

## Investigação de Enterobacteriales resistentes ao meropenem e produtoras de carbapenemases em uma estação de tratamento de esgoto de Minas Gerais, Brasil

Ana Beatriz de Castro Costa<sup>1</sup>, Karina Marjorie Silva Herrera<sup>1</sup>, Adrielle Pieve de Castro<sup>2</sup>, Larissa Naneti Rosa<sup>3</sup>, Lara Luiza Freitas de Oliveira<sup>4</sup> & Magna Cristina de Paiva<sup>1\*</sup>

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

<sup>2</sup> Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

<sup>3</sup> Instituto de Ciência Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

<sup>4</sup> Labominas - Laboratório Agronômico, Manhuaçu, Minas Gerais, Brasil.

\*Autor correspondente, correio eletrônico: magnacpaiva@ufs.edu.br; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9375-7261>

Recebido: 16 de julho de 2024

Revisado: 23 de março de 2025

Aceto: 30 de março de 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n2.115810>

### RESUMO

**Introdução:** Bactérias gram-negativas, apesar de ubíquas na natureza, podem causar infecções, desenvolver e disseminar mecanismos de resistência aos antimicrobianos. Destaca-se a resistência antimicrobiana (RAM) a fármacos de relevância clínica como meropenem, para o qual o estudo da resistência em ambientes aquáticos é pouco explorado. **Objetivo:** Foi investigada a presença de bactérias gram-negativas resistentes ao meropenem (BRM) em uma estação de tratamento de esgoto (ETE) de Minas Gerais, Brasil. Dois litros de esgoto bruto (EB) e de efluente (EF) foram coletados. 100 µL de cada amostra foram submetidos à cultura sem e com meropenem (8 µg/mL). Posteriormente, foi realizada diluição seriada e 100 µL de cada diluição inoculados em ágar para a recuperação de Gram-negativas. Os morfotipos foram identificadas utilizando ágar cromogênico e submetidos ao teste de inativação de carbapenêmico na ausência e presença de EDTA (EUCAST, 2017; CLSI, 2022) para a investigação da produção de carbapenemases. **Resultados:** Um total de 34 morfotipos bacterianos, todos pertenciam à ordem *Enterobacteriales* (26 *Escherichia coli* e quatro *Enterobacter sp.* em EB e quatro *E. coli* em EF) foram recuperados. Todas as BRM foram produtoras de carbapenemase, a maioria (88,6%) do tipo serinocarbapenemase, enquanto produtora de metalobetalactamase foi exclusivamente encontrada em EB. **Conclusão:** Apesar da redução dos morfotipos em EF, sua descarga em cursos d'água deve ser considerada um importante meio de veiculação de BRM no ambiente. Nossos dados apontam para a necessidade de mais estudos afim de conhecer e estabelecer estratégias de contenção de disseminação de RAM, incluindo a implementação de mais ETEs.

**Palavras-chave:** Bactérias gram-negativas; Meropenem; Estação de tratamento de esgoto; Farmacorresistência bacteriana; Ambiente aquático.

### SUMMARY

**Investigation of meropenem-resistant and carbapenemase-producing Enterobacteriales in a sewage treatment plant in Minas Gerais, Brazil**

**Introduction:** Gram-negative bacteria, despite being ubiquitous in nature, can cause infections and develop and disseminate mechanisms of resistance to antimicrobials. Antimicrobial resistance (AMR) to drugs of clinical relevance such as meropenem stands out, for which the study of resistance in aquatic environments is little explored. **Objective:** The presence of gram-negative bacteria resistant to meropenem (BRM) was investigated in a sewage treatment plant (WWTP) in Minas Gerais, Brazil. Two liters of raw sewage (RS) and effluent (EF) were collected. 100µL of each sample was subjected to culture without and with meropenem (8 µg/mL). Subsequently, serial dilution was performed and 100 µL of each dilution was inoculated into agars for the recovery of Gram-negatives. The morphotypes were identified using chromogenic agar and subjected to the carbapenem inactivation test in the absence and presence of EDTA (EUCAST, 2017; CLSI, 2022) to investigate the production of carbapenemases. **Results:** A total of 34 bacterial morphotypes, all belonging to the order Enterobacteriales (26 *Escherichia coli* and four *Enterobacter* sp. in RS and four *E. coli* in EF) were recovered. All BRM were carbapenemase producers, the majority (88.6%) of the serinecarbapenemase type, while metallobetalactamase producers were exclusively found in RS. **Conclusion:** Despite the reduction of morphotypes in RS, its discharge into waterways must be considered an important means of transporting BRM in the environment. Our data point to the need for more studies to understand and establish strategies to contain the spread of AMR, including the implementation of more WWTPs.

**Keywords:** Gram-negative bacteria; Meropenem; Sewage treatment station; Bacterial pharmacoresistance; Aquatic environment.

---

## RESUMEN

### Investigación de Enterobacteriales resistentes a meropenem y productores de carbapenemases en una planta de tratamiento de aguas residuales en Minas Gerais, Brasil

**Introducción:** Las bacterias gramnegativas, a pesar de ser ubicuas en la naturaleza, pueden causar infecciones y desarrollar y difundir mecanismos de resistencia a los antimicrobianos. Destaca la resistencia antimicrobiana (RAM) a fármacos de relevancia clínica como meropenem, por lo que el estudio de resistencia en ambientes acuáticos está poco explorado. **Objetivo:** Se investigó la presencia de bacterias gramnegativas resistentes a meropenem (BRM) en una planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) en Minas Gerais, Brasil. Se recogieron dos litros de aguas residuales (AR) y efluentes (EF). Se sometieron a cultivo 100 µL de cada muestra con y sin meropenem (8 µg/mL). Posteriormente se realizaron diluciones seriadas y se inocularon 100 µL de cada dilución en agares para la recuperación de Gram negativos. Los morfotipos se identificaron utilizando agar cromogénico y se sometieron a la prueba de inactivación de carbapenems en ausencia y presencia de EDTA (EUCAST, 2017; CLSI, 2022) para investigar la producción de carbapenemases. **Resultados:** Se recuperaron un total de 34 morfotipos bacterianos, todos pertenecientes al orden Enterobacteriales (26 *Escherichia coli* y cuatro *Enterobacter* sp. en AR y cuatro *E. coli* en EF). Todos los BRM fueron productores de carbapenemases, la mayoría (88,6%) del tipo serinacarbapenemases, mientras que los productores de metallobetalactamasas se encontraron exclusivamente en AR. **Conclusión:** A pesar de la reducción de morfotipos en AR, su descarga a vías fluviales debe considerarse un medio importante de transporte de BRM en el medio ambiente. Nuestros datos apuntan a la necesidad de realizar más estudios para comprender y establecer estrategias para contener la propagación de la resistencia a los antimicrobianos, incluida la implementación de más PTAR.

**Palabras clave:** Bacterias Gram negativas; Meropenem; Planta de tratamiento de aguas residuales; Far-macoresistencia bacteriana; Ambiente acuático.

---

## 1. INTRODUÇÃO

Resistência antimicrobiana (RAM), apesar de ser um evento evolutivo, é um grande desafio à humanidade, com impacto direto na sobrevida de pacientes com infecções por bactérias resistentes, para os quais as opções terapêuticas são reduzidas [1, 2].

Antimicrobianos são usados na profilaxia e terapêutica de infecções em seres humanos e animais, além disso, como promotores de crescimento na criação de animais para o consumo humano. Ademais, seus resíduos são considerados micropoluentes e têm sido encontrados em diversos ambientes [3]. Por exemplo, no ambiente aquático, chegam por diversas rotas, tais como esgotos e efluentes das estações de tratamento de esgotos (ETEs), interferindo na ecologia microbiana, uma vez que exercem pressão seletiva e assim favorecem a RAM e as variabilidades genética e fenotípica [4].

A água é um recurso indispensável para a vida e grandes esforços têm sido feitos para mantê-la disponível no planeta. Assim, as ETEs estão cada vez mais sendo implementadas visando a reutilização da água. O processo de tratamento do esgoto instituído em uma ETE geralmente acontece em estágios, porém nenhum deles contempla a remoção de resíduos de antimicrobianos [5]. Dessa forma, a população bacteriana das ETEs, altamente complexa, considerando os micropoluentes aos quais está exposta, frequentemente apresenta fenótipo de resistência a antimicrobianos [6].

Destacam-se neste contexto bactérias gram-negativas da ordem Enterobacteriales, sobretudo *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Pantoea* spp. e *Morganella morganii* que fazem parte da microbiota do trato intestinal de humanos e animais [7]. Estas bactérias são também agentes causadores de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAs) e da comunidade, incluindo septicemias, infecções entéricas, infecções urinárias e infecções cutâneas [8].

No tratamento de infecções por Enterobacteriales estão disponíveis várias classes de antimicrobianos e a escolha clínica é baseada no local de instalação da infecção e do perfil de susceptibilidade bacteriana, podendo ser destacado o uso de betalactâmicos, quinolonas e aminoglicosídeos, porém a ampla utilização desses antimicrobianos tem resultado em aumento da RAM [9].

Para betalactâmicos, uma classe que inclui o maior número de compostos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos) e que agem inibindo a síntese da parede celular bacteriana, vários mecanismos de resistência estão descritos, envolvendo modificações estruturais das proteínas ligadoras de penicilina (PLP), alterações nos canais de porina e produção de enzimas betalactamases codificadas pelo gene *bla*, capazes de hidrolisar o anel betalactâmico inativando o antimicrobiano [10].

Os carbapenêmicos (meropenem, imipenem, ertapenem e doripenem) são considerados de última geração e permanecem estáveis diante dos mecanismos enzimáticos primários de resistência aos betalactâmicos [11]. Contudo, devido a sua maior utilização em função do aumento de bactérias multirresistentes (MDR), bactérias resistentes aos carbapenêmicos (BRC) têm sido frequentemente relatadas no cenário clínico imprimindo grande desafio no manejo dessas infecções [12].

Embora exista grande variedade de mecanismos de resistência aos antimicrobianos betalactâmicos, especificamente para os carbapenêmicos, a produção de carbapenemases cujo os genes apresentam alto potencial de disseminação via transferência horizontal, são de maior preocupação [13]. Essas enzimas codificadas podem hidrolisar também cefalosporinas, peni-

cilinas e monobactam [14] e são distribuídas entre as classes A, C e D de Ambler (serino-carbapenemases) que apresentam um grupo serina em seu sítio ativo e podem ser inativadas por inibidores de betalactamases e B (metalobetalactamases - MBL) que possuem íon zinco no seu sítio ativo e são inibidas por compostos quelantes como o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) [15, 16].

Destacam-se, devido a maior disseminação entre as BRC, as serinocarbapenemases do tipo KPC (*Klebsiella pneumoniae Carbapenemase*), IMI (*imipenem hydrolyzing carbapenemase*) e SME (*Serratia marcescens enzyme*) e as MBL SPM (São Paulo metalobetalactamase), GIM (*German mipenemase*), VIM (Verona imipenemase), IMP (Imipenemase) e NDM (*New Delhi metalobetalactamases*). Ainda, na classe D estão incluídas as oxacilinases que hidrolisam as oxacilinas, oximinocefalosporinas e carbapenêmicos e abrangem as carbapenemases do subtipo OXA [17-19].

Ao contrário do relatado na clínica, a presença BRC ainda é escassa quando se trata do cenário ambiental. Entretanto, alguns estudos mostram que BRC, mais frequentemente *E. coli*, estão distribuídas em águas de esgoto doméstico, hospitalar e rios no Japão [20] e Índia [21]. No Brasil, de acordo com Abrantes [22], Enterobacteriales com esse fenótipo foram detectadas em amostras de ETE do Rio de Janeiro, o que aponta para um cenário crítico, que pode inviabilizar o uso dos carbapenêmicos. Deve ser destacada a possibilidade de intercâmbio dessas bactérias entre os diversos ambientes de acordo com a perspectiva *One Health* e também que ambientes como o aquático são considerados reservatórios de RAM, o que pode ser um risco iminente à saúde pública [23, 24].

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo investigar a presença de bactérias gram-negativas resistentes ao meropenem (BRM), um importante carbapenêmico amplamente utilizado na clínica, em amostras de águas de uma ETE bem como investigar a produção de mecanismos de resistência enzimático aos carbapenêmicos circulando entre essas bactérias. Nossos dados poderão contribuir para aumentar o conhecimento sobre a presença de BRC em ambientes aquáticos e alertar para a necessidade de monitoramento da sua disseminação.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Relação de reagentes e materiais utilizados nos experimentos

Brain Heart infusion (Difco, USA); Meropenem pó, pureza ≥98% (HPLC) (Sigma-Aldrich, Alemanha); Ágar MacConkey (Isofar, Brasil); Ágar Cetrimide (TM Media, India); Ágar Cromogênico (Probac, Brasil); Glicose P.A. (Synth, Brasil); Lactose P.A. (Synth, Brasil); Sacarose P.A. (Synth, Brasil); Ágar SIM (Kasvi, Brasil); Caldo lisina (Synth, Brasil); Ágar citrato Simmons (Kasvi, Brasil); Caldo malonato (HIMEDIA, India); Caldo urease (Synth, Brasil); Enzima cito-cromo oxidase (Laborclin, Brasil); Glicerol, pureza ≥99.5% (Sigma-Aldrich, Alemanha); EDTA (Synth, Brasil); Meropenem disco10 mcg (SensibioDisc – CECON, Brasil); Ágar Muller Hinton (Isofar, Brasil).

### 2.2. Amostras de água e recuperação de BRM

Foram coletados dois litros de água (um do esgoto bruto - EB e um do efluente - EF) da Estação de Tratamento de Esgotos Várzea das Flores, na cidade de Carmópolis de Minas - MG (-20°53'66.40" S -44°62'72.97" W) no dia 27 de março de 2023.

As amostras foram coletadas em frascos de polipropileno com tampa de rosca previamente esterilizados, armazenados 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.

Para a verificação do possível crescimento de BRM foi realizada cultura enriquecida, de acordo com Paiva e colaboradores [25], com modificações. Um volume de 100 $\mu$ L de cada amostra foi inoculada em frascos contendo: i) apenas 100 mL de caldo *Brain Heart infusion* (BHI, Difco) para controle de viabilidade e crescimento bacteriano e ii) 100 mL de caldo BHI acrescido de meropenem (MEM, Sigma-Aldrich) na concentração final de 8  $\mu$ g/mL, que foi determinada de acordo com os *breakpoints* do *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* [26], o qual classifica como “resistente” para Enterobacteriales e *Pseudomonas aeruginosa* crescendo a partir desta concentração. Todos os frascos foram incubados a 35 $\pm$ 2 °C por 24 horas.

### **2.3. Isolamento e identificação das colônias de BRM**

Após o período de incubação, os frascos foram observados para a inspeção macroscópica da turbidez, foram realizadas diluições seriadas (10<sup>-1</sup> a 10<sup>-7</sup>) dos frascos de cultura e 100  $\mu$ L de cada diluição foram transferidos para placas de ágar MacConkey (Isofar, Brasil) e ágar Cetrimide (TM Media, Indian), distribuídos na superfície do ágar utilizando a técnica de *spread plate*, em duplicata.

As placas foram incubadas a 35 $\pm$ 2 °C por até 48 horas. Na pesquisa de espécies de Enterobacteriales, após o período de incubação, as placas de ágar MacConkey foram analisadas observando o crescimento de colônias fermentadoras ou não de lactose. Todas as colônias foram submetidas à coloração de Gram para confirmação da morfologia e foram identificadas utilizando ágar Cromogênico (Probac, Brasil) de acordo com a orientação do fabricante. Além disso, algumas colônias foram submetidas a provas de identificação bioquímicas-fisiológicas clássicas, incluindo provas fermentação de carboidratos (glicose, lactose e sacarose), da produção de pigmentos, da motilidade, da descarboxilação de lisina, da produção de indol, da produção de H<sub>2</sub>S, da utilização de citrato e malonato como fonte de carbono e da produção uréase [27].

O ágar cetrimide, o qual é específico para a recuperação de *P. aeruginosa*, foi analisado observando a presença de colônias grandes, apresentando pigmento verde difundido no meio de cultura [28] e para a confirmação da identificação da espécie foram realizados os testes da produção da enzima citocromo oxidase e capacidade de crescimento em temperatura de 42 °C [29].

Posteriormente, todas as BRM foram inoculadas em ágar MacConkey para verificação da pureza da cultura por avaliação da morfologia das colônias. Desta cultura, três a cinco colônias foram suspensas em caldo BHI e incubadas à temperatura de 35 $\pm$ 2 °C por 18-24 horas. Após este período de incubação, 500  $\mu$ L da cultura foram acrescidos de glicerol 15% v/v e estocado a -20 °C e as BRM foram catalogadas e incorporadas à bacterioteca do Laboratório de Microscopia, Diagnóstico Laboratorial e Microbiologia Clínica da Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Centro-Oeste Dona Lindu da UFSJ para realização dos experimentos.

### **2.4. Investigação da produção de carbapenemases pelos isolados recuperados do EB e EF**

Todas as BRM foram submetidas ao teste de inativação de carbapenêmico na ausência (mCIM) e presença (eCIM) de EDTA [30, 31] (EUCAST, 2017; CLSI, 2022) para a investigação da produção de carbapenemases. Para a realização deste teste, três a cinco colônias de cada isolado

---

crescido a partir de ágar nutritivo foram inoculadas em 2 mL de caldo BHI (Isofar, Brasil). Simultaneamente, um disco de meropenem 10 mcg (SensibioDisc – CECON) foi colocado em cada tubo de ensaio e incubados a  $35\pm2$  °C por 4 horas.

Após a incubação, os discos de meropenem foram removidos dos tubos e colocados em uma placa de ágar Muller Hinton (Isofar, Brasil) previamente inoculada com a cepa indicadora *E. coli* ATCC® 25922, cujo padrão de turvação da suspensão foi compatível com a escala 0,5 McFarland. As placas foram incubadas a  $35\pm2$  °C e a leitura e interpretação foram realizadas segundo as orientações do EUCAST [30] e CLSI [31]. De acordo com esses protocolos, a observação de um halo de inibição específico (tamanho em mm interpretado de acordo com os protocolos citados) para o meropenem é indicativo de que o isolado produz uma carbapenemase.

Simultaneamente ao teste mCIM, foi realizado o teste eCIM o qual apresenta como modificação a utilização de um tubo de caldo BHI de cada BRM contendo 20  $\mu$ L de EDTA 0,5 M (pH 7,8 – 8,0). De acordo com o CLSI [31], este procedimento permite a diferenciação das carbapenemases metalobetalactamase e serinocarbapenemase, considerando que as primeiras têm sua atividade dependente do zinco, que no teste será quelado pelo EDTA. Nesta pesquisa, quando há um aumento de  $\geq 5$ mm no halo de inibição do eCIM em relação ao mCIM é considerado a detecção positiva de metalobetactamase no isolado, enquanto aumento  $\leq 4$  mm correlaciona com produção de serinocarbapenemase.

## 2.5. Análise estatística

Foi utilizado o programa estatístico SigmaXL. O teste não paramétrico de Fischer foi utilizado para comparações dos dados referentes ao número de morfotipos recuperados em EB e EF. Os valores comparados foram considerados estatisticamente significativos quando os valores de  $p$  foram menores que 0,05.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

É conhecido que grandes quantidades de antimicrobianos e seus resíduos são liberadas nas águas residuais em função do metabolismo incompleto em humanos e animais, descarte inadequado de fármacos e como resíduo de indústrias farmacêuticas [32]. Além de favorecer a seleção de bactérias resistentes, o lançamento de antimicrobianos nos recursos hídricos receptores pode impactar a microbiota, a flora e a fauna residente. Dessa forma, há uma necessidade de gerenciamento desses micropoluentes recalcitrantes para diminuir o impacto ecológico [33, 34].

As amostras de água incluídas neste estudo são provenientes de uma ETE que utiliza para o tratamento um reator anaeróbio (UASB) e uma lagoa facultativa, onde o esgoto é estabilizado por processos aeróbios e anaeróbios por meio de bactérias dispersas no líquido.

A partir da cultura enriquecida com meropenem, foi observado um crescimento abundante de bactérias gram-negativas no ágar MacConkey tanto do EB quanto do EF, porém, em baixa diversidade, com colônias fermentadoras e não fermentadoras de lactose. Considerando o uso do ágar cetrímide, específico para recuperação de *P. aeruginosa*, nenhum crescimento foi observado o que é corroborado com estudos realizados em águas residuais no Brasil [35-37]. Esse é um fato curioso uma vez que essa espécie tem a habilidade de persistir por longos períodos em ambientes adversos [38], possivelmente a disponibilidade reduzida de oxigênio pode ter alterado seu metabolismo inviabilizando sua recuperação *in vitro* [39].

Assim, a partir do ágar MacConkey, um total de 34 morfotipos de BRM (30 em EB e quatro em EF) foi obtido, mostrando uma redução de 76,5% dos morfotipos bacterianos no EF da ETE.

Porém, essa diferença não é significativa ( $p=1$ ). A redução bacteriana observada pode estar relacionada com a implementação do tratamento misto do esgoto (UASB e lagoa algal aeróbia) que, de acordo com Massé [40], promove a oxidação carbonácea, a nitrificação, a desnitrificação e a remoção biológica do fósforo, este último junto com o nitrogênio e outros nutrientes importantes fontes de energia para as bactérias heterotróficas, tais como a maioria dos microrganismos do trato intestinal humano [41, 42]. Dessa forma, é aumentada a eficiência global do tratamento do esgoto com maior depuração bacteriana e melhoria da qualidade do efluente no que se refere a possibilidade de veiculação de potenciais patógenos [43-45].

Todos os morfotipos foram identificados como pertencentes a ordem Enterobacteriales (26 *E. coli* e quatro *Enterobacter spp.* em EB e quatro *E. coli* em EF, Quadro 1). É imprescindível destacar a presença da ordem Enterobacteriales na maioria dos estudos feitos em águas residuais [46, 47], fato relacionado ao microbioma deste ambiente, majoritariamente composto por microrganismos da microbiota intestinal que inclui uma diversidade de Enterobacteriales. Porém, é de particular preocupação o potencial destas bactérias para causar infecções em seres humanos e também de adquirir e disseminar RAM via transferência horizontal de genes [48, 49].

**Quadro 1.** Enterobacteriales recuperadas das amostras de esgoto bruto (EB) e efluente (EF) da Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) Várzea das Flores, Carmópolis de Minas-MG e carbapenemases detectadas.

Espécies bacterianas (n=34)	Carbapenemase detectada
B1_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B2_ <i>Enterobacter sp.</i>	Serinocarbapenemase
B3_ <i>Enterobacter sp.</i>	Serinocarbapenemase
B4_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B5_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B6_ <i>Enterobacter sp.</i>	Serinocarbapenemase
B7_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B8_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B9_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B10_ <i>Enterobacter sp.</i>	Serinocarbapenemase
B11_ <i>Escherichia coli</i>	Metalobetalactamase
B12_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B13_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B14_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B15_ <i>Escherichia coli</i>	Metalobetalactamase
B16_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B17_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B18_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B19_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B20_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B21_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B22_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B23_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B24_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B25_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B26_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase
B27_ <i>Escherichia coli</i>	Serinocarbapenemase

B28_Escherichia coli	Serinocarbapenemase
B29_Escherichia coli	Metalobetalactamase
B30_Escherichia coli	Metalobetalactamase
E1_Escherichia coli	Serinocarbapenemase
E2_Escherichia coli	Serinocarbapenemase
E3_Escherichia coli	Serinocarbapenemase
E4_Escherichia coli	Serinocarbapenemase

B: bactéria recuperada do esgoto bruto, E: bactéria recuperada do efluente.

*E. coli* foi a espécie mais recuperada em EB e a única em EF, certamente porque é um componente da microbiota do trato gastrointestinal de humanos e animais [50] e chega às ETEs com o aporte de esgoto doméstico [36, 51]. Ratificam esse achado os estudos de Anastasi e colaboradores [52] e Paiva e colaboradores [35] realizados em ETEs de Queensland na Austrália e Belo Horizonte, Brasil respectivamente.

Por outro lado, o gênero *Enterobacter* de fácil adaptação e patógeno oportunista [53], encontrado em menor quantidade apenas em EB (4/30, 13,3%), parece mesmo não ser tão frequente em amostras de esgoto, como também relatado por Resende [54] em uma ETE de Goiânia, Goiás. Ao contrário, Hooban e colaboradores [55] relataram o achado de 83,0% de *Enterobacter* spp. em amostras de água na Irlanda, porém foram incluídas amostras de esgoto e rios, o que pode justificar essa diferença pois, como observado por Simião e colaboradores [56], rio ao longo do seu percurso pode abrigar *Enterobacter* spp.

Enzimas carbapenamases são relatadas como importante mecanismo de resistência a antimicrobianos betalactâmicos, incluindo carbapenêmicos e junto com outros tipos de betalactamases têm sido recorrentes em isolados bacterianos de ambientes aquáticos, como águas residuais, rios, lagos ou mar [57].

Um fato alarmante aqui observado foi que todos os isolados, tanto de EB quanto de EF em drenagem espontânea para cursos d'água foram produtoras de carbapenemases (Quadro 1), ou seja, BRM é absolutamente integrante da comunidade bacteriana da ETE estudada. A maioria das BRM (88,6%, 26 de EB e 4 de EF) foi produtora de serinocarbapenemase. De fato, BRC produtores de serinocarbapenemase, especialmente do tipo KPC, estão amplamente disseminadas em várias partes do mundo e são consideradas endêmicas no Brasil desde 2009 [58, 59], tanto no cenário clínico quanto ambiental [60, 61]. Confirmando a disseminação desse mecanismo de resistência, vários estudos têm relatado o achado do gene *bla*<sub>KPC</sub> não apenas em *K. pneumoniae*, mas também em *E. coli* e *Enterobacter* spp. [22, 58, 60, 62].

Da mesma forma, Enterobacteriales produtoras de metalobetalactamase, apesar de terem sido descritas mais recentemente [63, 64], têm sido frequentemente encontradas em esgotos e efluentes hospitalares [65]. Possivelmente esse achado está relacionado com a elevada quantidade de antimicrobianos utilizados e descartados no ambiente aquático, tanto de origem doméstica quanto hospitalar, além da persistência e disseminação dessas cepas neste ambiente [66]. Vale ressaltar que a ETE aqui estudada recebe também as águas residuais da Santa Casa de Misericórdia, principal hospital da cidade de Carmópolis de Minas – MG. Embora não seja possível afirmar que tais cepas são advindas de ambiente hospitalar, é certo que há interferência na resistência antimicrobiana em função da possibilidade de intercâmbio de mecanismos de resistência. Rafram e colaboradores [67] relatam que efluentes hospitalares podem ser considerados fontes urbanas de contaminação ambiental com real impacto no desenvolvimento e disseminação de RAM.

A indissociabilidade da qualidade e quantidade da água com o estado de saúde humana, saúde pública, meio produtivo, matéria prima, condição essencial para a vida, manutenção de diversos tipos de biomas, torna evidente a sua importância para a humanidade e reforça a perspectiva defendida pelo conceito *One Health* [68]. Dessa forma, é de extrema importância o monitoramento e o controle de qualidade dos tratamentos de esgoto e consequentemente do efluente que é despejado nos rios, uma vez que isso afeta diretamente a qualidade da água utilizada pela população.

Por fim, esse estudo apresenta limitações, tais como número amostral e a não utilização de metodologia molecular, porém, esses fatos não diminuem a relevância do estudo no sentido de ampliar o conhecimento da distribuição de BRC fora do ambiente clínico bem como dos mecanismos de resistência circulantes, ainda pouco contemplado nas pesquisas.

## 4. CONCLUSÃO

Bactérias da ordem Enterobacteriales, sobretudo *E. coli*, são as mais prevalentes em amostras de ETEs, especialmente de esgoto bruto. Sistemas de tratamento de esgoto mistos parecem ter um papel importante e maior eficiência na redução de bactérias do efluente e, portanto, contribuem para devolver ao ambiente uma água que traz menor risco à saúde da população.

BRM circulam em amostras de água de ETEs, sendo que mecanismos enzimáticos de transferência horizontal parecem estar mais disseminados. Os dados obtidos poderão evidenciar a necessidade de tomada de ação frente a descarga e tratamento do esgoto doméstico no sentido de conter a disseminação da RAM, especialmente aos carbapenêmicos e, consequentemente, reduzir os riscos à saúde da população do entorno dos cursos d'água que recebem os efluentes das ETEs.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Universidade Federal de São João del Rei-UFSJ, *Campus Centro Oeste Dona Lindu* pelo suporte bibliográfico e de infraestrutura. A.B.C.C. agradece a bolsa concedida pelo Programa Institucional de Desenvolvimento Acadêmico nas Ações Afirmativas (PIDAC-AF) da UFSJ.

## DECLARAÇÃO DE DIVULGAÇÃO

Todos os autores relatam não ter conflitos de interesse.

## REFERÊNCIAS

1. Y. Cag, H. Caskurlu, Y. Fan, B. Cao & H. Vahaboglu. Resistance mechanisms. *Ann. Transl. Med.*, **4**(17), 326–326 (2016). Doi: <https://doi.org/10.21037/atm.2016.09.14>
  2. M. Tallat, D. Gurala, S. Amarnath, M. Alsheikh, A. Sharma, Y. Eldouaihy, *et al.* S2387: The connections you don't want to make: A rare case of atrio-esophageal fistula formation after thermal ablation for atrial fibrillation. *Am. J. Gastroenterol.*, **117**(10S), e1598 (2022). Doi: <https://doi.org/10.14309/01.ajg.0000866188.91519.f7>
  3. L. Carrara da Silva, A. Machado-Cardoso & J.M.B. Dias-Vieira. Dispersão da resistência a antimicrobianos no ambiente sob o conceito de Saúde Única. *Concilium*, **22**(6), 937–948 (2022). URL:

- [https://www.academia.edu/93419422/Dispers%C3%A3o\\_da\\_resist%C3%A3o\\_a\\_antimicrobianos\\_no\\_ambiente\\_sob\\_o\\_conceito\\_de\\_Sa%C3%BAde\\_%C3%99Anica](https://www.academia.edu/93419422/Dispers%C3%A3o_da_resist%C3%A3o_a_antimicrobianos_no_ambiente_sob_o_conceito_de_Sa%C3%BAde_%C3%99Anica)
- 4. A. Versporten, P. Zarb, I. Caniaux, M.F. Gros, N. Drapier, M. Miller, *et al.* Antimicrobial consumption and resistance in adult hospital inpatients in 53 countries: Results of an internet-based global point prevalence survey. *Lancet Glob. Health*, **6**(6), e619–e629 (2018). Doi: [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30186-4](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30186-4)
  - 5. S. Naidoo & A.O. Olaniran. Treated wastewater effluent as a source of microbial pollution of surface water resources. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **11**(1), 249–270 (2013). Doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph110100249>
  - 6. C. Pal, J. Bengtsson-Palme, E. Kristiansson & D.G.J. Larsson. Co-occurrence of resistance genes to antibiotics, biocides and metals reveals novel insights into their co-selection potential. *BMC Genomics*, **16**(1), 964 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2153-5>
  - 7. L.G. Pinheiro. *Metagenômica de microrganismos aquáticos como ferramenta para a análise da saúde coletiva no semiárido*. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN, Natal (RN), Brasil, 2017; 22 p. URL: <https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/47328>
  - 8. Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: Da Requisição do Exame à Análise Microbiológica e Laudo Final*. Brasília DF, 2013; 100 p. URL: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-4-procedimentos-laboratoriais-da-requisicao-do-exame-a-analise-microbiologica-e-laudo-final>
  - 9. P.D. Tamma, S.E. Cosgrove & L.L. Maragakis. Combination therapy for treatment of infections with Gram-negative bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.*, **25**(3), 450–470 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1128/cmr.05041-11>
  - 10. Y. Wang, M.-K. Tong, K.-H. Chow, V.Ch.-Ch. Cheng, C.W.-S. Tse, A.K.-L. Wu, R.W.-M. Lai, W.-K. Luk, D.N.-Ch. Tsang & P.-L. Ho. Occurrence of highly conjugative IncX3 epidemic plasmid carrying blaNDM in *Enterobacteriaceae* isolates in geographically widespread areas. *Front. Microbiol.*, **9**, 2272 (2018). Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02272>
  - 11. W.G. Lima, F.J.d. Santos, A.C. Soares, F.A. Macías, J.M.G. Molinillo, J.M.S. Ferreira & J.M.d. Siqueira. Synthesis and antimicrobial activity of some benzoxazinoids derivatives of 2-nitrophenol and 3-hydroxy-2-nitropyridine. *Synth. Commun.*, **49**(2), 286–296 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1080/00397911.2018.1554146>
  - 12. D. Duin & Y. Doi. The global epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Virulence*, **8**(4), 460–469 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1222343>
  - 13. M. Asif, I.A. Alvi & S.U. Rehman. Insight into *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infect. Drug Resist.*, **11**, 1249–1260 (2018). Doi: <https://doi.org/10.2147/IDR.S166750>
  - 14. M. Lopes-Araujo. *Genotipagem de β-lactamases de espectro estendido (ESBL) em cepas de Escherichia coli uropatogênica isoladas de pacientes no Hospital Regional de Ceilândia*. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2017; 31 p. URL: <https://bdm.unb.br/handle/10483/23935>
  - 15. A.M. Queenan & K. Bush. Carbapenemases: The versatile β-lactamases. *Clin. Microbiol. Rev.*, **20**(3), 440–458 (2007). Doi: <https://doi.org/10.1128/cmr.00001-07>
  - 16. C.P. Oplustil, C.M. Zoccoli, N.R. Tobouti & M.C. Scheffer. *Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica*. 4a edição. Sarvier, São Paulo (SP), 2019.
  - 17. R.P. Ambler. The structure of beta-lactamases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci.*, **289**(1036), 321–331 (1980). Doi: <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>
  - 18. B.A. Evans & S.G.B. Amyes. OXA β-lactamases. *Clin. Microbiol. Rev.*, **27**(2), 241–263 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1128/cmr.00117-13>
  - 19. M. Cantisani, E. Finamore, E. Mignogna, A. Falanga, G.F. Nicoletti, C. Pedone, *et al.* Structural insights into and activity analysis of the antimicrobial peptide myxinidin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **58**(9), 5280–5290 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1128/aac.02395-14>
-

20. H. Akiba & K. Tsumoto. Expression in Bacteria and Refolding. In: T. Senda & K. Maenaka (editors). *Advanced Methods in Structural Biology*. Springer Protocols Handbooks. Springer, Tokyo, 2016; pp. 3–23. Doi: [https://doi.org/10.1007/978-4-431-56030-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-4-431-56030-2_1)
  21. V.P. Prabhasankar, D.I. Joshua, K. Balakrishna, I.F. Siddiqui, S. Taniyasu, N. Yamashita, *et al.* Removal rates of antibiotics in four sewage treatment plants in South India. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **23**(9), 8679–8685 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5968-3>
  22. J.A. Abrantes. *Avaliação da resistência bacteriana em Estações de Tratamento de Esgoto da Fiocruz com ênfase no perfil fenotípico e molecular para betalactamases em enterobactérias*. Tese do Doutorado em Saúde pública e meio ambiente. Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2022; 116 f. URL: [https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/CRUZ\\_64b536c68207ab2f961329aeccea0762](https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/CRUZ_64b536c68207ab2f961329aeccea0762)
  23. D. Rodríguez-Lázaro, E.-A. Oniciuc, P.G. García, D. Gallego, I. Fernández-Natal, M. Dominguez-Gil, *et al.* Detection and characterization of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* in foods confiscated in EU borders. *Front. Microbiol.*, **8**, 1344 (2017). Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01344>
  24. K. KuKanich, A. Burklund, R. McGaughey, N. Muturi, S. Thomason, M.M. Chengappa, *et al.* One health approach for reporting veterinary carbapenem-resistant enterobacteriales and other bacteria of public health concern. *Emerg. Infect. Dis.*, **29**(6), 1–9 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3201/eid2906.221648>
  25. M.C. Paiva, M.P. Reis, P.S. Costa, M.F. Dias, L. Bleicher, L.L.S. Scholte, *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 Res.*, **110**, 27–37 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.11.056>
  26. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, BrCAST. Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos, Rio de Janeiro (RJ), 2023. URL: <https://brcast.org.br/documents/documentos-3/>
  27. E.W. Koneman, S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger & W.C. Winn. *Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido*. 6ª edição, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2008; pp. 617–665.
  28. D.A. Mossel & L. Indacochea. A new cetrinide medium for the detection of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Med. Microbiol.*, **4**(3), 380–382 (1971). Doi: <https://doi.org/10.1099/00222615-4-3-380>
  29. T.R. Oberhofer. Cultural and biochemical characteristics of clinical isolates of unusual colistin-resistant pseudomonads. *J. Clin. Microbiol.*, **12**(2), 156–160 (1980). Doi: <https://doi.org/10.1128/jcm.12.2.156-160.1980>
  30. EUCAST. *Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters*, Version 7.0, 2017. URL: [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)
  31. CLSI. A. Goodwin & M.A. Wikler. *CLSI M23 Development of in vitro susceptibility test methods, breakpoints, and quality control parameters*. 6th edition. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne (PA), 2023. URL: <https://clsi.org/shop/standards/m23/>
  32. E. Oliveira de Oliveira & C.L. Banaszek. A logística reversa no descarte de medicamentos. *Saúde e Desenvolvimento*, **10**(18), 21–37 (2021). URL: <https://cadernosuninter.com/index.php/saude-e-desenvolvimento/article/view/1068>
  33. E. Felis, J. Kalka, A. Sochacki, K. Kowalska, S. Bajkacz, M. Harnisz, *et al.* Antimicrobial pharmaceuticals in the aquatic environment - occurrence and environmental implications. *Eur. J. Pharmacol.*, **866**, 172813 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172813>
  34. P. Kovalakova, L. Cizmas, T.J. McDonald, B. Marsalek, M. Feng & V.K. Sharma. Occurrence and toxicity of antibiotics in the aquatic environment: A review. *Chemosphere*, **251**, 126351 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126351>
  35. M.C. Paiva, M.P. Ávila, M.P. Reis, P.S. Costa, R.M. Nardi & A.M. Nascimento. The microbiota and abundance of the Class 1 Integron-Integrase Gene in tropical sewage treatment plant influent and activated sludge. *PLoS One*, **10**(6), e0131532 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131532>.
-

36. E.C. Machado, C.D. Leal, B. Lopes-Coelho, C.A. de Lemos-Chernicharo & J. Calábria de Araujo. Detecção e quantificação de bactérias resistentes aos antibióticos ampicilina e cloranfenicol em estações de tratamento de esgoto doméstico. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, **25**(6), 847–857 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1590/S1413-4152202020180001>
37. E.T. Abreu, J.A. Pretto, Â.d. Oliveira-Caleare, C.R.G. Tavares & C.V. Nakamura. Avaliação da resistência a antibióticos de bactérias isoladas de efluente hospitalar. *Acta Scientiarum. Technology* (Maringá), **32**(1), 1–5 (2010). URL: <https://www.redalyc.org/pdf/3032/303226525005.pdf>
38. A. Portela de Azevedo, D.T. de Sousa-Marinho, E. Rodrigues da Conceição, D. Barbosa, S. Gomes-Faria, J. da Silva-Nascimento, M.d.O. Lima-Neves, T. Vieira da Silva, I. Oliveira da Fonseca & G. Nascimento-Lima. *Pseudomonas aeruginosa*: Perfil de resistência antimicrobiana e principais sítios de infecção de amostras colhidas de pacientes imunossuprimidos. *Revista Feridas*, **11**(58), 2117–2122 (2023). URL: <https://www.revistaferidas.com.br/index.php/revistaferidas/article/view/3046>
39. R. La Rosa, H.K. Johansen & S. Molin. Convergent metabolic specialization through distinct evolutionary paths in *Pseudomonas aeruginosa*. *mBio*, **9**(2), e00269-18 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1128/mBio.00269-18>
40. D.I. Massé. *Psychrophilic anaerobic digestion of swine manure slurry in intermittently fed sequencing batch reactor*. Ph.D. thesis. University of Ottawa, Ottawa (ON), 1995; 298 p. URL: <https://ruor.uottawa.ca/items/565264b2-c0e2-4d26-b113-32a64bcb74aa>
41. J.F. Nie, K. Oh-ishi, X. Gao & K. Hono. Solute segregation and precipitation in a creep-resistant Mg–Gd–Zn alloy. *Acta Materialia*, **56**(20), 6061–6076 (2008). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.actamat.2008.08.025>
42. A.L. Tonetti, B. Coraucci-Filho & R. Stefanutti. Pós-tratamento de efluente de filtros anaeróbios operados com baixo tempo de detenção hidráulica por escoamento superficial no solo. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, **17**(1), 7–12 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1590/S1413-41522012000100004>
43. A.C.d. Nascimento, V.T. Reichardt, J.F.d.M. Vasco & L.S. Rodrigues. Testes fenotípicos para a detecção e diferenciação de carbapenemases em enterobacteriales isoladas de hemoculturas de pacientes oncológicos. *Cadernos da Escola de Saúde*, **19**(1), 40–49 (2019). URL: <https://portaldeperiodicos.unibrasil.com.br/index.php/cadernossaude/article/view/5299>
44. R.A.d. Santos. *Produção de prodigiosina por Serratia marcescens UCP 1549 sob fermentação em estado sólido e avaliação do seu potencial antimicrobiano*. Dissertação para obtenção do título de mestre. Universidade Católica de Pernambuco, Recife, 2020; 108 p. URL: [http://tede2.unicap.br:8080/bitstream/tede/1254/5/Ok\\_renata\\_andreia\\_santos.pdf](http://tede2.unicap.br:8080/bitstream/tede/1254/5/Ok_renata_andreia_santos.pdf)
45. G.C. Fernandes, P.A.L. Rosa, A. Jalal, C.E.d.S. Oliveira, F.S. Galindo, R.D.S. Viana, *et al.* Technological quality of sugarcane inoculated with plant-growth-promoting bacteria and residual effect of phosphorus rates. *Plants*, **12**(14), 2699 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3390/plants12142699>
46. K. Kiga, X.E. Tan, R. Ibarra-Chávez, S. Watanabe, Y. Aiba, Y. Sato'o, *et al.* Development of CRISPR-Cas13a-based antimicrobials capable of sequence-specific killing of target bacteria. *Nat. Commun.*, **11**(1), 2934 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16731-6>
47. R. Nakamura-Silva, R. Coelho de Soussa, R.Y. Fujimoto & A. Pitondo-Silva. Sewage from a secondary hospital in Ribeirão Preto, southeastern Brazil: A source of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Environ. Monit. Assess.*, **195**(1), 204 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1007/s10661-022-10830-1>
48. R. Zhang, L. Liu, H. Zhou, E.W. Chan, J. Li, Y. Fang, *et al.* Nationwide surveillance of clinical carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) strains in China. *eBioMedicine*, **19**, 98–106 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.04.032>
49. J.P.R. Furlan, M.S. Ramos, R.d.S. Rosa, E.A. Savazzi & E.G. Stehling. Occurrence and genetic characteristics of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolates co-harboring antimicrobial resistance genes and metal tolerance genes in aquatic ecosystems. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, **244**, 114003 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2022.114003>
50. E. Korzeniewska & M. Harnisz. Beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in hospital effluents. *J. Environ. Manage.*, **123**, 1–7 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.03.024>
-

51. M. Hutinel, P.M.C. Huijbers, J. Fick, C. Åhrén, D.G.J. Larsson, C.F. Flach. Population-level surveillance of antibiotic resistance in *Escherichia coli* through sewage analysis. *Euro Surveill.*, **24**(37), 1800497 (2019). Doi: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.37.1800497>
  52. E.M. Anastasi, B. Matthews, H.M. Stratton & M. Katouli. Pathogenic *Escherichia coli* found in sewage treatment plants and environmental waters. *Appl. Environ. Microbiol.*, **78**(16), 5536–5541 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.00657-12>
  53. V.F.S. Nascimento & M.F.F. Araújo. Ocorrência de bactérias patogénicas oportunistas em um reservatório do semiárido do Rio Grande do Norte, Brasil. *Revista de Ciencias Ambientais*, **7**(1), 92–104 (2013). URL: <https://www.passeidireto.com/arquivo/148957752/ocorrencia-de-bacterias-patogenicas-opportunistas-em-um-reservatorio-do-semiarido>
  54. A.C.B. Resende. *Detecção de microrganismos presentes no esgoto hospitalar e na estação de tratamento de esgoto de Goiânia: presença de bactérias gram-negativas resistentes aos antimicrobianos*. Dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Saúde. Universidade Católica de Goiás, Goiânia, Goiás, 2009; 134 p. URL: <http://tede2.pucgoias.edu.br:8080/handle/tede/3095>
  55. B. Hooban, K. Fitzhenry, L. O'Connor, G. Miliotis, A. Joyce, A. Chueiri, *et al.* A longitudinal survey of antibiotic-resistant Enterobacteriales in the Irish environment, 2019–2020. *Sci. Total Environ.*, **828**, 154488 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154488>
  56. D.C. Simião, F. Pereira de Andrade, W.G. Lima, M. Larissa de Jesus, P.H. Gomes-Dorim & M.C. Paiva. Determination of mercury concentration by a new spectrophotometric method and evaluation of bacterial diversity in river water samples from Brazil. *Water Supply*, **22**(5), 5535–5548 (2022). Doi : <https://doi.org/10.2166/ws.2022.173>
  57. D. Girlich, L. Poirel & P. Nordmann. PER-6, an extended-spectrum  $\beta$ -lactamase from *Aeromonas allosaccharophila*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **54**(4), 1619–1622 (2010). Doi: <https://doi.org/10.1128/aac.01585-09>
  58. L.S. Munoz-Price, L. Poirel, R.A. Bonomo, M.J. Schwaber, G.L. Daikos, M. Cormican, *et al.* Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect. Dis.*, **13**(9), 785–796 (2013). Doi: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70190-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70190-7)
  59. J.L.M. Sampaio & A.C. Gales. Antimicrobial resistance in *Enterobacteriaceae* in Brazil: focus on  $\beta$ -lactams and polymyxins. *Braz. J. Microbiol.*, **47**(Suppl. 1), 31–37 (2016). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.002>
  60. C.P. Tavares. *Caracterização molecular de Enterobacteriaceae não-Klebsiella pneumoniae produtoras de KPC isoladas em diferentes estados brasileiros*. Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Celular e Molecular. Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014; 148 p. URL: [https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/9309?locale=pt\\_BR](https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/9309?locale=pt_BR)
  61. T. Zhang, M.-F. Shao & L. Ye. 454 Pyrosequencing reveals bacterial diversity of activated sludge from 14 sewage treatment plants. *ISME J.*, **6**(6), 1137–1147 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.188>
  62. M.T. Suldofski. *Caracterização fenotípica e identificação molecular de bactérias multirresistentes em esgoto não tratado de um hospital no Brasil*. Tese para obtenção do título de Doutor. Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Cascavel PR, 2021; 87 p. URL: [https://tede.unioeste.br/bitstream/tede/5918/5/Monica\\_Suldofski2021.pdf](https://tede.unioeste.br/bitstream/tede/5918/5/Monica_Suldofski2021.pdf)
  63. J. Findlay, L. Poirel, J. Kessler, A. Kronenberg & P. Nordmann. New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase-producing enterobacteriales bacteria, Switzerland, 2019–2020. *Emerg. Infect. Dis.*, **27**(10), 2628–2637 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3201/eid2710.211265>
  64. S. Bagali, L. Kakhandaki, R. Karigoudar, S.V. Gajul, P.G. Mantur & P.R. Shahapur. Detection of metallo beta-lactamases among Enterobacteriaceae isolates at a tertiary care hospital, south India. *South East Asia J. Med. Sci.*, **4**(3), 1–5 (2020). Doi: <https://doi.org/10.5281/zenodo.4019977>
  65. F. Dallanora, L.M.F. Dallanora, A.F. Dallanora, G. Bohneberger, F.M. D'Agostini, D. Carvalho & A.P. Remor. Multirresistant *Pseudomonas aeruginosa* from hospital end household effluent of public collecting network. *Revista Interdisciplinar de Estudos em Saúde*, **1**(1), 46–55 (2023). Doi: <https://doi.org/10.33362/ries.v1i1.3117>
-

66. N.M.C. Branco, M.U. Pereira, R.G. Ferreira, B.F. Spisso, A.L.M. Albert & C.M.C.P.A. Romão. Ocorrência de antimicrobianos em águas superficiais e residuais do Município do Rio de Janeiro: uma questão de vulnerabilidade ambiental e de saúde pública. *Research, Society and Development*, **10**(10), e415101019000 (2021). Doi: <http://doi.org/10.33448/rsd-v10i10.19000>
67. I.D. Rafraf, I. Lekunberri, A. Sánchez-Melsió, M. Aouni, C.M. Borrego & J.L. Balcázar. Abundance of antibiotic resistance genes in five municipal wastewater treatment plants in the Monastir Governorate, Tunisia. *Environ. Pollut.*, **219**, 353–358 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.062>
68. S.G. Pereira de Souza, I. Carvalho Dos Santos, M.A. Dorigan-Bondezan, L.F. Melhado-Corsatto, I.C. da Silva-Caetano, M. Marchi-Zaniolo, R. da Matta, L.S. Merlini, L. Nunes-Barbosa & D. Dib-Gonçalves. Bacteria with a potential for multidrug resistance in hospital material. *Microb. Drug Resist.*, **27**(6), 835–842 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0305>

## COMO CITAR ESTE ARTIGO

A.B. de Castro-Costa, K.M. Silva-Herrera, A. Pieve de Castro, L. Naneti-Rosa, L.L. Freitas de Oliveira & M.C. de Paiva. Investigação de Enterobacterales resistentes ao meropenem e produtoras de carbapenemases em uma estação de tratamento de esgoto de Minas Gerais, Brasil. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **54**(2), 364–377 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciq-uifa.v54n2.115810>