de água Mili Q e armazenou as amostras em  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Em seguida a amostra foi visualizada em gel de agarose, como descrito no tópico 2,3.

#### 2.5 CONCENTRAÇÃO DE DNA TOTAL EXTRAÍDO DAS AMOSTRAS

A concentração de DNA total extraído das amostras foi mensurada em espectrofotômetro Nano-Drop ND-1000 da ThermoFisher® com leitura 220-750nm.

## 2.6 IDENTIFICAÇÃO DOS GENES DE RESISTÊNCIA

Foi realizada PCR convencional utilizando DNA plasmidial e DNA cromossomal para amplificação dos genes de resistência: *blaSME*, *blaCTX-M*, *blaKPC* e *blaTEM*. Na tabela 1, encontra-se as sequências dos oligonucleotídeos e as condições de ciclagem.

Tabela 1. Especificações dos oligonucleotídeos utilizados neste estudo.

<i>Gene alvo</i>	<i>Oligonucleotídeos</i>	<i>Autor dos primers</i>	<i>Tamanho da amplificação (pb)</i>	<i>Condições dos ciclos térmicos</i>
<i>blaSME</i>	F:5'-GGCGGCTGCTGTTTTAGAGAGG-3' R:5'-ATTAGGTGATATGGCTTCTGCTGCA-3'	Santos et al., 2020.	294 pb	Desnaturação inicial – 96°C- 5 min 94°C – 45 seg 50°C – 45 seg (35x) 72°C – 1 min Extensão final – 72°C – 10 min
<i>blaCTX-M</i>	F:5'-GGCGGCTCCATCGGTGTG-3' R:5'-AGGCCGGCTTGTGGACAC-3'		189 pb	Desnaturação inicial – 96°C- 5 min 94°C – 45 seg
<i>blaKPC</i>	F:5'-GGCGGCTCCATCGGTGTG-3' R:5'-AGGCCGGCTTGTGGACAC-3'		155 pb	94°C – 45 seg
<i>blaTEM</i>	F:5'-TCCGTGTCGCCCTTATTCCC-3' R:5'-CCTTGAGAGTTTTCGCCCCG-3'		165 pb	45°C – 45 seg (35x) 72°C – 1 min Extensão final – 72°C – 10 min

\*F: oligonucleotídeo direto R: oligonucleotídeo reverso.

A PCR convencional seguiu as concentrações e condições de ciclos térmicos de acordo com Cury et al. (2005). Foi adicionado 35,5 µL de água MiliQ, 5 µL de tampão da enzima (10x), 1,5 µL MgCl<sup>2</sup> (50 mM), 4 µL de DNTPs (10mM), 1 µL do oligonucleotídeo direto e 1 µL do oligonucleotídeo reverso; 1 µL de Taq DNA polimerase (5U/µL) e 1,0 µL do DNA alvo extraído (aproximadamente 50 ng/µL).

Após o preparo, a reação foi adicionada no termociclador e iniciaram os ciclos térmico, citados na tabela 1. Ao término do processo de ciclagem, as amostras foram preservadas em temperatura – 4 °C. Em seguida, os produtos amplificados foram visualizados em gel de agarose a 4%, como descrito no tópico 2,3.



### 3 RESULTADOS

#### 3.1 RESULTADOS DA RESISTÊNCIA FENOTÍPICA

Foram avaliados os perfis de resistência antimicrobiana das cepas de *E. coli* isoladas previamente de amostras de água bruta do Rio Meia Ponte – Goiás. Os dados do antibiograma demonstram que dentre os isolados de *E. coli* estudados, encontrou um perfil de resistência fenotípica para amoxicilina – ácido clavulânico 66,7% (6/9), cefepime 33,3% (3/9) e não foi encontrado resistência para meropenem, cefoxitina e aztreonam. Os detalhes encontram descritos na tabela 2.

Tabela 2. Perfil de antibiograma para as cepas de *E. coli* isoladas de água bruta do Rio Meia Ponte – Goiás.

Cepa <i>E. coli</i> / Amostra	Antibióticos							
	Amoxicilina + ácido clavulânico	Meropenem	Cefepime	Cefoxitina	Cefuroxima	Ceftazidima	Aztreonam	Ampicilina
1	R	S	S	S	S	S	S	S
2	S	S	S	S	R	R	S	S
3	I	S	S	S	I	S	S	S
4	R	S	R	S	S	S	S	R
5	R	S	R	S	S	S	S	S
6	R	S	R	S	S	S	S	S
7	S	S	S	S	S	S	S	S
8	R	S	I	S	S	S	S	S
9	R	S	I	S	S	S	S	S

\*R: resistente; I: resistência intermediária; S: sensível.  
Dados de interpretados de acordo com CLSI, 2019.

#### 3.2 RESULTADOS DA EXTRAÇÃO DE DNA CROMOSSOMAL E PLASMIDIAL

A extração cromossomal e plasmidial foram eficientes apresentando bandas no gel. As amostras 3 e 8 mostraram mais de um plasmídeo no gel da extração plasmidial.

#### 3.3 AMPLIFICAÇÃO DOS GENES CODIFICANTES PARA B-LACTAMASES NAS AMOSTRAS TESTADAS

De acordo com os resultados de amplificação, não foi encontrado o gene *blaSME* em nenhuma das amostras, essa informação sugere que a resistência fenotípica encontrada (Tabela 2) não está relacionada a este gene. Dentre os nove isolados de *E. coli*, o gene *blaKPC* e o gene *blaTEM* foram os mais encontrados, ambos apresentando 66,7% (6/9) de positividade. Estes resultados estão demonstrados na Tabela 3 e reforçados na Figura 1.



Tabela 3. Amplificação dos genes codificantes para  $\beta$ -lactamases para cepas de *E. coli* isoladas de água bruta do Rio Meia Ponte – Goiás.

Cepa <i>E. coli</i> / Amostra	<i>blaSME</i>	<i>blaCTX-M</i>	<i>blaTEM</i>	<i>blaKPC</i>
1	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo
2	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
3	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo
4	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo
5	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo
6	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo
7	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo
8	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
9	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo

\*Positivo: presença do gene. Negativo: ausência do gene.

#### 4 DISCUSSÕES

Referente aos dados obtidos sobre a resistência fenotípica da *E. coli*, Gekenidis et al. (2018), relata que 36 das cepas isoladas da água de irrigação apresentaram maior resistência a canamicina, ampicilina e ciprofloxacina. Entretanto, houve divergência de resultados quando comparado aos isolados deste estudo, do Rio Meia Ponte – Goiás; as cepas aqui encontradas apresentaram mais resistência a amoxicilina mais ácido clavulânico e ao cefepime.

Adelowo et al. (2017), expõe que os isolados de *Enterobacteriaceae* advindos de água de hospital, rio (aquicultura) e uso doméstico, apresentaram resistência de 52,7% ao antibiótico cefepime. Tais dados são semelhantes quanto ao nível de resistência das cepas bacterianas isoladas do Rio Meia Ponte – Goiás, que possuem também resíduos hospitalares.

Os resultados da amplificação gênica, demonstrou que o gene *blaKPC* e o gene *blaTEM* foram os mais incidentes, ambos com 66,7% (6/9) nas amostras e 11,1% (1/9) de positividade para o gene *blaCTX-M*. Dados semelhantes foi encontrado por Yin e colaboradores (2013), ao estudar 64 isolados, obteve 31 amostras de gêneros diferentes, que produziam a enzima  $\beta$ -lactamase; o gene *blaTEM* foi o mais encontrado (22%) e o *blaCTX-M* foi encontrado em 7,8% das amostras.

Os pesquisadores citam que houve predomínio de resistência pelo gene *blaTEM* no gênero *E. coli*. Os autores relatam que o gene *blaTEM* está associado ao sistema aquático, justificando o predomínio. Por outro lado, o gene *blaCTX-M* foi citado como um gene ambiental e que pode ser encontrado em *E. coli*, porém, nesse processo, o *blaCTX-M* foi significativamente menos encontrado, quando comparado aos outros genes pesquisados (Yin et al. 2013).

Conte et al. (2017), reforça que o gene *bla*CTX-M é de origem aquática, ambiental e tem predominância em esgotos, ademais o autor evidencia que o gene é responsável pela causa de várias infecções clínicas causadas por bactérias com perfil de resistência do tipo ESBL ( $\beta$ -lactamase de espectro estendido). Justificando a importância de pesquisar a presença desses genes, em bactérias de ambiente aquático.

Biagi et al. (2020), cita que a presença do gene *bla*SME, não é determinante para a bactéria apresentar resistência; há necessidade de verificar se o gene está sendo expresso. As cepas de *E. coli* isoladas pelos pesquisadores e que amplificaram o gene *bla*SME, foram submetidas a testes fenotípicos ou enzimáticos, possibilitando confiar na ausência dessa resistência em específico.

Mahmoud e colaboradores (2020), descreveu a presença do gene *bla*KPC em cepas de *E. coli* isoladas da água de laboratório de saúde pública no Sudão. A positividade para *E. coli* foi baixa 4,4% (2/45), quando comparada com o presente trabalho 66,7% (6/9), ocorrendo divergência de resultados entre os dois estudos. Por outro lado, Swenda et al. (2019), demonstra o aumento de genes ESBL entre as bactérias no mundo inteiro; o aumento é justificado por se tratar de elementos genéticos móveis, que facilita a proliferação entre a família *Enterobacteriaceae*.

## 5 CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no presente estudo demonstram que o encontro de *E. coli* apresentando resistência a  $\beta$ -lactamases, isoladas na água bruta superficial do Rio Meia Ponte – Goiás; é um problema, por se tratar de uma água consumida por um grande número de pessoas, localizadas na região de abastecimento do rio. Os possíveis prejuízos provocados por esses microrganismos resistentes, quando relacionados à população em geral, são relativos à saúde pública. Dessa maneira, sugere-se obter mais informações relacionadas a essas bactérias e verificar os malefícios que a ingestão dessa água pode ocasionar aos seus consumidores.

## REFERÊNCIAS

ADELOWO, O. O., et al. Extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing bacteria isolated from hospital wastewaters, rivers and aquaculture sources in Nigeria. **Environmental Science and Pollution Research**. CrossMark, 2017.

ABBAS, H. A., et al. Impacto of specific inhibitors on metallo- $\beta$ -carbapenemases detected in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates. **Microbial Pathogenesis**. Elsevier, v. 132, p. 266-274, 2019.

BRANDÃO, C. J., et al. "Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos." **São Paulo: CETESB** (2011).

BIAGI, M., et al. Activity of Imipenem-relebactam and meropenem-vaborbactam against carbapenem-resistant, SME-producing *Serratia marcescens*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. American Society for Microbiology. v. 64, 2020.

CARVALHO, G. L.; SIQUEIRA, E. Q. Qualidade da água do rio Meia Ponte no perímetro urbano do município de Goiânia – Goiás. **Revista eletrônica de Engenharia Civil**, v. 1 19-33, n. 2, 2011.

CLSI, 2019. Teste de sensibilidade aos microbianos, método de disco-difusão. EUCAST. v.5, 2019.

CONTE, D., et al. Characterization of CTX-M enzymes, quinolones resistance determinants, and microbial residues from hospital sewage, wastewater treatment plant, and river water. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. Elsevier, 2017.

CURY, P. R.; FURUSE, C.; ARAÚJO, N. S. Técnica e aplicação da reação da polimerase em cadeia na área odontológica. **Revista Odontológica de Araçatuba**, v. 26, n. 2, p. 34-39, 2005.

GEKENIDIS, M. T., et al. Antibiotic-resistant indicator bacteria in irrigation water: High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) – producing *Escherichia coli*. **Plos One**. 2018.

GOMES, R. P., et al. Assessment of the bacteriological quality of the raw water and the antimicrobial susceptibility profile of bacteria isolated in water surface of a river. **Internacional Journal of Microbiology Research**. v. 9, issue 9, pp. 949-953, 2017.

HOLCOMB, D. A., et al. Human fecal contamination of water, soil, and surfaces in households sharing poor-quality sanitation facilities in Maputo, Mozambique. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**. Elsevier, v. 226, 2020.

LEPUSCHITZ, S., et al. Draft genome sequence of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 isolate from a river Sample. **American Society for Microbiology**, v. 5, e. 01166-17, 2017.

LOGAN, L. K.; WEINSTEIN, R. A. The epidemiology of carbapenem-resistant *enterobacteriae*: The impact and evolution of a global Menace. **The Journal of Infectious Diseases**. v. 215, p. S28-S36, 2017.

LU, Z., et al. Fate of sulfonamide resistance genes in estuary environment and effect of anthropogenic activities. **Science of the Total Environment**, v. 527, p. 429-438, 2015.

LÜBBERT, C., et al. Environmental pollution with antimicrobial agents from bulk drug manufacturing industries in Hyderabad, South India, is associated with dissemination of extended-spectrum beta-lactamase and carbapenemase-producing pathogens. **Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2017**, 2017.

MAHMOUD, N., et al. Detection of carbapenem-resistant genes in *Escherichia coli* isolated from drinking water in Kharttoun, Sudan. **Journal of Environmental and Public Health**. Hindawi, 2020.

NARCISO-DE-ROCHA, C.; MANAIA, C. M. Multidrug resistance phenotypes are widespread over different bacterial taxonomic groups thriving in surface water. **Science of the Total Environment**, 563-564 (2016) 1-9.

OLUTAYO, I. F.; YETUNDE, M. M.; OBASOLA, E. F.. Determination of water quality of extended Spectrum beta-lactmase producing gram-negative bacteria in selecter rivers located in Ibadan, Nigeria. **Jordan, Journal of Biological Sciences 2017**, v.11, n. 1, p. 107-112.

PADMINI, N., et al. Extented spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: Critical tools for antibiotic resistance pattern. **Journal of Basic Microbiology**. 2017.

REYES, J., et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella Pneumoniae*: Microbiology key points for clinical practice. **International Journal of General Medicine**. DovePress, 2019.

SABRI, N. A., et al. Prevalence of antibiotics and antibiotic resistance genes in a wastewater effluent-receiving river in the Netherlands. **Journal of Environmental Chemical Engineering**. Elsevier, v. 8, issue 1, 2020.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2. Ed. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**, v. 1, 1989.

SANTOS, A. L., et al. Profile of Enterobacteria resistant to beta-lactams. **Antibiotics**. 2020.

SWEDAN, S.; ALRUB, H. A., et al. Antimicrobial resistance, virulence factors, and pathotypes of *Escherichia coli* isolated from drinking water sources in Jordan. **Pathogens**. 2019.

SON, H. M., et al. Application of bacteriophages in simultaneously controlling *Escherichia coli* O157:H7 and extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli*. **Environmental Biotechnology**. Springer, 2018.

WILDER, M.A., et al. Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana; 15º Suplemento Informativo. M100-S15. **Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, 2005.

YIN, Q., et al. Occurrence and distribution of antibiotic-resistant bacteria and transfer of resistance genes in lake Taihu. **Microbes Environ**, 28(4): 479-486, 2013.