



Arraias de água doce (*chondrichthyes* - *potamotrygoninae*) da Amazônia, Brasil: microbiota e resistência antimicrobiana de bactérias

Freshwater stingrays (*chondrichthyes* - *potamotrygoninae*) in the Amazon, Brazil: bacterial microbiota and antimicrobial resistance

Rayas de água doce (*chondrichthyes* - *potamotrygoninae*) da Amazônia, Brasil: microbiota bacteriana e resistência antimicrobiana

Graciene do Socorro Taveira Fernandes¹, Andreza da Silva Peixoto¹, Brayan Almeida Ferreira¹, Gustavo Henrique dos Anjos Rodrigues¹, Rayane Bonfim Ferreira Xavier¹, Mateus de Souza Terceti¹.

RESUMO

Objetivo: Estudar a comunidade e o perfil de resistência antimicrobiana das bactérias isoladas do tecido cutâneo de arraias da subfamília Potamotrygoninae, coletadas nos rios Amazonas e Tapajós. **Métodos:** Após captura de quatro arraias, sendo duas fêmeas e dois machos, em dois locais da Amazônia, com uso de swab embebido em caldo triptona de soja foi coletado material da região dorsal da pele e muco dos animais. O material colhido passou por diluição seriada até 10^{-5} , e os isolados foram identificados bioquimicamente. O método de Kirby-Bauer foi utilizado para o perfil de resistência antimicrobiana para oito antimicrobianos, e os resultados avaliados conforme o BrCAST. **Resultados:** Foram isoladas 76 cepas bacterianas, predominando *Corynebacterium* spp. e *Bacillus* spp., com 61% das cepas resistentes a pelo menos um antibiótico, sendo os mais comuns oxacilina e penicilina. **Conclusão:** O estudo foi o primeiro a isolar bactérias dos gêneros *Corynebacterium* de arraias, com o maior número resistência a oxacilina e penicilina dentro da classe das penicilinas. Sob a ótica da saúde única, o uso de peixes e das águas fluviais para monitorar a disseminação de genes de resistência é interessante, considerando a estreita relação das populações amazônicas com os ecossistemas aquáticos e a saúde desses animais.

Palavras-chave: Arraias de água doce, Microbiota, Resistência antimicrobiana, Potamotrygoninae, Amazônia.

ABSTRACT

Objective: To study the community and the antimicrobial resistance profile of bacteria isolated from the skin tissue of rays from the Potamotrygoninae subfamily, collected from the Amazonas and Tapajós rivers. **Methods:** After capturing four rays, two females and two males, from two locations in the Amazon, a swab soaked in tryptone soy broth was used to collect material from the dorsal region of the skin and mucus of the animals. The collected material underwent serial dilution to 10^{-5} , and the isolates were biochemically identified. The Kirby-Bauer method was used to assess the antimicrobial resistance profile against eight antimicrobials, and the results were evaluated according to BrCAST. **Results:** Seventy-six bacterial strains were isolated, with *Corynebacterium* spp. and *Bacillus* spp. predominating, and 61% of the strains were resistant to at least

¹ Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), Santarém - PA.

one antibiotic, with the most common being oxacillin and penicillin. **Conclusions:** This study was the first to isolate bacteria from the *Corynebacterium* genus in rays, with the highest resistance to oxacillin and penicillin within the penicillin class. From the One Health perspective, the use of fish and freshwater ecosystems to monitor the spread of resistance genes is of interest, considering the close relationship between Amazonian populations and aquatic ecosystems and the health of these animals.

Keywords: Fresh water rays, Microbiota, Antimicrobial resistance, Potamotrygoninae, Amazon.

RESUMEN

Objetivo: Estudiar la comunidad y el perfil de resistencia antimicrobiana de las bacterias aisladas del tejido cutáneo de rayas de la subfamilia Potamotrygoninae, recolectadas en los ríos Amazonas y Tapajós. **Métodos:** Después de la captura de cuatro rayas, dos hembras y dos machos, en dos lugares de la Amazonía, se utilizó un hisopo empapado en caldo de triptona de soja para recolectar material de la región dorsal de la piel y el moco de los animales. El material recolectado pasó por dilución seriada hasta 10^{-5} , y los aislados fueron identificados bioquímicamente. Se utilizó el método de Kirby-Bauer para evaluar el perfil de resistencia antimicrobiana frente a ocho antimicrobianos, y los resultados fueron evaluados según BrCAST. **Resultados:** Se aislaron 76 cepas bacterianas, predominando *Corynebacterium* spp. y *Bacillus* spp., con el 61% de las cepas resistentes a al menos un antibiótico, siendo las más comunes oxacilina y penicilina. **Conclusiones:** Este estudio fue el primero en aislar bacterias del género *Corynebacterium* de las rayas, con el mayor número de resistencias a oxacilina y penicilina dentro de la clase de las penicilinas. Desde la perspectiva de la salud única, el uso de peces y aguas fluviales para monitorear la diseminación de genes de resistencia es interesante, considerando la estrecha relación de las poblaciones amazónicas con los ecosistemas acuáticos y la salud de estos animales.

Palabras clave: Rayas de agua dulce, Microbiota, Resistencia antimicrobiana, Potamotrygoninae, Amazonía.

INTRODUÇÃO

As arraias pertencem à Classe Chondrichthyes (peixes cartilaginosos), e ordem Myliobatiformes, única ordem de arraias marinhas e dulcícolas que apresenta ferrões na cauda. Nessa ordem a família Potamotrygonidae é composta por duas subfamílias Styraurinae e Potamotrygoninae (SILVA JPCB q LOBODA TS, 2019). Na subfamília Potamotrygoninae estão inseridas arraias neotropicais dulcícolas e são reconhecidos quatro gêneros e 42 espécies: Paratrygon, Potamotrygon, Plesiotrygon, Heliotrygon, e o gênero Potamotrygon é o mais diversificado com 33 espécies (FRICKE R, et al., 2023). Na região amazônica se encontra a maior diversidade de espécies de Potamotrygoninae (GOMES MFS, et al., 2024).

Como predadores de topo de cadeia contribuem para equilíbrio e a dinâmica dos ambientes, além de importância no mercado nacional e internacional na aquariofilia estes animais são matéria prima na culinária exótica regional, sendo atrativo turístico em alguns locais na Amazônia (JERIKHO R, et al., 2023). Na Bacia Amazônica, as arraias são encontradas em todos os tipos de rios, onde comumente são encontradas espécies de potamotrygonídeos (FONTENELLE JP, et al., 2022). Potamotrygon motoro, P. orbignyi, P. humerosa, Potamotrygon sp. e Paratrygon aiareba são encontradas, que também podem inserir espécies de Plesiotrygon Heliotrygon. Além das espécies Paratrygon cf. aiareba, Potamotrygon cf. Scobina (CARVALHO MRD, 2016) podendo ainda ocorrer espécies adicionais.

As arraias possuem de um a três ferrões de dentina na base da cauda que são utilizados para defesa (LAMEIRAS JLV, et al., 2013). O ferrão e o dorso são cobertos por uma bainha tegumentar contendo glândulas mucosas e venenosas, com atividade tóxica (Silva F, et al., 2018). O muco presente na pele desses animais é a interface entre o corpo dos peixes e o ambiente aquático, sendo a primeira linha de defesa contra invasões externas, por conter grande número de substâncias tóxicas, bioinibidoras e bioativas, ele atua como barreira física e química contra patógenos e selecionando a comunidade microbiana normal desses animais (LALLES J, 2019). Componentes imunogênicos, enzimas proteolíticas e peptídeos antimicrobianos, presentes no muco do ferrão e da pele das arraias podem aumentar a gravidade das lesões ocasionadas por acidentes com esses animais (CONCEIÇÃO K, et al., 2012).

Os acidentes ocorrem quando o animal se sente ameaçado e aciona o mecanismo reflexo do chicote da cauda introduzindo o ferrão na vítima. Isso causa um ferimento cujo sinais e sintomas incluem dor, inflamação, edema e até necrose do tecido. Além desses sintomas mais comuns, pode ainda ocorrer de forma concomitante febre e raramente óbito do acidentado, esses agravamentos estão associados a infecções bacterianas secundárias e ao estado imunológico do paciente (LAMEIRAS JLV, et al., 2013; SANTOS ELQV, 2022). É sabido que os corpos hídricos são repositórios dos processos e atividades que ocorrem nos solos.

O esgoto produzido pelas cidades da região Norte do Brasil é um problema ambiental preocupante, devido à escassez de tecnologias que atendam ao contexto local e que substituam os lançamentos diretos nas bacias e microbacias, além da falta de rede de coleta e tratamento adequado dos efluentes (UDDIN MG, et al., 2022). Nessas cidades a principal causa de contaminação dos recursos hídricos pelo despejo de resíduos que conferem à água caráter insalubre e aumenta o grau de vulnerabilidade da população (urbana próxima e periurbana), que, dependendo da frequência do contato com a água e os recursos, está sujeita a riscos associados a vários microrganismos patogênicos (MOMBERG DJ, et al., 2022).

Os efluentes urbanos são fontes proeminentes de contaminação, pela vasta gama de microrganismos, incluindo bactérias patogênicas e multirresistentes. O aumento do número de microrganismos resistentes a antibióticos nos efluentes urbanos é uma preocupação crescente, uma vez que estes seres podem chegar nos ambientes naturais, afetando a biodiversidade, a saúde ambiental, animal e humana incluindo-se a transferência de genes de resistência antimicrobiana entre os microrganismos (KANG D, et al., 2024).

A presença de bactérias multirresistentes em efluentes destaca a necessidade urgente de estratégias de monitoramento mais eficazes. Frequentemente a população mundial tem sido acometida com infecções e o combate ao patógeno tem se tornado cada vez mais difícil. Os antimicrobianos são substâncias utilizadas para tratar infecções em humanos e animais, mas também na produção vegetal e na aquicultura, eles são massivamente usados como promotores de crescimento e profilaticamente para compensar má higiene de animais, e com isso tem acelerado e aumentado a presença de novas estirpes de bactérias resistentes a antibióticos (LULIJWA R, et al., 2020), seguindo na contramão do conceito de “onehealth”.

O aumento de cepas bacterianas resistentes a antibióticos e a “crise de saúde” que os acompanha, pode ser atribuída principalmente ao uso excessivo e ao mau uso de antibióticos em todo o mundo. Os antibióticos representam aproximadamente metade dos produtos farmacêuticos e contaminação de produtos de higiene pessoal em ambiente aquático (YANG Y, et al., 2017). É estimado que até 2050 mais pessoas venham a óbito por infecção por bactérias resistentes que aqueles causados por câncer. Muitos são os fatores que levam ao aumento e disseminação de cepas bacterianas resistentes a antimicrobianos, favorecido quando temos falta de saneamento básico das cidades, onde as da região amazônica apresentam índice baixo de adequação (CHANG RYK, et al., 2022)

Santarém figura entre as cidades brasileiras com os piores índices de acesso a sistemas de saneamento básico adequados, incluindo a distribuição de água. Estima-se que apenas 4,14% da população tenha acesso ao serviço de esgotamento sanitário, colocando o município na 98ª posição entre as 100 cidades listadas (<https://tratabrasil.org.br/ranking-do-saneamento-2023/>, acessado em outubro de 2024). A falta de infraestrutura adequada para o tratamento e coleta de esgoto ainda é uma realidade para populações da Amazônia, especialmente nas áreas periféricas das cidades e a situação se agrava em muitos locais, onde a água servida é continuamente lançada nas ruas.

Apesar da grande diversidade de arraias de água doce da subfamília Potamotrygoninae na Amazônia, ainda se sabe muito pouco sobre a microbiota presente no muco dessas espécies aquáticas, especialmente em relação à comunidade bacteriana e à suscetibilidade desses microrganismos aos antimicrobianos. Esse conhecimento é essencial, considerando a importância ecológica desses animais como predadores de topo de cadeia e sua relevância em contextos econômicos e turísticos na região.

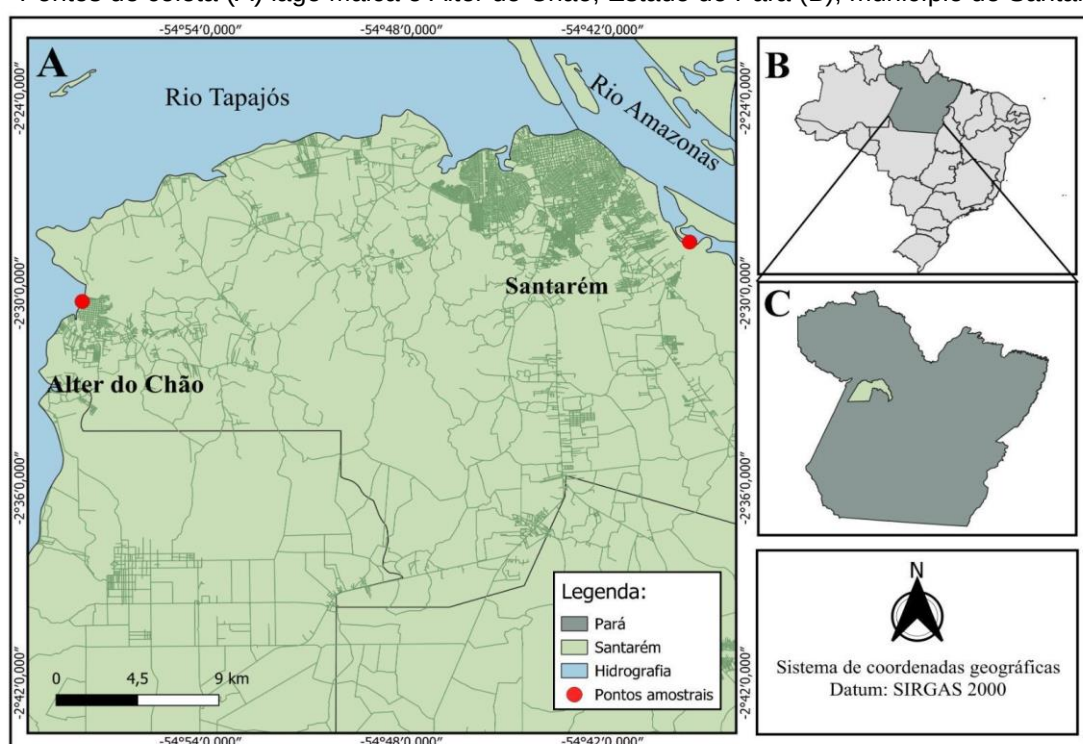
Diante disso, o objetivo deste estudo foi analisar a diversidade bacteriana e o perfil de resistência a antimicrobianos de bactérias cultiváveis isoladas do tecido cutâneo de arraias coletadas em dois rios da Amazônia, na região de Santarém, Pará, além de realizar uma revisão dos relatos de acidentes envolvendo

esses animais. Esse enfoque visa não apenas compreender a dinâmica microbiana associada às arraias, mas também avaliar o impacto da. Este estudo é crucial para preencher a lacuna de conhecimento sobre a microbiota desses animais, contribuindo para uma melhor compreensão dos fatores ambientais e biológicos que influenciam a dinâmica microbiana e a resistência antimicrobiana, além de oferecer subsídios para a gestão da saúde ambiental e a conservação dessas espécies

MÉTODOS

A coleta dos animais foi realizada em dois pontos distintos em setembro de 2022: ponto 1 – lago do Maicá, que recebe águas do rio Amazonas (-2.47°92.52, -54.659708); e ponto 2 – rio Tapajós em Alter do Chão (2°30'18.9"S 54°57'31.3"W), em Santarém, região Oeste do estado do Pará, na Amazônia (**Figura 1**).

Figura 1 - Pontos de coleta (A) lago Maicá e Alter do Chão, Estado do Pará (B), município de Santarém (C).



Fonte: Fernandes GST, et al., 2025.

O ponto 1 trata-se de um lago está inserido em uma região de várzea, composto por áreas periodicamente inundáveis, de dezembro a junho, formado por um sistema de lagos cujas águas são de origem do rio Amazonas com forte influência do rio Tapajós. O ponto 2 possui características típicas da região Amazônica, o distrito de Alter do Chão possui uma diversidade natural onde o destaque é a sua formação geológica típica, as savanas amazônicas, rios, lagos, igarapés e florestas.

O sistema é aberto e interconectado, onde as águas do rio Tapajós inundam a savana e floresta, formando lagos e enseadas. As arraias foram capturadas no crepúsculo por pescadores tradicionais locais utilizando dois métodos de pesca, são eles: utilizando dois métodos de pesca (espinhel de 40 metros (m) de extensão de linha principal e linhas secundárias com anzol na ponta) e linha de mão de monofilamento de 0,26 a 0,30 milímetros (mm) com 300 a 500 m e chumbo para permanência da isca no fundo do rio.

Após captura das arraias e ainda no local, a coleta do material microbiano da pele foi realizada, medidas morfométricas de peso total em quilogramas (kg) e comprimento total do focinho até o final da cauda com ferrão em centímetros (cm) foram obtidas, seguida da identificação sexual. O material microbiano foi colhido utilizando um swabe mbebedor em meio de cultura líquido TrypticSoyBroth (TSB - Kasvi®) desde a região

dorsal, em uma linha reta da cabeça à ponta da cauda incluindo o ferrão, em seguida os animais foram liberados novamente no ambiente. O material então foi imediatamente colocado em um tubo Falcon contendo TSB que foram armazenados e transportados para o Laboratório de Bacteriologia (LaBac) da Universidade Federal do Oeste do Pará (Ufopa) em Santarém.

No LaBac foi realizada a diluição seriada das amostras em 9 mL de solução salina 0,85% estéril até 10^{-5} . Cada diluição foi inoculada pela técnica de spread plate em placas de Petri contendo o meio de cultura Plate Count Agar (PCA - Difco®) em duplicata e incubadas em estufa bacteriológica a $37 \pm 0,2$ °C de 24h-48h. Após o período de cultivo, foi realizada a contagem expressa em UFC/mL e caracterização dos morfotipos coloniais para posterior isolamento. O isolamento das colônias foi realizado de acordo com os morfotipos das colônias e a inoculação ocorreu em meio TrypticSoy Agar (TSA - Kasvi®) à $37 \pm 0,2$ °C por 24h. Posteriormente, foi realizado o teste morfotintorial pela coloração de Gram e a identificação taxonômica bioquímica das cepas foi realizada de acordo com BergeyDHe HoltJG (2000).

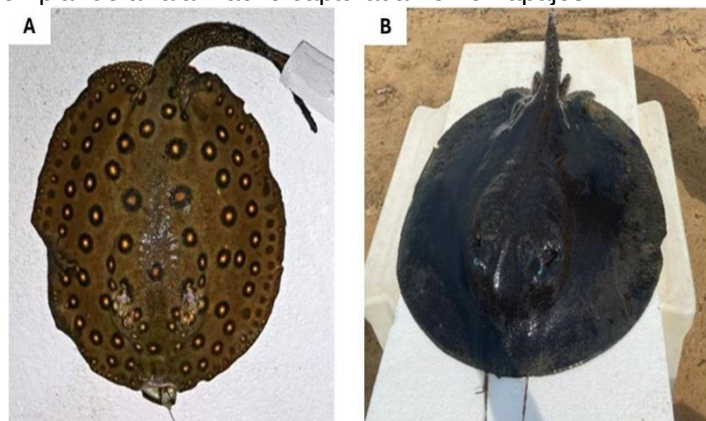
O perfil de resistência a antimicrobianos foi realizado pelo método de Kirby-Bauer (BAUER AW, et al., 1966), utilizando a técnica de difusão em disco. A suspensão bacteriana, ajustada à turbidez 0,5 ($1,5 \times 10^8$ UCF/mL) da escala de McFarland, foi preparada a partir de colônias cultivadas por 24h em TSA a 37 °C. Foram utilizados os seguintes antimicrobianos: Amoxicilina+Ácido Clavulânico – AMC (20/10 µg), Ampicilina – AMP (10 µg), Ciprofloxacina – CIP (5 µg), Eritromicina – ERI (15 µg), Imipenem – IPM (10 µg), Nitrofurantoína – NIT (300 µg), Oxacilina – OXA (1 µg), Penicilina – PEN (G 10 U). Um tapete com swabs estéreis embebidos na suspensão bacteriana, foi feito sobre Ágar Mueller-Hinton (MH-Kasvi®), seguido de incubação a 37°C por 24h. Após o cultivo, os halos de inibição foram medidos em mm com paquímetro digital.

Os diâmetros dos halos foram comparados com padrões do BrCAST (2023), classificando as bactérias como sensíveis (S), sensíveis com aumento de exposição (I) ou resistentes (R). Para comparar a abundância de bactérias resistentes entre os rios Tapajós e Amazonas foi utilizado o teste Mann-Whitney para comparação de amostras independentes. Para comparar os perfis sensível, intermediário e resistente dos rios Amazonas e Tapajós foi utilizado o teste Kruskal-Wallis. Posteriormente, o teste Dunn de comparações múltiplas para dados não paramétricos foi utilizado para verificardiferenças significativas entre as categorias avaliadas. A escolha tanto do teste de Mann-Whitney quanto do teste Kruskal-Wallis foi devido à não adequação dos dados ao pressuposto da normalidade.

RESULTADOS

Foram capturadasquatro arraias pertencentes à classe Chondrichthyes, subfamília Potamotrygoninae. Sendo duas arraias, um macho e uma fêmea em cada rio, Amazonas (Ponto 1) e Tapajós (Ponto 2) (**Figura 2**).

Figura 2 – Exemplares de arraias da subfamília Potamotrygoninae. **A-** Exemplar de arraia fêmea capturada no rio Amazonas; **B-** Exemplar de arraia macho capturada no rio Tapajós.



Fonte: Fernandes GST, et al., 2025.

Os animais apresentaram peso variando entre 5,8 kg para o macho capturado no rio Amazonas e 10,5 kg para o macho capturado no rio Tapajós, e o maior comprimento total entre os animais foi 70 cm (fêmea rio Tapajós) e o menor foi de 38 cm para o macho do rio Amazonas (**Tabela 1**). Segundo Duncan WP, et al. (2010) as fêmeas são maiores e mais pesadas que os machos, e essas características estão relacionada à reprodução destes animais.

Tabela 1 - Medidas morfométricas de peso e comprimento do focinho até o final da cauda com ferrão de arraias da subfamília Potamotrygoninae capturadas nos rios Tapajós e Amazonas

Localização	Sexo	Peso (Kg)	CT (cm)	CD (cm)	CLD (cm)
Rio Amazonas	M	5,8	82	45	38
Rio Amazonas	F	6,2	88	48	40
Rio Tapajós	M	10,5	101	57	63
Rio Tapajós	F	9,2	111	67	70

Nota: CT - Comprimento total com a calda e ferrão; CD - Comprimento Disco; CLD - Comprimento Lateral do Dorso. **Fonte:** Fernandes GST, et al., 2025.

Foram isoladas 76 cepas bacterianas a partir das amostras analisadas, das quais 93% eram representadas por bactérias Gram-positivas. A identificação bioquímica revelou a presença de oito táxons distintos, com um total de 35 cepas isoladas das arraias capturadas no rio Amazonas e 39 isolados dos animais coletados no rio Tapajós (**Tabela 2**).

Tabela 2 – Número de cepas identificadas (N) e frequência de ocorrência (FO%) dos isolados bacterianos da microbiota cutânea de arraias da subfamília Potamotrygoninae, por local.

Táxon	Rio Amazonas				Rio Tapajós				Total (N)
	Macho		Fêmea		Macho		Fêmea		
	N	FO%	N	FO%	N	FO%	N	FO%	
<i>Corynebacterium</i> spp.	8	44	6	35	6	30	6	31	26
<i>Bacillus</i> spp.	2	11	4	23	10	50	3	15	19
<i>Micrococcus</i> spp.	1	5	3	17	1	5	6	31	11
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	11	3	17	2	10	0	0	7
<i>Lactobacillus</i> spp.	2	11	0	0	1	5	0	0	3
<i>Staphylococcus</i> spp.	1	5	1	5	0	0	1	5	3
Enterobacteriaceae	1	5	0	0	0	0	2	10	3
<i>Pseudomonas</i> spp.	1	5	0	0	0	0	1	5	2
Total	18		17		20		19		74

Fonte: Fernandes GST, et al., 2025.

A composição bacteriana em relação ao sexo dos animais dos locais de coleta, em termos de abundância, é possível perceber que *Corynebacterium* spp. provenientes do macho do rio Amazonas, prevaleceu entre os demais táxons identificados. Enquanto no macho do rio Tapajós o gênero *Bacillus* foi o mais frequente. Entre os indivíduos tanto nos machos quanto nas fêmeas, e de modo geral *Corynebacterium* spp. prevaleceu nos animais do Rio Amazonas. O gênero *Corynebacterium* pertence à família das Corynebacteriaceae e à ordem das Mycobacteriales. Consiste atualmente em 141 espécies reconhecidas, *Corynebacterium* é caracterizado por bacilos Gram positivo de formato irregular, não formadores de esporos, aeróbios e imóveis (<https://psn.dsmz.de/genus/corynebacterium>. acessado em 03 de março de 2023).

Espécies deste gênero bacteriano são consideradas habitantes normais da pele e membranas mucosas humanas e animais, e podem ser encontradas em diversos habitats ambientais (por exemplo, água, solo e esgoto) (FUDOU, R. et al., 2002). As espécies de *Corynebacterium* spp. fazem parte da microbiota da pele e mucosa de humanos, e quando isoladas em amostras clínicas são comumente consideradas contaminantes (CAZANAVEC, et al., 2012). No entanto, alguns membros têm sido reconhecidos como patógenos oportunistas, associados a diversas infecções humanas. A mais notável infecção humana é difteria causada por *C. diphtheriae* e em animais a pseudotuberculose em cabras e ovelhas resultado da infecção por *C.*

pseudotuberculosis (DAS S, et al., 2016). Não há relato de isolamento de *Corynebacterium* em muco de animais aquáticos tanto naqueles de sistemas de produção quanto os de ambiente natural, tornando essa pesquisa importante como primeiro registro dessa bactéria presente no muco de arraias da Amazônia.

O segundo gênero mais abundante encontrado neste estudo foi *Bacillus* spp., com 19 cepas identificadas e destas 10 cepas foram isoladas de macho proveniente do rio Tapajós. *Bacillus* spp. são bactérias Gram positivas, em forma de bastonete, móveis (flageladas), aeróbicas ou anaeróbicas facultativas, formadoras de esporos e biofilmes comumente encontradas na natureza, que chamaram a atenção como potenciais probióticos, patenteados na forma de uma ampla gama de suplementos de saúde e aplicadas na área da agricultura (HAQUE MA, et al., 2021).

As bactérias desse gênero têm a capacidade de produzir substâncias antimicrobianas e probióticos e têm sido amplamente utilizados como probióticos em humanos, plantas e produção animal, especialmente *B. toyonensis*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. coagulans*, *B. clausii* e *B. pumilus*. Apesar de demonstrarem potenciais usos e aplicações inclusive inibindo o crescimento de bactérias patogênicas (*E. coli*, *Clostridium*, *Streptococcus* e *Salmonella*), as cepas de *B. cereus* preocupam devido à possibilidade de genes de toxinas e resistência a antimicrobianos (HAQUE MA, et al., 2021).

Possivelmente a presença de *Bacillus* na comunidade bacteriana cultivável das arraias justifique a baixa frequência de bactérias da família Enterobacteriaceae, ainda que os ambientes estejam expostos a contaminação por estes grupos que em geral estão presentes nos efluentes urbanos e que estes são lançados nas bacias da cidade de Santarém, fato evidenciado no ranking de saneamento do ano de 2024, onde Santarém está na 98a. entre as piores cidades (<https://tratabrasil.org.br/ranking-do-saneamento-2023/>, acessado em outubro de 2024).

As espécies de *Micrococcus* pertencem à família Micrococcaceae, são cocos Gram positivos estritamente aeróbicos dispostos em tétrades ou aglomerados irregulares, raramente são móveis e não esporogênicos. Crescem em meios simples e suas colônias são geralmente pigmentadas em tons de amarelo ou vermelho, com temperatura de crescimento de 25 a 37 °C (<https://www.britannica.com/science/Micrococcus> acessado em 02 de novembro de 2024). Recentemente a família Micrococcaceae sofreu reclassificação e do gênero *Micrococcus*, a espécie *Micrococcus luteus* foi a única que se manteve. *M. luteus* é uma bactéria que pode estragar os alimentos e foi encontrada no ar, na água, no solo, em plantas e alimentos frescos ou processados, causando perda da qualidade e segurança.

Geralmente são considerados saprófitos inofensivos amplamente difundidos na natureza, que habitam ou contaminam a pele, mucosa e também orofaringe, no entanto, eles podem ser patógenos oportunistas em certos pacientes imunocomprometidos. Por outro lado, *Micrococcus* spp. tem sido estudados e mostrado potencial em atividades antibacterianas, antifúngicas, citotóxicas, antioxidantes e antiinflamatórias, com a maioria dos isolados de ambientes marinhos (TIZABID e HILLRT, 2023).

As espécies de *Micrococcus* possuem atividades proteolíticas, lipolíticas e esterases, o que as tornam importantes na maturação de diversos queijos, principalmente aqueles de maturação superficial. Por outro lado, humanos infectados com *M. luteus* podem apresentar inflamação tecidual, sepse, choque e outros riscos à saúde. Entre os táxons menos frequentes atenção se dá para *Staphylococcus*, estas bactérias são capazes de produzir a enzima extracelular coagulase, e por isto são classificadas como coagulase positivo e consideradas patogênicas, pois são capazes de produzir toxina estafilocócica (SANTANA EH, et al., 2010). Deste gênero podemos destacar as complicações que bactérias como *Staphylococcus* spp. podem causar em acidentes com arraias, já foi encontrado em lesões infectadas, nos quais a presença desta bactéria está relacionado ao fato de fazer parte da microbiota normal da pele humana (LAMEIRASJLV, et al., 2013).

Entre as espécies deste gênero, *S. aureus* é um dos principais agentes causadores de infecções na pele, o que pode estar também relacionado quando ocorre o processo infeccioso em lesões causadas por arraias. Em relação às arraias seus ferimentos possuem como principal complicação a infecção pois como relatado por Rensch GP e Elston DM (2019), muitas bactérias, entre elas espécies de *Vibrio*, *Aeromonas*, *Mycobacterium* e *Clostridium* que se relaciona com casos graves de tétano após lesões de arraias, pois estas

residem no muco da arraia, no ambiente marinho ou na pele humana que podem ser introduzidas com a lesão. O gênero *Lactobacillus*, são microrganismos Gram positivos, fermentativos, anaeróbios facultativos, e não formadores de esporos (ZHENG J, et al., 2020). Os *Lactobacillus* ocupam habitats ricos em nutrientes associados a alimentos, rações, ambiente incluindo a superfície de plantas, solo, corpo de animais e humano (ZHENG J, et al., 2020). Esses microrganismos auxiliam a manter em equilíbrio a microbiota humana, como o trato gastrointestinal, cavidade oral e o trato vaginal (CHAMBERLAIN M, et al., 2022).

O gênero *Pseudomonas* são bacilos Gram negativos, aeróbicos, não formadores de esporos, pertencentes à família *Pseudomonadaceae*. Estes podem ocorrer em ambientes abióticos e bióticos, como ambientes aquáticos, solo, plantas e animais. Esses microrganismos oportunistas, são responsáveis por ocasionar infecções em distintas partes do corpo humano, bem como pacientes com imunidade comprometida (AZAM MW e KHAN AU, 2019). Domingos MO, et al. (2011) relataram a presença de bactérias Gram negativas no muco de arraias de água doce, como *Pseudomonas* spp., que podem causar infecção secundária grave nas lesões durante o acidente com animal peçonha. *Pseudomonas* spp., e *Staphylococcus* spp., frequentemente são associados a infecções secundárias (LAMEIRAS JLV, et al., 2013). Conforme é observado na **Tabela 2** as bactérias Gram negativas (5/74) isoladas nas amostras não foram expressivas, se contrapondo aos dados encontrados pelos autores acima citados.

Das 64 cepas bacterianas Gram positivas com as quais foram realizadas antibiograma, 61% se mostraram resistentes a pelo menos um dos oito antibióticos testados, destas, 25% demonstraram resistência a quatro antibióticos ao mesmo tempo, dentre os quais Oxacilina (31%) e Penicilina (28%) foram aqueles com maior número de cepas resistentes, seguido de Ampicilina (24%). E 39% das bactérias mostraram-se sensíveis a todos os antibióticos, sendo que nenhuma cepa se mostrou resistente à ciprofloxacina (**Tabela 3**).

Tabela 3 – Perfil fenotípico de resistência antimicrobiana das cepas isoladas da microbiota cutânea de arraias da subfamília Potamotrygoninae.

Resistência a antimicrobianos	Rio Amazonas	Rio Tapajós
AMC + AMP + OXA + PEN	6	3
AMP + ERI + OXA + PEN	2	4
AMP + IPM + OXA + PEN	1	0
AMP + OXA + PEN	5	8
ERI + OXA + PEN	1	0
OXA + PEN	2	2
AMC + OXA	0	1
ERI	1	0
NIT	1	0
OXA	2	0
Sem resistência	9	16
Total por local	30	34

Legenda: AMC – Amoxicilina + Ácido Clavulânico; AMP – Ampicilina; CIP – Ciprofloxacina; ERI – Eritromicina; IPM – Imipenem; NIT – Nitrofurantoína; OXA – Oxacilina; PEN – Penicilina. **Fonte:** Fernandes GST, et al., 2025.

As cepas isoladas dos animais do rio Amazonas apenas o perfil AMC + OXA não mostrou resistência. Já para as do rio Tapajós 4/10 não apresentaram resistência e com maior número de cepas resistentes a AMP + OXA + PEN. A oxacilina, está presente em 9/10 dos perfis de resistência a antimicrobianos encontrados. Esta substância é um antibiótico semi-sintético beta-lactâmico de segunda geração, empregado no tratamento de infecções humanas por bactérias Gram positivas resistentes à penicilina e na prevenção de doenças em animais domésticos.

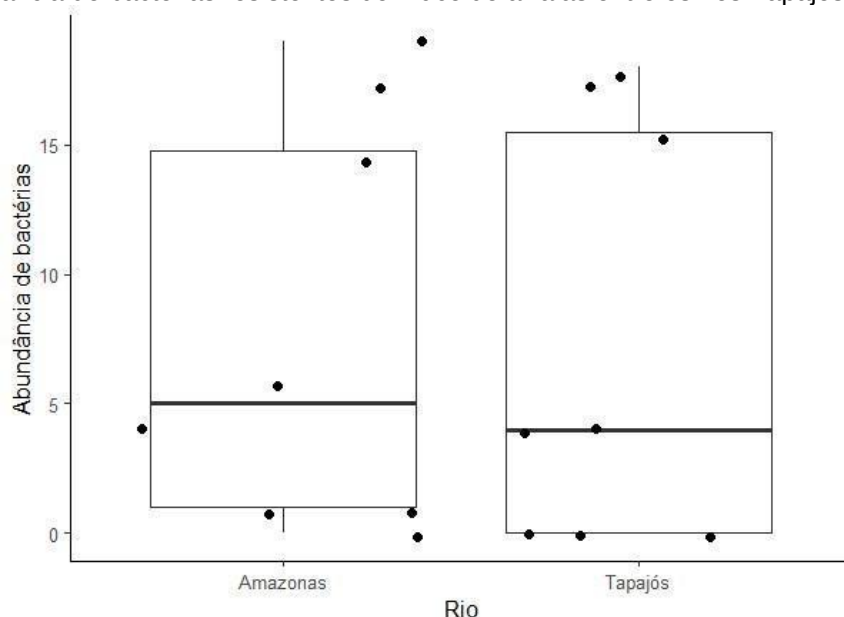
Seu mecanismo de ação envolve ação de proteínas ligadas a penicilina (PBP) que debilitam e alteram a formação da parede celular, inibindo o crescimento celular e promovendo a lise celular (WEINSTEIN RA, 2001). Este fármaco é principalmente utilizado em infecções estafilocócicas, pois a Oxacilina é resistente à beta-lactamase, enzima produzida por cepas de *Staphylococcus*. *Staphylococcus aureus* é uma das principais causas de infecções comunitárias e hospitalares em todo o mundo. Este patógeno foi isolado de águas

superficiais e esgoto e faz parte da lista de bactérias prioritárias para a OMS (MULANI MS, et al., 2019). O grande consumo deste antibiótico e a sua excreção não modificada pela urina ou fezes no esgoto ou na água produz contaminação residual considerável que é responsável por novas estirpes bacterianas mais resistentes e desta forma aumentando a ameaça global de saúde. Em seguida, a Penicilina foi o antibiótico que mais esteve presente entre os perfis de resistência encontrados (6/10) nas cepas das arraias dos rios Amazonas e Tapajós. No muco da pele de mapará (*Hypophthalmus* spp.) da região de Santarém, foi encontrado que a resistência ocorreu em maior percentual para penicilina (FERNANDES GST, et al., 2021).

Este antibiótico foi descoberto no início do século 20 e foi considerada uma das descobertas científicas mais importantes da medicina moderna. O seu uso durante a Segunda Guerra Mundial contribuiu positivamente para o controle de várias infecções bacterianas consideradas letais na época. Inicialmente a Penicilina tinha eficiência nas intervenções terapêuticas médicas para tratar *Staphylococcus aureus*. Posteriormente foram desenvolvidos outros antibióticos que auxiliaram no processo de combate a esses microrganismos, como a oxacilina, uma penicilina semissintética (WEINSTEIN RA, 2001).

Desta forma podemos observar a presença de cepas de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* spp. nas arraias serve de alerta para a disseminação dessas cepas resistentes para o ambiente e para as pessoas. Dos oito antimicrobianos testados, ciprofloxacina foi o único antibiótico em que das 64 cepas testadas, não apresentaram resistência. Ciprofloxacina é da classe das quinolonas, estes. Em uma comparação da abundância de bactérias resistentes isoladas das arraias dos rios Tapajós e Amazonas, não houve diferença significativa $p > 0,05$ entre os dados (**Figura 3**). Entretanto, quando olhamos o número de cepas resistentes é possível notar que houve mais perfil de cepas resistentes das bactérias de arraias do Amazonas, e em relação a cepas sensíveis o maior número ocorreu entre as obtidas das arraias do rio Tapajós.

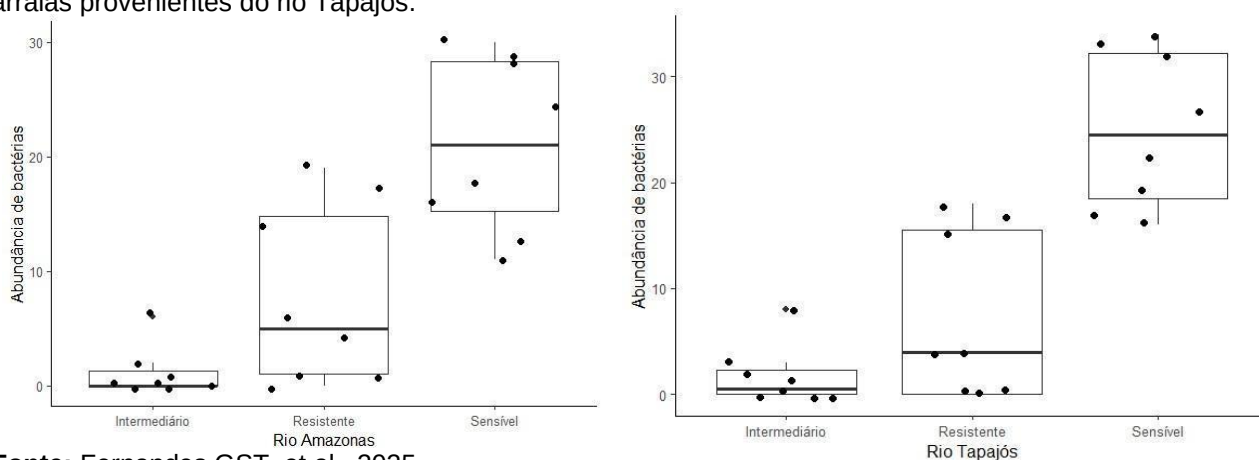
Figura 3 – Abundância de bactérias resistentes do muco de arraias entre os rios Tapajós e Amazonas.



Fonte: Fernandes GST, et al., 2025.

A maior diversidade de perfil de resistência das cepas dos animais do rio Amazonas, pode ter relação com a quantidade de sedimentos e nutrientes nas águas desse rio e maior aporte de esgoto. O rio Amazonas nasce nos Andes e recebe contribuição de diversos outros rios menores, além das inúmeras cidades e comunidades instaladas em suas margens. A comparação entre a abundância de bactérias com perfil sensível, intermediário e resistente para antimicrobianos, das bactérias de arraias do rio Amazonas, apresentou diferença estatística entre o perfil intermediário e sensível $p < 0,05$ (**Figura 4**). Para as bactérias das arraias capturadas no rio Tapajós, houve diferença estatística entre os perfis intermediário e sensível e resistente e sensível $p < 0,05$ (**Figura 4**).

Figura 4 – Abundância de bactérias entre os perfis de resistência antimicrobiana por local. **A-** Perfil de resistência em bactérias de arraias provenientes do rio Amazonas. **B-** Perfil de resistência em bactérias de arraias provenientes do rio Tapajós.



Fonte: Fernandes GST, et al., 2025.

Na região Amazônica, as arraias da família Potamotrygonidae são peixes que frequentemente causam lesões graves em humanos, porém a identificação das espécies ofensivas é incomum, e por conta disto, nem sempre os animais são identificados, quando capturado durante a pesca é comum os pescadores cortarem o ferrão e soltarem o animal no ambiente (SILVA JUNIOR NJ, et al., 2015; ABATI PAM, et al., 2017). São vários os relatos de acidentes envolvendo esses peixes, que não são considerados agressivos, pois reagem ao pisarem no seu dorso ou quando manuseados de forma inadequada (HADDAD JUNIOR V, et al., 2013). As vítimas geralmente se acidentam durante o dia, enquanto nadam ou se movem na água nos bancos de areia, a arraia introduz o ferrão no pé ou no calcanhar da vítima, causando um ferimento extremamente dolorido, que muitas vezes infecciona e leva à necrose do tecido (LAMEIRAS JLV, et al., 2013).

A gravidade do ferimento também se deve a ação mecânica do ferrão, que, além de introduzir o veneno, também facilita o acesso das bactérias presentes no muco e no meio aquático em que o animal vive adentrem no tecido humano, desencadeando uma infecção secundária (DOMINGOS MO, et al., 2011). Os meses de outubro e dezembro, conforme observado na coleta de dados desta pesquisa, foram os meses de maior incidência de acidentes. Os acidentes causados por arraias são mais frequentes em turistas e banhistas na estação seca, principalmente nos meses de julho e agosto com aparecimento das praias (HADDADJUNIOR V, et al., 2012).

Pelos casos notificados foi observado que estes apresentavam como principais manifestações clínicas a dor, o edema, a equimose e a necrose local, isso possivelmente se deu por terem ocorrido próximos a cidade e ao atendimento de saúde. O número de casos para a região é superior aos notificados, especialmente nas comunidades ribeirinhas da região, pois os acidentados destes locais não chegam até os postos de saúde e utilizam de terapias tradicionais. Embora, sempre ocorram acidentes com arraias em comunidades ribeirinhas de águas interiores em virtude da atividade de pesca artesanal, apesar de apresentar alta morbidade, tais lesões são negligenciadas por apresentarem baixa letalidade e geralmente ocorrerem em áreas remotas, o que favorece o uso de remédios populares (HADDAD JUNIOR V, et al., 2013).

Os traumas causados por arraias, causam ferimento por laceração ou perfuração, são dolorosos e geralmente causam danos consideráveis pois os ferrões são retro serrados bilateralmente, provocando traumas nos principais nervos e vasos sanguíneos. O ferimento é agravado também pela ação de substâncias presentes no muco da pele e no epitélio secretor que reveste os ferrões pois estes possuem sulcos com glândulas de veneno ao longo de cada borda (LAMEIRAS JLV, et al., 2013).

Segundo Pedroso CM, et al. (2017) no ferrão de arraias de água doce existe um maior número de células secretoras de proteína, de dois tipos diferentes, tornando os acidentes com estes animais mais graves e com necrose quando comparados com os acidentes ocorridos com arraias marinhas. O muco das arraias marinhas *Dasyatis sephen* e *Himanturagerrardi* possui atividade antimicrobiana contra as bactérias e fungos (VENNILA

R, et al., 2011). *Dasyatis sephen*, pertence à família Dasyatidae, esta família foi a que originou as arraias de água doce (LAMEIRAS JLV, et al., 2013). Além de atividade antimicrobiana, o muco de arraias de água doce do gênero *Potamotrygon* apresenta peptídeos que são capazes de induzir vasoconstrição e inflamação, já relatado para *Potamotrygon* cf. *Henlei* (CONCEIÇÃO K, et al., 2012). Infecções bacterianas secundárias decorrentes de acidentes com arraias envolvem espécies Gram negativas são as mais comuns (SILVA JUNIOR NJ, et al., 2015). Entretanto, os dados encontrados em nossa pesquisa mostram que a maior abundância é de bactérias Gram positivas.

No muco das arraias pode haver cepas bacterianas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter* spp., *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas* spp. e *Staphylococcus* spp. que são agentes associados a infecções secundárias e podem desenvolver resistência bacteriana (CUNHA ILDF, et al., 2021). Nossa pesquisa identificou a presença de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp. e *Pseudomonas* spp. presente no muco de arraias da subfamília Potamotrygoninae capturadas nos rios Tapajós e Amazonas, em Santarém, Pará. É importante destacar que este é um estudo pioneiro com a microbiota cutânea de arraias da subfamília Potamotrygoninae, relacionando a resistência das bactérias isoladas dos animais com o número de casos e sua gravidade.

CONCLUSÃO

Os gêneros *Corynebacterium* e *Bacillus* spp. representam novos registros de bactérias associadas ao tecido cutâneo de arraias da subfamília Potamotrygoninae. Apesar da importância dos rios da Amazônia para as populações locais, observa-se que os casos de acidentes envolvendo esses animais, especialmente os que apresentam complicações, são frequentemente subnotificados. Foi identificada resistência significativa a oxacilina e penicilina, com um número elevado de isolados bacterianos resistentes aos antimicrobianos da classe das penicilinas. Sob a ótica da saúde única, é fundamental compreender a distribuição e a prevalência da resistência antimicrobiana nos ambientes aquáticos, uma vez que a presença desses microrganismos em águas superficiais constitui uma preocupação crescente para a saúde pública. Nesse contexto, o uso dos peixes e das águas fluviais como sentinelas para monitorar a disseminação de genes de resistência é essencial, considerando a estreita relação das populações amazônicas com os ecossistemas aquáticos e a saúde desses animais.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Bacteriologia (LABAC) e a Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), pelo suporte para a execução das análises.

REFERÊNCIAS

1. ABATI PAM, et al. Injuries caused by freshwater stingrays in the Tapajós River Basin: a clinical and sociodemographic study. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2017; 50(03): 374-378.
2. AZAM MW e KHAN AU. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. *Drug Discovery Today*, 2019; 24(1): 350-359.
3. BAUER AW e KIRBY WM, et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 45, p. 149-158, 1966. Disponível em: <https://academic.oup.com/ajcp/article-abstract/45/4_ts/493/4821085?login=false>. Acesso em 03 de março de 2024.
4. BERGEY DH e HOLT JG. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 2000.
5. CARVALHO MRD. Description of two extraordinary new species of freshwater stingrays of the genus *Potamotrygon* endemic to the Rio Tapajós basin, Brazil (Chondrichthyes: Potamotrygonidae), with notes on other Tapajós stingrays. *Zootaxa*, 2016; 4167 (1): 1-63.
6. CAZANAVE C, et al. *Corynebacterium* prosthetic joint infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012; 50 (5): 1518-1523.

7. CHAMBERLAIN M, et al. Metabolomic Analysis of *Lactobacillus acidophilus*, *L. gasseri*, *L. crispatus*, and *Lactocaseibacillus rhamnosus* Strains in the Presence of Pomegranate Extract. *Frontiers in Microbiology*, 2022; 13: 863228.
8. CHANG RYK e NANG SC, et al. Novel antimicrobial agents for combating antibiotic-resistant bacteria. *Advance Drug Delivery Reviews*, 2022; 187: 114378.
9. CONCEIÇÃO K, et al. *Potamotrygon* cf. *henleisti* graymucus: biochemical features of a novel antimicrobial protein. *Toxicon*, 2012; 60(5): 821-829.
10. CUNHA ILFD, et al. Perfil clínico e sociodemográfico de pacientes acometidos por ferroadas de arraías e terapêuticas aplicadas. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 2021; 12.
11. DAS S, et al. *Corynebacterium* spp. as causative agents of microbial keratitis. *British Journal of Ophthalmology*, 2016; 100(7): 939-943.
12. DOMINGOS MO, et al. The influence of environmental bacteria in freshwater stingray wound-healing. *Toxicon*, 2011; 58(2): 147-153.
13. DUNCAN WP, et al. Comércio de raias de água doce na Região do Médio Rio Negro, estado do Amazonas, Brasil. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, 2010; 5(2): XIII-XXII.
14. FERNANDES GST, et al. Antibiotic resistance in the superficial mucosa microbiota in an Amazonian fish, mapará (*Hypophthalmus* spp.). *Brazilian Journal of Development*, 2021; 7(1): 10178-10195.
15. FONTENELLE JP, et al. Molecular phylogeny for the neotropical freshwater stingrays (Myliobatiformes: Potamotrygoninae) reveals limitations of traditional taxonomy. *Biological Journal of Linnean Society*. 2021; 134(2): 381-401.
16. FRICKE R, et al. Eschmeyer's catalog of fishes: Genera, species, references. 2023. Disponível em: <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>. Acessado em: 10 novembro de 2024.
17. FUDOU R, et al. *Corynebacterium efficiens* sp. nov., a glutamic-acid-producing species from soil and vegetable. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2002; 52(4): 1127-1131.
18. GOMES MFS, et al. Occurrence of four freshwater stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygoninae) in the Uatumã River Basin, Amazon region: a field study. *Fishes*, 2024; 9(5): 186.
19. HADDAD JUNIOR V, et al. Injuries by marine and freshwater stingrays: history, clinical aspects of the envenomations and current status of a neglected problem in Brazil. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 2013; 19(00): 1-11.
20. HADDAD JUNIOR V, et al. Traumas e envenenamentos por arraías e outros peixes em comunidade pesqueira do Pontal do Paranapanema, estado de São Paulo, Brasil: epidemiologia, aspectos clínicos, medidas terapêuticas e preventivas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2012; 45(2): 238-242.
21. HAQUE MA, et al. Pathogenicity of feed-borne *Bacillus cereus* and its implication on food safety. *Agrobiological records*, 2021; 3: 1-16.
22. JERIKHO R, et al. Foreign stingers: South American freshwater river stingrays *Potamotrygon* spp. established in Indonesia. *Scientific Reports*, 2023; 13(1): 7255.
23. KANG D, et al. Profiling emerging micropollutants in urban stormwater runoff using suspect and non-target screening via high-resolution mass spectrometry. *Chemosphere*, 2024; 352: 141402.
24. LALLÈS J. Biology, environmental and nutritional modulation of skin mucus alkaline phosphatase in fish: A review. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019; 89: 179-186.
25. LAMEIRAS JLV, et al. Arraías de água doce (Chondrichthyes-Potamotrygonidae): biologia, veneno e acidentes. *Scientia Amazonia*, 2013; 2(3): 11-27.
26. LULIJWA R, et al. Antibiotic use in aquaculture, policies and regulation, health and environmental risks: a review of the top 15 major producers. *Reviews in Aquaculture*, 2020; 12(2): 640-663.
27. MOMBERG DJ, et al. Rethinking water, sanitation, and hygiene for human growth and development. *Global public health*, 2022; 17(12): 3815-3824.
28. MULANI MS, et al. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 539.
29. PEDROSO CM, et al. Morphological characterization of the venom secretory epidermal cells in the stinger of marine and freshwater stingrays. *Toxicon*, 2017; 50(5): 688-97.
30. RENSCH GP e ELSTON DM. Aquatic antagonists: stingray injury update. *Cutis*, 2019; 103(3): 138-140.
31. SANTANA EHW, et al. Estafilococos em alimentos. *Arquivos do Instituto Biológico*, 2010; 77(3): 545-554.
32. SANTOS ELQV. A Pesca Comercial de Raias para Consumo Alimentar no Eixo Fluvial Solimões-Amazonas; Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros; Universidade Federal do Amazonas: Manaus, Brazil, 2022; 47.
33. SILVA F, et al. Transcriptomic Characterization of the South American Freshwater Stingray *Potamotrygon motoro* Venom Apparatus. *Toxins*, 2018; 10(12): 544.

34. SILVA JPCB e LOBODA TS. *Potamotrygon marquesi*, a new species of neotropical freshwater stingray (Potamotrygonidae) from the Brazilian Amazon Basin. *Journal of Fish Biology*, 2019; 95(2): 594–612.
35. SILVA JUNIOR NJ, et al. A severe accident caused by an ocellate river stingray (*Potamotrygon motoro*) in Central Brazil: how well do we really understand stingray venom chemistry, envenomation, and therapeutics? *Toxins*, 2015; 7(6): 2272-2288.
36. TIZABI D e HILL RT. *Micrococcus* spp. as a promising source for drug discovery: A review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2023; 50(1): 17.
37. UDDIN MG, et al. A comprehensive method for improvement of water quality index (WQI) models for coastal water quality assessment. *Water Research*, 2022; 219: 118532.
38. VENNILA R, et al. Preliminary investigation on antimicrobial and proteolytic property of the epidermal mucus secretion of marine stingrays. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2011; 1(2): 239- 243.
39. WEINSTEIN RA. Controlling antimicrobial resistance in hospitals: infection control and use of antibiotics. *Emerging Infectious Diseases*, 2001; 7(2): 1888-92.
40. YANG Y, et al. Occurrences and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in drinking water and water/sewage treatment plants: A review. *Science of the Total Environment*, 2017; 596: 303-320.
41. ZHENG J, et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2020; 70(4): 2782-2858.