

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Instituto de Ciências Biológicas**

**Programa de Pós-Graduação em Microbiologia**

Letícia Faria Noronha

**DINÂMICA DA RESISTÊNCIA BACTERIANA A FÁRMACOS ANTIMICROBIANOS  
BETA-LACTÂMICOS E VANCOMICINA EM EFLUENTES DOMÉSTICOS E ÁGUA  
DE RIO**

Belo Horizonte

2023

Letícia Faria Noronha

**DINÂMICA DA RESISTÊNCIA BACTERIANA A FÁRMACOS ANTIMICROBIANOS  
BETA-LACTÂMICOS E VANCOMICINA EM EFLUENTES DOMÉSTICOS E ÁGUA  
DE RIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientadora: Profa. Dra. Vera Lucia dos Santos

Belo Horizonte

2023

043

Noronha, Letícia Faria.

Dinâmica da resistência bacteriana a fármacos antimicrobianos beta-lactâmicos e vancomicina em efluentes domésticos e água de rio [manuscrito] / Letícia Faria Noronha. – 2023.

99 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Vera Lucia dos Santos.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia.

1. Microbiologia. 2. Antimicrobianos. 3. Resistência Microbiana a Medicamentos. 4. Colimetria. I. Santos, Vera Lucia dos. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 579



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA

### ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE **LETÍCIA FARIA NORONHA**

Nº REGISTRO: 2021661606

Às 14:00 horas do dia 19 de maio de 2023, reuniu-se por via remota, a Comissão Examinadora composta pela Dr. Magna Cristina de Paiva (Universidade Federal de São João Del Rei), Profa. Dra. Sílvia Helena Sousa Pietra Pedroso (Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG) e a Profa. Dra. Vera Lúcia dos Santos (Orientadora), para julgar o trabalho final **“Dinâmica da resistência bacteriana a fármacos antimicrobianos beta-lactâmicos e vancomicina em efluentes domésticos e água de rio”**, da aluna **Letícia Faria Noronha**, requisito final para a obtenção do Grau de **MESTRA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA**. Abrindo a sessão, a Presidente da Comissão, Profa. Dra. Vera Lúcia dos Santos - orientadora, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra à candidata, para a apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos Examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença da candidata e do público, para julgamento e expedição de resultado final. A candidata foi considerada APROVADA. O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pela Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, a Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. A candidata tem 60 (sessenta) dias, a partir desta data, para entregar a versão final da dissertação ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia da UFMG e requerer seu diploma.

Belo Horizonte, 19 de maio de 2023

Membros da banca:

Profa. Dra. Magna Cristina de Paiva

Profa. Dra. Sílvia Helena Sousa Pietra Pedroso

De acordo:

Profa. Dra. Vera Lúcia dos Santos

(Orientadora)

Profa. Dra. Daniele da Glória de Souza

(Coordenadora do Programa de Pós-graduação)

em Microbiologia)



Documento assinado eletronicamente por **Magna Cristina de Paiva, Usuário Externo**, em 28/06/2023, às 15:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Silvia Helena Sousa Pietra Pedroso, Professora Magistério Superior-Substituta**, em 30/06/2023, às 12:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Vera Lucia dos Santos, Servidor(a)**, em 04/07/2023, às 19:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2289849** e o código CRC **6F84690A**.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço inicialmente a Deus por encaminhar que tudo isso pudesse acontecer, à minha família pelo apoio mesmo que distante.

Agradeço à minha equipe Bárbara Boni e Letícia Lima que foram imprescindíveis para a realização de todos os experimentos, pelos momentos de descontração e pela amizade. Obrigada Jéssica e João Ricardo por ajudarem com tanta boa vontade.

Agradeço aos professores Dr. Luís Macedo e Dra. Paula Prazeres do Laboratório de Microbiologia Oral de Anaeróbios (MOA) pela confiança, pela colaboração e apoio, por permitirem utilizar a estrutura do laboratório.

Agradeço à professora Dra. Miriam Amaral do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA) e a aluna Mariana pelo auxílio nas análises físico-químicas e pela disponibilização da estrutura do laboratório.

Agradeço ao professor Dr. Thiago de Alencar do laboratório de Físico-Química do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA) pela disponibilização da estrutura e equipamentos para a realização das análises.

Agradeço toda a equipe do Laboratório de Microbiologia Aplicada (LMA) em especial a minha orientadora Dra. Vera Lúcia pela confiança, apoio e carinho de sempre.

Agradeço às empresas de fomento à pesquisa Capes, CNPQ, Fapemig pelo apoio financeiro.

Agradeço à ETE Onça e COPASA por permitirem que esta pesquisa fosse realizada.

Agradeço Jamil, Alessandro, José Hélio, Elen, Matheus, Denis, Yasmim e Mayanne.

## RESUMO

O uso intensivo e irracional de antimicrobianos na saúde humana, animal, na agricultura e a presença destas substâncias nos efluentes domésticos, hospitalares e industriais, levaram a um cenário em que bactérias se tornaram resistentes pelo frequente contato com baixas concentrações destes antimicrobianos. Com isso, as bactérias lançam mão de mecanismos de resistência a estes agentes, podendo também disseminar resistência a antimicrobianos pelos ambientes. Assim, as Estações de Tratamento de Efluentes (ETE) podem ser consideradas *hot-spots* de transferência de genes de resistência a antimicrobianos (GRA) entre bactérias resistentes a antimicrobianos (BRA). Para este propósito, este estudo foi conduzido em uma ETE e no corpo receptor do efluente localizados no município de Belo Horizonte – MG. As análises objetivaram avaliar a dinâmica da resistência bacteriana a fármacos antimicrobianos em efluentes domésticos. As amostragens foram realizadas quinzenalmente, de Agosto a Dezembro de 2022, em que amostras de Efluente Bruto, Efluente de UASB, Efluente Tratado, água do Rio a Montante e do Rio a Jusante do local de deposição do efluente foram coletadas. Estas amostras foram semeadas em PCA para avaliação da densidade de BHT; em Ágar Hicrome ESBL, Hicrome KPC, Hicrome MRSA, Hicrome VRE para a avaliação da densidade de BRA; e em Ágar Cromoclin US para a obtenção de isolados pertencentes ao grupo ESKAPEE, que foram testados quanto a suscetibilidade a diversos antimicrobianos recomendados pelo BrCast. Pôde-se observar que a ETE reduziu a carga microbiana após o tratamento e que a deposição do efluente tratado no corpo receptor aumentou a densidade de bactérias do rio a jusante em relação ao rio a montante. Em geral, a remoção de BHT pela ETE foi de 0,42 log UFC/mL e de BRA foi 0,48 log UFC/mL. A deposição de efluente tratado no corpo receptor aumentou em 0,66 log a densidade de BHT e 0,32 log UFC/mL de BRA do rio. De todos os isolados estudados, 19,5% faziam parte do grupo ESKAPEE e apresentaram resistência a poucos antimicrobianos, sendo que somente dois isolados foram classificados como multirresistentes. Os resultados mostram que mesmo diminuindo a carga orgânica de poluentes, ainda são liberadas grandes densidades de bactérias para o ambiente aquático, reafirmando que as ETE podem contribuir com a disseminação de resistência a antimicrobianos para o ecossistema.

Palavras-chave: Efluentes domésticos; Bactérias resistentes a antimicrobianos, Resistência microbiana

### **ABSTRACT**

The intensive and irrational use of antimicrobials in human, animal and agricultural health and the presence of these substances in domestic, hospital and industrial effluents, led to a scenario in which bacteria became resistant due to frequent contact with low concentrations of these antimicrobials. As a result, bacteria make use of mechanisms of resistance to these agents, and may also disseminate resistance to antimicrobials in environments. Thus, Wastewater Treatment Plant (WWTP) can be considered antimicrobial resistance gene transfer (GRA) hot-spots from antimicrobial resistant bacteria (ARB). For this purpose, this study was conducted in an WWTP and in the receiving body of the effluent located in the city of Belo Horizonte - MG. The analyzes aimed to evaluate the dynamics of bacterial resistance to antimicrobial drugs in domestic effluents. Samplings were carried out fortnightly, from August to December 2022, in which samples of Raw Effluent, UASB, Treated Effluent, water from the River upstream and from the River downstream of the effluent deposition site were collected. These samples were seeded in PCA for evaluation of THB density; in Hicrome ESBL Agar, Hicrome KPC, Hicrome MRSA, Hicrome VRE for the evaluation of ARB density; and on Cromoclin US Agar to obtain isolates belonging to the ESKAPEE group, which were tested for susceptibility to several antimicrobials recommended by BrCast. It was possible to observe that the WWTP reduced the microbial load after treatment and that the deposition of the treated effluent in the receiving body increased the density of bacteria in the downstream river in relation to the upstream river. Overall, WWTP removal of THB was 0.42 log CFU/mL and ARB was 0.48 log CFU/mL. The deposition of treated effluent in the receiving body increased the THB density by 0.66 log and 0.32 log CFU/mL of ARB in the river. Of all the isolates studied, 19.5% were part of the ESKAPEE group and showed resistance to a few antimicrobials, with only two isolates being classified as multiresistant. The results show that even reducing the organic load of pollutants, large densities of bacteria are still released into the aquatic environment, reaffirming that WWTP can contribute to the spread of resistance to antimicrobials in the ecosystem.

Keywords: Domestic effluents; Antimicrobial resistant bacteria, Microbial resistance

## **LISTA DE FIGURAS:**

**Figura 1** – Bacia Hidrográfica do Rio das Velhas, localizada na Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco, em Minas Gerais.

**Figura 2** - Estação de Tratamento de Esgoto do Ribeirão Onça vista de cima e pontos de amostragem.

**Figura 3** - Valores de (a) pH; (b) condutividade; (c) Sólidos Suspensos Totais (SST), (d) Oxigênio Dissolvido (OD); (e) Demanda Química de Oxigênio (DQO); (f) Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO).

**Figura 4.** Análise de Componente Principal dos fatores físico químicos das amostras coletadas.

**Figura 5:** (a) Distribuição temporal de BHT nas amostras coletadas ao longo da ETE e no rio que recebe o efluente doméstico tratado entre os meses de Agosto a Dezembro de 2022. (b) Eficiência relativa de remoção de BHT pela ETE. (c) Eficiência de remoção de BHT pela ETE em log. (d) Acréscimo de BHT após a deposição de ET no corpo receptor em %. (e) Acréscimo de BHT após a deposição de ET no corpo receptor em log.

**Figura 6:** Densidade de BRA no Efluente Bruto.

**Figura 7:** Densidade de BRA no UASB.

**Figura 8:** Densidade de BRA no Efluente Tratado.

**Figura 9:** (a) Densidade de BRA no Rio a Montante do local de deposição de efluente tratado. (b) Densidade de BRA no Rio a Jusante do local de deposição de efluente tratado.

**Figura 10-** Boxplot com as densidades de bactérias resistentes aos antimicrobianos, nos diferentes pontos de coleta.

**Figura 11:** (a) Média de eficiência de remoção de BRA da ETE em %. (b) Média de eficiência de remoção de BRA da ETE em Log.

**Figura 12:** (a) Média da influência da deposição de BRA do efluente tratado no RJ em relação ao RM em %. (b) Média da influência da deposição de BRA do efluente tratado no RJ em relação ao RM em Log.

**Figura 13-** Heatmap das densidades de diferentes grupos de bactérias resistentes a antimicrobianos presentes nos diferentes pontos e épocas do estudo avaliadas por meio do crescimento em meios seletivos/indicadores.

**Figura 14:** Porcentagem de gêneros e espécies identificados, isolados do Efluente Tratado.

**Figura 15:** Perfil de suscetibilidade a antimicrobianos dos isolados de efluente bruto, segundo o BrCast. (a) Suscetibilidade de *Enterococcus* spp. segundo o BrCast. (b) Suscetibilidade de *P. aeruginosa* segundo o BrCast. (c) Suscetibilidade de *Enterobacter* spp. segundo o BrCast. (d) Suscetibilidade de *E. coli* segundo o BrCast. (e) Suscetibilidade de *K. pneumoniae* segundo o BrCast.

## **LISTA DE TABELAS**

**Tabela 1:** Datas de cada coleta com as informações de clima e observações relativas a cada amostragem

**Tabela 2:** Porcentagem de gêneros e espécies identificados, isolados do Efluente Tratado.

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS:

**A/S** = *Acinetobacter* spp. e *Salmonella* spp.

**ACP** = Análise de Componente Principal

**AMC** = Amoxicilina+Clavulanato

**AMI** = Amicacina

**AMP** = Ampicilina

**ATM** = Aztreonam

**BHT** = Bactérias Heterotróficas Totais

**BRA** = Bactéria Resistente a Antimicrobianos

**BrCAST** = Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

**CAZ** = Ceftazidima

**CIM** = Concentração Inibitória Mínima

**CIP** = Ciprofloxacino;

**COL** = Colistina

**CP** = Componente Principal

**CPM** = Cefepime

**DBO** = Demanda Bioquímica de Oxigênio

**DQO** = Demanda Química de Oxigênio

**EB** = Efluente Bruto

**Ec** = *E. coli*

**EPC** = *Enterobacterales* produtoras de carbapenemases

**ERI** = Eritromicina

**ERT** = Ertapenem

**ESBL** = Beta-Lactamases de Espectro Estendido

**ET** = Efluente Tratado

**ETE** = Estação de Tratamento de Efluente

**FAM** = Fármacos Antimicrobianos

**GEN** = Gentamicina

**GRA** = Gene de Resistência à Antimicrobianos

**HCCA** =  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinâmico

**IMP** = Imipenem

**IRAS** = Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde

**KESC** = *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp.

**KPC** = Carbapenemases  
**LNZ** = Linezolida  
**MER** = Meropenem  
**MRSA** = *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina  
**NOR** = Norfloxacino  
**OD** = Oxigênio Dissolvido  
**OMS** = Organização Mundial de Saúde  
**PCA** = Ágar de Contagem em Placa  
**PBP** = Proteínas de Ligação a Penicilinas  
**PIB** = Produto Interno Bruto  
**PPM** = *Proteus* spp., *Providencia* spp. e *Morganella* spp.  
**PPT** = Piperacilina+Tazobactam  
**RAM** = Resistência a Antimicrobianos  
**SCNRM** = *Staphylococcus coagulase negativa* resistente à metilina  
**SUT** = Sulfametoxazol+Trimetoprim  
**N<sub>2</sub>** = Nitrogênio gasoso  
**NH<sub>3</sub>** = Amônia  
**NH<sub>4</sub>** = Amônio  
**NO<sub>2</sub>** = Nitrito  
**NO<sub>3</sub>** = Nitrato  
**POA** = Processos de Oxidação Avançados  
**RJ** = Rio a Jusante  
**RM** = Rio a Montante  
**SST** = Sólidos Suspensos Totais  
**TEC** = Teicoplanina  
**THG** = Transferência Horizontal de Genes  
**TSA** = Ágar Triptona de Soja  
**UASB** = Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente  
**UFC** = Unidade Formadora de Colônia  
**UFMG** = Universidade Federal de Minas Gerais  
**UTE** = Unidade Territorial Estratégica  
**UV** = Ultravioleta  
**VAN** = Vancomicina  
**VRE** = *Enterococcus* Resistente à Vancomicina

## Sumário

<b>RESUMO .....</b>	<b>6</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>7</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
1.1. ABASTECIMENTO DE ÁGUA E SANEAMENTO .....	16
1.2. ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTOS .....	18
1.3. DINÂMICA DA DISSEMINAÇÃO DE FÁRMACOS ANTIMICROBIANOS E BRA NO AMBIENTE VIA EFLUENTES .....	23
1.3.1. Disseminação de fármacos para o ambiente .....	23
1.3.2. Disseminação ambiental de BRA através de efluentes.....	24
1.3.3. Bactérias de importância clínica. ....	28
<b>2. JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>32</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>34</b>
3.1. OBJETIVO GERAL.....	34
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	34
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>35</b>
4.1. LOCAL DE ESTUDO .....	35
4.2. CARACTERIZAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DAS AMOSTRAS DE ESGOTO.....	37
4.3. CARACTERIZAÇÃO DE PARÂMETROS BIOLÓGICOS NAS AMOSTRAS EM ESTUDO.....	37
4.3.1. Avaliação da densidade de bactérias heterotróficas totais nas amostras.....	37
4.3.2. Avaliação da densidade de bactérias resistentes a fármacos antimicrobianos	38
4.3.3. Avaliação da densidade e identificação de bactérias do grupo ESKAPEE.....	39
4.4. CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DAS ESKAPEE QUANTO AOS PERFIS DE SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS.....	40
4.4.1. Teste de suscetibilidade a antimicrobianos por disco difusão (Kirby-Bauer)...	40
4.4.2. Determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM) por microdiluição em caldo.	41
4. 5. ANÁLISE DE DADOS .....	42
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>43</b>
5.1. PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS.....	43
5.2. CARACTERIZAÇÃO DE PARÂMETROS BIOLÓGICOS NAS AMOSTRAS EM ESTUDO.....	48
5.2.1. Densidade de bactérias heterotróficas totais. ....	49
5.2.2. Densidade de Bactérias Resistentes a Antimicrobianos (BRA).....	51
5.2.3. Isolamento de bactérias do grupo ESKAPEE. ....	62

5.2.4. Avaliação da resistência a antimicrobianos das bactérias ESKAPEE isoladas de ET. 63

<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>66</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>77</b>
<b>8. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>78</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. ABASTECIMENTO DE ÁGUA E SANEAMENTO

A água é um elemento essencial para a vida no planeta. O homem carece de água para sobrevivência, portanto necessita deste recurso com boa qualidade e quantidade, a fim de satisfazer suas necessidades de nutrição, higiene, proteção da saúde e para seu desenvolvimento de forma geral (FUNASA, 2019). Por isso, ela é considerada um patrimônio comum da humanidade e um bem de interesse coletivo que deve ser protegido pelo poder público, sociedade e pelo cidadão. Para atingir essa meta, o governo deve investir no abastecimento de água de qualidade para a população como ação de saúde pública, além de implementar sistemas de captação e destinação correta de esgotos domésticos, hospitalares e industriais (FUNASA, 2019).

Conforme a Lei de Saneamento nº 9.984, de 17 de Julho de 2000, o saneamento básico é o conjunto de serviços públicos, infraestruturas e instalações operacionais de abastecimento de água potável, esgotamento sanitário, limpeza urbana e manejo de resíduos sólidos, drenagem e manejo das águas pluviais urbanas, compreendendo desde a manutenção até monitoramento destes sistemas (BRASIL, 2000). No Brasil, no ano de 2021, 5312 municípios brasileiros (95,4%) foram atendidos com abastecimento de água e 2787 municípios (50,05%) atendidos com esgotamento sanitário. Nestes municípios, a população urbana soma 210,4 milhões de habitantes (98,6%) que possuem abastecimento de água e 202,8 milhões de pessoas (95,1%) com esgotamento sanitário público (SNIS, 2023). Já a população que é atendida com serviços de redes de esgotos públicas abrangem 117,3 milhões de habitantes (55,8%), em que o Sudeste aparece com a maior cobertura com 81,7% de abrangência e a região Norte aparece como a mais carente em serviços de esgotamento sanitário, com valores de 14,0% (SNIS, 2022).

No Brasil, do total de esgotos gerados, 51,2% são tratados. Dos esgotos gerados que são coletados, 80,8% são tratados. Nas macrorregiões, o menor índice é registrado no Sudeste, com 77,4% e o maior no Centro-Oeste, com 94,8%. Minas Gerais, sendo o segundo estado mais populoso do país, aparece com a maior parcela da população atendida com coleta de esgoto, cerca de 83%. Minas Gerais aparece com 44,1% de tratamento dos esgotos gerados e 57,9% de tratamento de

esgotos coletados (SNIS, 2022). Merece destaque o município de Belo Horizonte – MG, que possui 95% da população atendida com abastecimento de água tratada, 93,89% do esgoto é coletado e deste total, 97,68% é tratado (ABES, 2021).

A estimativa de investimentos para universalizar os serviços de esgotamento sanitário no Brasil até o ano de 2035 é de R\$149,5 bilhões, sendo as regiões nordeste e sudeste as com maior demanda, considerando os baixos níveis de cobertura e grande número de aglomerados urbanos densamente habitados (ANA, 2017).

O aumento da população e o avanço tecnológico impactam diretamente no aumento do consumo de água e no volume de esgoto produzido. Com isso, há a necessidade de criar soluções para essa água residuária, em que há a incorporação de substâncias químicas recalcitrantes, microrganismos e matéria orgânica, para que não sejam descartadas no ambiente e levem a uma série de prejuízos à natureza (SNIS, 2019). O lançamento destes efluentes diretamente nos corpos hídricos é um fator que contribui para a disseminação de microrganismos patogênicos e ao comprometimento da qualidade da água de forma geral (SANTOS, 2014).

Para Mota (2008), as medidas cruciais para controlar a poluição da água são: definir exigências para o lançamento de efluentes nos córregos e rios, implantar sistemas de coleta e tratamento de esgoto e resíduos sólidos, reutilização de água, controlar o uso de fertilizantes químicos e defensivos agrícolas e regular o uso do solo. O déficit de coleta e tratamento de esgotos é responsável por quantidades importantes de poluição chegando aos corpos d'água, impactando negativamente na qualidade hídrica e na sua possibilidade de uso (ANA, 2017).

A crescente procura por novas fontes de água, para uso humano e industrial, demanda a busca de processos que reduzam a poluição dos recursos hídricos, garantindo a qualidade das águas de abastecimento, sustentabilidade ambiental e desenvolvimento socioeconômico (BILOTTA, DANIEL, 2012). Para a seleção dos processos de tratamento de esgotos, devem ser consideradas as características do corpo receptor (capacidade de depuração natural), legislação vigente, exigências ambientais, saúde pública, aspectos econômicos, sociais e regionais, viabilidade técnica e disponibilidade de área para funcionamento, até mesmo variáveis jurídicas e administrativas (ANA, 2017).

O lançamento da água residuária em corpos hídricos sem tratamento efetivo pode ser um fator de disseminação de microrganismos potencialmente patogênicos e/ou resistentes a agentes antimicrobianos. A presença de tais organismos na água tratada representa um risco relevante ao meio ambiente e à saúde da população (FERREIRA, 2015). Com a ampliação do implemento de Estações de Tratamento de Efluentes (ETE) nas infraestruturas urbanas no último século, houve uma acentuada diminuição nos surtos de doenças de veiculação hídrica, que conseqüentemente elevou a qualidade da saúde pública (HONG *et al.*, 2018).

## 1.2. ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTOS

De acordo com Jordão e Pessoa (2011), o termo esgoto é usado para caracterizar os dejetos provenientes das diversas modalidades do uso e da origem das águas, tais como uso doméstico, comercial, industrial, as de utilidades públicas, de áreas agrícolas, de superfície, de infiltração, pluviais e outros efluentes sanitários. Para Metcalf e Eddy (2016), esgoto é a água de abastecimento que após sua utilização em variados serviços, torna-se imprópria para consumo devido a incorporação de constituintes, como organismos patogênicos, matéria orgânica, compostos tóxicos, potencialmente mutagênicos ou carcinogênicos.

O esgoto doméstico provém principalmente de residências e estabelecimentos comerciais e é constituído basicamente de água de banho, excretas, papel higiênico, restos de comida, sabão, detergente e águas de lavagem. Assim, estão presentes matéria orgânica, gordura, proteínas, sais e microrganismos (VON SPERLING, 2014).

Já os efluentes hospitalares são uma mistura de diferentes compostos, incluindo produtos farmacêuticos, antimicrobianos, bactérias resistentes a antimicrobianos (BRA), genes de resistência a antimicrobianos (GRA), substâncias usadas como agentes de diagnóstico, desinfetantes e metabólitos de fármacos, e são altamente perigosos devido sua capacidade de causar danos à saúde. Por isso, é conveniente que estes efluentes passem por um pré tratamento antes da disposição nos esgotos municipais (SANTOS *et al.*, 2013, TIMRAZ, *et al.*, 2017; PETROVICH *et al.*, 2020). O esgoto proveniente de indústria farmacêutica também

pode carrear vários compostos químicos, como hormônios, analgésicos, anti-inflamatórios e antimicrobianos (PRADO *et al.*, 2019).

Nos centros urbanos, o tratamento de esgoto é realizado visando a redução da matéria orgânica, de bactérias patogênicas, sólidos em suspensão, nutrientes, fármacos e resíduos tóxicos (ANA, 2017). Os processos de tratamento podem ser classificados entre físicos, biológicos e químicos. A escolha das tecnologias de tratamento deve ser pensada conforme as características do efluente bruto, de forma a alcançar a remoção dos constituintes alvos e a qualidade desejada com base nos parâmetros de lançamento em corpo receptor preconizados pelas agências reguladoras (ANA, 2017; METCALF, EDDY, 2016).

As ETEs podem ser compostas por diversas configurações, tendo em comum etapas de tratamentos físicos e biológicos. O tratamento preliminar consiste em remover material particulado, como galhos, plástico, trapos, cabelos, areia, que possam causar problemas aos equipamentos nas etapas de tratamento subsequentes. Esta etapa possui o gradeamento, para fragmentos maiores, e o desarenador, para a decantação de partículas maiores de 0,2mm (ANA, 2017; ROCHA, 2020). Após esta etapa, o efluente segue para o tratamento primário, que remove parte dos sólidos suspensos, a matéria orgânica do esgoto e material flutuante, majoritariamente por processos físicos. Já no secundário, em que se encaixam as etapas biológicas, é retirado o material biodegradável em solução e em suspensão, por reações bioquímicas realizadas por microrganismos. No tratamento terciário, ou etapa de polimento, são removidos sólidos residuais, geralmente por filtração, e podem visar também a diminuição da carga microbiana (METCALF, EDDY, 2016; VON SPERLING, 2014).

Os processos biológicos são baseados no uso da atividade de microrganismos para a transformação ou remoção de matéria orgânica, nutrientes, bactérias patogênicas e compostos tóxicos. As etapas biológicas de tratamento de efluente doméstico estão relacionadas aos tratamentos secundário e terciário e fazem uso de sistemas anaeróbios ou aeróbios de tratamento (METCALF, EDDY, 2016; ANA, 2017; ROCHA, 2020).

O tratamento usando reatores aeróbios tem a vantagem de ser um método com alta eficiência de retirada de nutrientes, redução da Demanda Bioquímica de Oxigênio – DBO e Demanda Química de Oxigênio - DQO, ser mais rápido e menos sensível a variáveis. A DBO mede o oxigênio molecular consumido

para degradar o material orgânico e inorgânico em água residuais e efluentes. Já a DQO refere-se à quantidade de oxigênio necessária para degradar quimicamente a matéria orgânica por meio da ação de um agente oxidante. Apesar disso, devido à necessidade de aeração do sistema, o consumo de energia é aumentado (ANA, 2017; ROCHA, 2020). O sistema anaeróbio é menos eficiente na remoção de DBO e DQO, por isso necessita de uma etapa de polimento do efluente antes de sua deposição no ambiente. Em contrapartida, oferece menor produção de lodo, menor gasto energético em relação ao aeróbio, e tem como subproduto o biogás, que pode ser utilizado para geração de energia através da combustão (APHA; AWWA; WEF, 2012; ANA, 2017; AZIZ, *et al.* 2019). A combinação de processos de tratamento biológicos aeróbios e anaeróbios pode ser feita de forma a obter um sistema mais compacto, maior eficiência na remoção de carga orgânica e redução no consumo de energia (SILVA *et al.*, 2015).

No tratamento anaeróbio, existem quatro etapas bioquímicas principais de transformação do efluente: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, cada uma realizada por uma espécie exclusiva de microrganismos (POMPEO *et al.*, 2015). Na hidrólise, as bactérias secretam enzimas que degradam o material orgânico em substâncias de menor peso molecular. Na acidogênese ou fermentação, bactérias específicas metabolizam as substâncias produto da hidrólise, gerando substâncias ainda mais simples, como ácidos graxos e hidrogênio. Depois, ocorre a acetogênese, onde essas substâncias são oxidadas por bactérias sintróficas e transformadas em substratos para a metanogênese que resulta na produção de gás carbônico e metano. Pode ocorrer um processo alternativo dependendo da composição do esgoto, a chamada sulfetogênese: nela sulfato, sulfito e outros compostos de enxofre funcionam como aceptores de elétrons durante a oxidação de compostos orgânicos e reduzidos a sulfeto pela ação de bactérias redutoras de sulfato (CHERNICHARO, 2007; SOARES, FEIDEN, TAVARES, 2017).

A presença de nitrogênio no efluente está em forma de nitrogênio orgânico, amônia, nitrito, nitrato ou na sua forma gasosa (JORDAO, PESSOA, 2011). O lançamento de algumas dessas formas nos corpos d'água pode levar a danos ambientais como crescimento de algas e intoxicação de peixes. O processo de retirada de nitrogênio do efluente se dá pela conversão de amônia ( $\text{NH}_3$  e  $\text{NH}_4$ ) em Nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) e após em Nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). Este processo é chamado de nitrificação e é mediado por bactérias quimioautotróficas, como as dos gêneros

*Nitrococcus* e *Nitrospira*, em presença de oxigênio dissolvido (OD); portanto deve ocorrer em tanque aerado. Após esse processo, o efluente segue para reator anóxico, em que há a presença de grande quantidade de nitrito e ausência de oxigênio dissolvido. Nele, ocorre a ação das bactérias desnitrificantes heterotróficas, que utilizam nitrito e matéria orgânica para a produção de nitrogênio gasoso ( $N_2$ ), o qual será liberado para a atmosfera sem prejuízo ambiental (JORDAO, PESSOA, 2011; METCALFY, EDDY, 2016).

No processo *Anammox* (Oxidação Anaeróbia de Amônia), ocorrem duas etapas: a nitrificação parcial da amônia, e após, a oxidação anaeróbia de amônia e nitrito a gás nitrogênio. Essa conversão é feita por bactérias autotróficas da ordem *Planctomycetales*, sem a necessidade de consumo de carbono orgânico para o crescimento celular, diferente do processo de nitrificação e desnitrificação clássicos. Como somente uma porção da amônia no processo de desamonificação da corrente de alimentação é oxidada a nitrito, uma quantidade de energia muito menor é necessária em aeração, em comparação ao processo convencional de remoção biológica de nitrogênio, que a maior parte da amônia disponível é oxidada a nitrato (MULDER *et al.*, 1995; METCALFY, EDDY, 2016). Nozhevnikova, Simankova e Litti (2012), apontaram uma redução de 25% nos custos de aeração com processo *Anammox* no tratamento de efluentes, em relação a um processo de nitrificação completo. Houve também uma redução de 40% nos custos por não adição de carbono orgânico e diminuição de emissões de dióxido de carbono de 20%. Para obter um ótimo desempenho com esse método, o efluente deve conter alta taxa de amônia, baixa carga orgânica e condições anaeróbias adequadas no sistema.

Os tratamentos químicos, por sua vez, utilizam da adição de produtos químicos, como tratamento complementar, normalmente quando é necessária a produção de efluente de alta qualidade, como exemplo para remoção de partículas coloidais, nutrientes, metais e microrganismos (ANA, 2017). Na precipitação química, utiliza-se a adição de algum agente químico, coagulante e/ou floculante, que aumenta o contato entre as partículas dos sólidos dissolvidos formando flocos. Esses podem ser removidos por sedimentação, flotação e diversos tipos de filtração, incluindo os que fazem uso de membranas (SANCHES, 2019). Dentre os nutrientes, a remoção de fósforo é muito desejada e pode ser realizada pela adição de composto químicos que contenham alumínio [Al (III)], íon férrico [Fe (III)], ferro ferroso

[Fe (II)] e cálcio [Ca (II)], e pode ocorrer a associação destes compostos com polímeros (METCALF, EDDY, 2016).

A adição de oxigênio à água para manter reações aeróbicas e a utilização de cloro para desinfecção do esgoto também são exemplos de processos químicos. A cloração é um dos métodos de desinfecção de águas residuais mais utilizados, apesar de existirem bactérias que podem sobreviver ao processo. Altas concentrações de cloro podem levar a geração de subprodutos tóxicos, causando riscos à saúde (GARNER, *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2017). A desinfecção pelo uso de radiação ultravioleta (UV) é uma alternativa ao cloro, pois não produz compostos tóxicos e apresenta bons resultados para combate a bactérias (MCKINNEY; PRUDEN, 2012).

As estações de tratamento de efluentes recebem grandes cargas de BRA e GRA, além de antimicrobianos, metais, saneantes e outros poluentes que devem ser acompanhados para o entendimento da sua proliferação no processo de tratamento e a criação de barreiras para evitar sua disseminação (HONG *et al.*, 2018). Em geral, a eficiência na remoção destes compostos é maior quando há a combinação de reatores anaeróbios e aeróbios quando comparado com o processo aeróbio isolado. Esta eficiência ainda pode ser melhorada quando se combinam tecnologias adicionais após os tratamentos convencionais (BARANCHESHME, MUNIR, 2018).

As tecnologias de tratamento avançado de águas residuais, como fotocatalise, filtração por membrana, adsorção em carvão ativado e processos de oxidação avançados (POA), têm se mostrado eficientes na remoção de contaminantes emergentes, que incluem produtos farmacêuticos, produtos de cuidados pessoais, compostos de desregulação endócrina, surfactantes, pesticidas e retardantes de chama (AHMED *et al.*, 2017). Eles têm sido muito utilizados na geração de água de reúso para uso como fonte de água potável (HONG *et al.*, 2018).

A fotodegradação também auxilia na remoção de contaminantes, mas possui fatores limitantes com a elevada presença de sólidos suspensos no esgoto e a variação do espectro da luz solar, em períodos noturnos ou dias nublados. Para que ela ocorra de forma natural, devem ser empregadas grandes áreas superficiais para a incidência solar, como ocorre nas lagoas de estabilização, ficando mais expostos à radiação UV, que degrada estes compostos (IWA, 2010, AQUINO,

BRANDT, CHERNICHARO, 2013). A ozonização de efluentes demonstrou uma eficiência na remoção de 98,4% de bactérias patogênicas facultativas e seus genes de resistência a antimicrobianos (JAGER *et al.*, 2018).

Existem também processos naturais de disposição no solo, porém são pouco utilizadas devido à necessidade de grande área de implantação, risco de contaminação do solo e lençol freático, e proliferação de insetos (ANA, 2017). Apesar disto, esta disposição de efluente no solo pode ser usada para o fornecimento de nutrientes na agricultura. Desse modo, o processo de tratamento pode ser simplificado e o efluente final, ainda rico em fósforo e potássio, é utilizado para fertirrigação de plantas (RIBAS, NETO, 2008; DUARTE *et al.*, 2008). Esta também é uma alternativa para os resíduos oriundos da criação animal, que quando tratados, constituem um insumo valioso e uma solução sustentável na gestão dos recursos hídricos (SILVA *et al.*, 2012, PRADO *et al.*, 2019).

### 1.3. DINÂMICA DA DISSEMINAÇÃO DE FÁRMACOS ANTIMICROBIANOS E BRA NO AMBIENTE VIA EFLUENTES

Na natureza, os ambientes estão interligados, com isso o impacto do uso de fármacos antimicrobianos (FAM) em diversos setores, como indústria, efluentes hospitalares e domésticos, fazendas de agricultura, pecuária e aquacultura, é potencializado à medida que os resíduos de FAM, BRA e GRA interagem e se espalham para os ambientes adjacentes, como rios e efluentes, o que pode contribuir para a disseminação de BRA e GRA (ASHBOLT *et al.*, 2013; BAQUERO *et al.*, 2019).

#### 1.3.1. Disseminação de fármacos para o ambiente

O crescimento acelerado no consumo mundial de antimicrobianos traz uma preocupação acerca da disseminação ambiental destes fármacos (CARVALHO *et al.*, 2021). A maioria dos antimicrobianos consumidos por seres humanos e animais não é completamente metabolizada pelo organismo; assim, cerca de 40-90% da substância ativa é excretada na urina e/ou fezes na forma inalterada. Essas moléculas são descarregadas na água e no solo por meio de águas residuais, esterco animal e lodo de esgoto (MICHAEL *et al.*, 2013; ALMEIDA *et al.*, 2014).

Dentre os medicamentos mais regularmente encontrados em ambientes aquáticos estão os anti-inflamatórios não esteroides (16%), antibióticos (15%), reguladores lipídicos (12%) e hormônios sintéticos (9%) (SANTOS *et al.*, 2010). Os antimicrobianos, juntamente com metais como cobre, zinco e arsênio, mesmo em concentrações ínfimas podem fornecer pressão seletiva sobre as bactérias ambientais. Esta exposição pode favorecer o aparecimento de fenótipos de multirresistência e a transferência de plasmídeos contendo GRA entre as bactérias (GULLBERG *et al.*, 2014).

Alguns compostos farmacêuticos, como eritromicina, ciclofosfamida, naproxeno e sulfametoxazol podem persistir no meio ambiente por mais de um ano, enquanto outros, como ácido clofíbrico, podem persistir por vários anos e podem bioacumular até concentrações biologicamente ativas (RIVERA-UTRILLA *et al.*, 2013). Assim, produtos químicos farmacêuticos, especialmente antimicrobianos, estão sendo reconhecidos como contaminantes ambientais emergentes, classificados como compostos bioacumulativos recalcitrantes (CHEN, ZHOU, 2014).

As ETE são configuradas para reduzir a carga bacteriana e contaminantes das águas residuais, mas, devido às limitações técnicas, alguns antimicrobianos, BRA e GRA não são totalmente removidos do efluente e acabam sendo lançados nos corpos d'água receptores a jusante (ALEXANDER, HEMBACH, SCHWARTZ, 2020; MAHANEY, FRANKLIN, 2022). Alguns estudos mostram que o tratamento convencional de lodo ativado apresenta menor eficiência para a remoção de micropoluentes como antimicrobianos, que podem ficar adsorvidos no lodo, enquanto o processo anaeróbio/anóxico/óxido com um reator de biofilme de leito móvel alcançou a maior remoção dessas substâncias (BEN *et al.*, 2018). Um estudo em amostras de efluentes de duas ETE no norte da China, mostrou correlações significativas entre as concentrações residuais de antimicrobianos e a abundância de GRA correspondentes no efluente final, sugerindo que alguns antibióticos contribuem com pressão seletiva para manutenção e proliferação de GRA em ETE (MAO *et al.*, 2015).

### 1.3.2. Disseminação ambiental de BRA através de efluentes

Resíduos como FAM, BRA e GRA gerados em atividades conduzidas pelo homem podem ser liberados nos rios mediante vários resíduos, provenientes de

efluentes domésticos e hospitalares, clínica humana e veterinária, industriais, de agricultura e pecuária. O fluxo desses poluentes químicos e biológicos pode levar a contaminação do homem direta ou indiretamente através da água (VIKESLAND *et al.*, 2017; LIAO *et al.*, 2018).

Uma estratégia ideal para manejar a resistência de bactérias a antimicrobianos é controlar fatores que levam à pressão seletiva desses microrganismos, como o uso irracional e a disseminação de FAM, e assim diminuir sua dispersão pelos ambientes (HILTUNEN, VIRTA, LAINE, 2017). Dentre elas, o monitoramento ambiental é de suma importância para a detecção de possíveis reservatórios de GRA e BRA (ASHBOLT *et al.*, 2013).

Existem bactérias ambientais não patogênicas, resistentes a antimicrobianos, que são capazes de realizar transferência de GRA para bactérias patogênicas, tornando as infecções causadas por elas mais difíceis tratar com os antimicrobianos de uso corrente nos hospitais, levando a maior morbidade e mortalidade. Essas bactérias ambientais podem funcionar como reservatório para genes de resistência. Vários estudos mostram que os mecanismos de resistência apresentados pelas BRA podem ter origem nas bactérias presentes nos ambientes aquáticos e solos (SINGER *et al.*, 2016; KORVENIEWSKA, HARNISZ, 2018).

A falta de controle de infecções, condições sanitárias inadequadas, maior carga de doenças, ausência de gestão e o uso não regulamentado de antimicrobianos são fatores críticos que intensificam a disseminação da resistência antimicrobiana em países em desenvolvimento (ROUSHAM, UNICOMB, ISLAM, 2018, YADAV, KAPLEY, 2021). Diversos estudos têm evidenciado que os países que apresentam alto consumo de antimicrobianos possuem alta prevalência de BRA enquanto países com baixo consumo possuem menor prevalência destes microrganismos (COSTELLOE *et al.*, 2010; WHO, 2014; BERENDONK, *et al.*, 2015; GUO *et al.*, 2021).

A resistência microbiana aos antimicrobianos é considerada um dos problemas mais graves que atingem os pacientes e serviços de saúde. Isso é resultado principalmente do aumento na emergência de mecanismos de resistência e seu potencial de disseminação. Dentre os fatores que contribuem para a aquisição de resistência a antimicrobianos estão interações patógeno-FAM e patógeno-hospedeiro, taxas de mutação nos patógenos, transmissão de patógenos entre

humanos, animais e o ambiente, resistência cruzada e seleção de multirresistência à FAM (GRIJALVA, 2014).

Outro ponto de preocupação é que, apesar do aumento da ocorrência de bactérias patogênicas resistentes a drogas, o ritmo de exploração e descoberta de novos agentes antimicrobianos é insuficiente para acompanhar o surgimento das BRA, com a possibilidade de dificuldade de tratamento de infecções associadas a esses patógenos no futuro (HOFFMAN, 2020).

O uso maciço e indiscriminado de antimicrobianos requer a adoção de medidas urgentes para o combate ao surgimento de novas cepas bacterianas multirresistentes, inclusive a novos fármacos comercializados, consequentemente agravando as infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) (ANVISA, 2007). Algumas projeções realizadas pela OMS demonstraram que, a partir de 2050, a resistência bacteriana acarretará cerca de dez milhões de mortes a cada ano, superando o número atual de óbitos causados por câncer e outras doenças, podendo considerá-la uma epidemia com graves consequências. Isto pode levar a uma redução de 2% a 3,5% do PIB, custando cerca de 100 trilhões de dólares ao mundo todo (ONEILL, 2014).

As bactérias e seus GRA podem ser transmitidos para os seres humanos por via alimentar pela ingestão de vegetais e proteínas animais contaminados, além da água e contato com o solo contaminado, uma vez que estes microrganismos estão continuamente circulando no ambiente (XIONG *et al.*, 2015a, 2015b). Assim, a resistência a antimicrobianos (RAM) precisa ser vista sob uma abordagem “One Health” (Saúde Única), já que a saúde humana está diretamente associada à saúde de animais e dos ecossistemas (HARBARTH *et al.*, 2015).

As BRA são conhecidas por estarem onipresentes na natureza, mesmo em ambientes que ainda não foram expostos aos FAM, que desempenham um papel essencial na evolução bacteriana (YADAV, KAPLEY, 2021; AHMED *et al.*, 2021). Seja no hospedeiro ou no ambiente, as bactérias estão em constante contato com diferentes substâncias que agem como estressores à sua sobrevivência, incluindo metabólitos secundários de plantas, fungos, outras bactérias, citocinas e células de defesa dos hospedeiros, metais pesados, além de condições abióticas e climáticas desfavoráveis. Com isso, elas podem adquirir mecanismos de resistência para se estabelecerem e adaptarem nesses habitats mesmo sem contato prévio com antimicrobianos (CHRISTAKI, MARCOU, TOFARIDES, 2020; MUNITA, ARIAS,

2016). Para alguns compostos, como os metais, as vias de resistência se assemelham ou respondem aos antimicrobianos, resultando em eventos de resistência cruzada (CHATTOPADHYAY, GROSSART, 2011).

O desenvolvimento e a disseminação de bactérias da ordem *Enterobacteriales* produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL), por exemplo, não são apenas promovidos pelo uso de  $\beta$ -lactâmicos, mas também facilitados por eventos de co-resistência e resistência cruzada aos desinfetantes, metais pesados e outros antimicrobianos, uma vez que os genes correspondentes estão comumente localizados no mesmo plasmídeo (CHENG *et al.*, 2019).

Sabe-se que devido às densas populações microbianas pertencentes a uma ETE, este ambiente constitui cenário ideal para a transferência horizontal de genes (THG). Por isso, é importante avaliar a resistência em bactérias patogênicas e não patogênicas presentes nesse ambiente e os genes envolvidos nesse processo, para o entendimento da persistência das BRA e GRA nas diferentes etapas de tratamento e no efluente final, para uma avaliação impacto ambiental (RIZZO *et al.*, 2013; DEVARAJAN *et al.*, 2015; HONG *et al.*, 2018; YOO *et al.*, 2020). Ademais, as BRA podem ser mais resistentes ao tratamento de água do que os organismos não resistentes, prolongando sua sobrevivência no meio ambiente. (MAO *et al.*, 2015, HONG *et al.*, 2018).

As BRA patogênicas são a maior preocupação, visto que podem levar diretamente a resultados negativos à saúde, como aumento da duração e falhas no tratamento médico e aumento do risco de morte. Contudo, as BRA não patogênicas podem atuar como reservatório de GRA e transferir estes genes para organismos patogênicos (ASHBOLT *et al.*, 2013; HONG *et al.*, 2018).

Bactérias que podem tanto viver no meio ambiente quanto colonizar humanos são relevantes para a disseminação da resistência a antimicrobianos desses locais para a clínica. Dentre as bactérias que podem causar sérias infecções nosocomiais e serem encontradas no meio ambiente, destacam-se membros dos gêneros *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* sp., *Campylobacter* sp., *Clostridioides difficile* (NOVO, MANAIA, 2010; CZEKALSKI *et al.*, 2012, NAIDOO, OLANIRAN, 2014, MANAIA, 2017). Patógenos oportunistas presentes no ambiente, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Burkholderia* spp. e

*Stenotrophomonas* spp. além de terem resistência intrínseca, também podem adquirir GRA a outros FAM (POPOWSKA *et al.*, 2010).

### 1.3.3. Bactérias de importância clínica.

A OMS publicou em 2017 uma lista de "patógenos prioritários" que representam a maior ameaça à saúde humana, dividida em três categorias de acordo com a urgência da necessidade de novos antimicrobianos: crítica, alta e média prioridade (WHO, 2017). Para a elaboração desta lista, a OMS juntamente com a Divisão de Doenças Infecciosas da Universidade de Tübingen, Alemanha, utilizaram critérios como: o risco de morte causado pela infecção; longa permanência na internação; frequência de resistência a antimicrobianos; facilidade de disseminação entre animais, de animais para humanos e entre indivíduos; possibilidade de prevenção (higiene e vacinação); quantidade de tratamentos ainda efetivos; e se existem novos antimicrobianos para tratá-los em desenvolvimento (WHO, 2017). A lista considera de Prioridade 1: Crítica, as bactérias *Acinetobacter baumannii*, resistente a carbapenêmico; *Pseudomonas aeruginosa*, resistente a carbapenêmico; *Enterobacteriaceae*, resistente a carbapenêmico e produtora de ESBL. Como Prioridade 2: Alta, as bactérias *Enterococcus faecium*, resistente a vancomicina; *Staphylococcus aureus*, resistente à meticilina, intermediário e resistente a vancomicina; *Helicobacter pylori*, resistente à claritromicina; *Campylobacter* spp. resistente à fluoroquinolona; *Salmonella*, resistente à fluoroquinolona; e *Neisseria gonorrhoeae*, resistente à cefalosporina e fluoroquinolona. Já como Prioridade 3: Média, as bactérias *Streptococcus pneumoniae*, não suscetível à penicilina; *Haemophilus influenzae*, resistente à ampicilina; e *Shigella* spp., resistente à fluoroquinolona.

Segundo dados epidemiológicos mundiais, o grupo bacteriano com maior importância clínica é ESKAPEE, um acrônimo representado por *E. faecium*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp. e *Escherichia coli*. Esses microrganismos possuem a habilidade de adaptação a mudanças ambientais e podem ser encontrados em diversos sítios, como a microbiota humana e animal, além de ambientes aquáticos e terrestres. Ademais, apresentam potencial para adquirir e disseminar GRA e alta prevalência em casos de infecções hospitalares (PENDLETON; GORMAN; GILMORE, 2013, SAVIN *et al.*,

2020). Além disso, também podem ocorrer mutações espontâneas em genes cromossômicos, que posteriormente serão transmitidos verticalmente com a replicação bacteriana (COX, WRIGHT, 2013).

Os mecanismos de resistência desses microrganismos incluem a inativação do fármaco por clivagem enzimática, modificação do sítio de ação, redução da permeabilidade da parede celular, utilização de bombas de efluxo, além da formação de biofilme (MUNITA, ARIAS, 2016; CHRISTAKI, MARCOU, TOFARIDES, 2020, KAKOULLIS *et al.*, 2021; PIZZOL, 2022).

As bactérias ESKAPEE Gram negativas, consideradas as mais ameaçadoras desse grupo, apresentam amplo espectro de resistência, principalmente devido à produção de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido (ESBL) e de Carbapenemases (KPC) (SANTAJIT, INDRAWATTANA, 2016; PIZZOL, 2022). Já as ESKAPEE Gram positivas apresentam mais opções de tratamento, entretanto há relatos de isolados resistentes a antimicrobianos de última linha, como *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) e *Enterococcus* resistente a vancomicina (VRE), que vêm se disseminando (RUEKIT *et al.*, 2022).

Após a descarga no meio ambiente através de fezes e águas residuais, *Enterobacteriaceae* produtoras de  $\beta$ -lactamase de espectro estendido (ESBL) (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp.) e *Enterococcus* spp. podem permanecer no solo, plantas e águas superficiais e oferecer risco para a colonização de humanos, animais de estimação e de produção. A interação de bactérias com poluentes ambientais, bem como ambientes rurais contaminados e produtos alimentícios, pode influenciar a composição da comunidade microbiana de humanos e animais, colonizando-os com bactérias ESKAPEE resistentes (WEINER *et al.*, 2016; SUETENS *et al.*, 2018).

As ESBL são enzimas capazes de inativar drogas, por meio da hidrólise de uma ampla gama de FAM, como penicilinas, cefalosporinas de primeira, segunda e terceira geração, e aztreonam. Este mecanismo é comumente detectado em *P. aeruginosa* e *A. baumannii* e em membros das *Enterobacteriales*, incluindo *E. coli* e *K. pneumoniae*. Entre as ESBL, CTX-M é enzima predominante (NAAS, POIREL, NORDMANN *et al.* 2008; WILSON, 2014; ADEKANMBI, 2020; YEWALE, 2020).

Os carbapenêmicos são uma classe de antimicrobianos de última escolha para infecções hospitalares, pois em algumas infecções as opções de tratamento disponíveis são muito limitadas. Com isso, a emergência de *Enterobacterales*

produtoras de carbapenemases (EPC) foi classificada como uma das principais preocupações de saúde pública da última década, pois infecções associadas a estes organismos atingem taxas de 40% de mortalidade (LOGAN, WEINSTEIN, 2017). A enzima KPC é largamente distribuída no mundo, e embora majoritariamente encontrada em *K. pneumoniae*, também foi identificada em bactérias como *Enterobacter* spp, *Salmonella* spp, *P. aeruginosa* e *A. baumannii* (JEON *et al.*, 2015, NAAS, DORTET, IORGA, 2016).

A resistência de bactérias Gram-negativas a carbapenêmicos acontece pela aquisição de carbapenemases ou produção de cefalosporinases, relacionadas com mudanças na permeabilidade da parede celular à entrada de antimicrobianos (QUEENAN, BUSH, 2007). A resistência a carbapenêmicos também pode acontecer por porinas associadas a hiperexpressão de enzimas AmpC e/ou ESBLs, bombas de efluxo e mutações nas proteínas de ligação a penicilinas (PBP) (FERNANDEZ, HANCOCK, 2012; LI *et al.* 2012; YAMACHIKA, S. *et al.* 2013; MOUBARECK, HALAT, 2020).

Apesar de serem predominantemente encontradas em ambientes de saúde, as EPC não estão restritas a estes locais, podendo ser encontradas em diversos nichos ecológicos, como em águas fluviais (LOUDERMILK *et al.*, 2022, PALMEIRA *et al.*, 2023). Esta contaminação ambiental pode estar associada ao descarte de efluentes hospitalares sem tratamento, que podem conter bactérias produtoras de KPC provenientes de dejetos de pacientes colonizados durante a assistência à saúde (PALMEIRA *et al.*, 2023).

Assim como bactérias de origem fecal, *Enterococcus* multirresistentes, como *Enterococcus* Resistente a Vancomicina (VRE), podem entrar nos ambientes aquáticos, especialmente em rios, através de águas residuais hospitalares e municipais (EKWANZALA *et al.*, 2020; GOTKOWSKA-PYACHTA, 2021). Por serem membros da microbiota intestinal de uma ampla variedade de hospedeiros e por sobreviverem a condições adversas, sua presença pode ser detectada em altas densidades em ETEs (BYAPPANAHALLI *et al.*, 2012).

Os genes que codificam resistência a glicopeptídeos em *Enterococcus* são o *vanA*, *vanB* e descrito mais recentemente o *vanC* (WERNER, G. *et al.* 2018). A expressão destes genes leva à síntese de precursores de peptídeo-glicanos com menor afinidade à molécula de vancomicina, alterando seu efeito antimicrobiano (ARIAS *et al.*, 2012).

A espécie *S. aureus* é causadora de muitas infecções, tanto IRAS como comunitárias. Um grande número de casos de infecções nosocomiais relacionadas a *S. aureus* resistentes a uma gama de antimicrobianos vem se tornando uma realidade, podendo ter um impacto maior em pacientes imunocomprometidos, idosos e crianças, requerendo um tratamento especializado e aumentando significativamente os gastos com saúde (RAHIMI *et al.* 2021).

A presença de isolados de *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA) no esgoto é uma das potenciais maneiras de disseminação de resistência bacteriana. Por estar localizado em um elemento genético móvel, o gene *mecA* pode ser disseminado por meio de transferência horizontal de genes (TSAI *et al.*, 2020). Este gene codifica a PBP2a, que é uma PBP mutante e possui baixa afinidade à ligação de beta-lactâmicos como a meticilina (MORELL, BALKIN, 2010).

É importante ressaltar que os ecossistemas fluviais são muito relevantes, desempenhando papéis fundamentais nas funções do ecossistema, como água potável, alimentação, agricultura, produção animal e atividades de lazer (GRENNI, 2022). Portanto, compreender a situação atual da poluição das águas é de suma importância para planejar medidas que visam reduzir ou conter os riscos ambientais causados por BRA e GRA (AZUMA *et al.*, 2022).

## 2. JUSTIFICATIVA

Em virtude da estreita relação entre ausência de saneamento adequado (incluindo a falta de higiene) e os significativos impactos negativos à saúde da população, as Nações Unidas definiram na Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável, em que um dos objetivos é assegurar a disponibilidade e a gestão sustentável da água e saneamento para todos, passando pelo acesso universal à água potável e ao saneamento de forma geral e também à melhoria da qualidade da água (ONU, 2017).

O lançamento de efluentes no ambiente pode ser uma rota de contaminação dos recursos hídricos, uma vez que estas águas residuárias podem conter grande variedade de fármacos, incluindo antimicrobianos (AQUINO, BRANDT, CHERNICHARO, 2013). No ambiente, esses micropoluentes fornecem pressão seletiva sobre as bactérias, o que pode gerar fenótipos de resistência a antimicrobianos.

A disseminação de bactérias e GRA está criando um cenário de escassez de recursos para tratamento de infecções. Compreender a RAM é essencial para combater essa ameaça à saúde pública e requer o desenvolvimento de políticas de intervenção adequadas (ALAM *et al.*, 2019).

Estratégias para reduzir a resistência antimicrobiana devem considerar o papel e o efeito de muitos fatores, incluindo os mecanismos de resistência, às espécies de microrganismos, o antimicrobiano particular, bem como o ambiente e o contexto. A perspectiva de Saúde Única combina várias estratégias sobrepostas e sinérgicas olhando a saúde humana, animal e ambiental de maneira integrada (KIM, CHA, 2021).

Nos últimos anos, as taxas de resistência bacteriana a antimicrobianos atingiu um nível preocupante, sendo cada vez mais comum encontrar patógenos multirresistentes. A OMS referiu a preocupação com uma “era pós-antibióticos” em que infecções antes facilmente tratáveis, podem se tornar um problema grave e fatal. Esta preocupação é atribuída também a redução drástica no desenvolvimento de novos FAM, complicando o cenário mundial (WHO, 2014) Embora novos antimicrobianos possam ser capazes de combater os mecanismos estabelecidos de resistência, o uso irracional desses agentes pode levar ao desenvolvimento de novos mecanismos de resistência pelas bactérias (KAKOULLIS *et al.*, 2021).

Visto que a presença de antimicrobianos em efluentes leva a pressão seletiva para BRA e GRA nas ETEs e no ambiente e que estes organismos podem ser extremamente prejudiciais à saúde em geral, é necessário o estudo das disseminação e o impacto destes fatores no ambiente.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GERAL**

Avaliar a dinâmica de bactérias de relevância clínica resistentes a fármacos antimicrobianos em efluentes domésticos brutos, em uma ETE e no corpo receptor que recebe esse efluente tratado.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Caracterizar a densidade de bactérias heterotróficas totais (BHT) em amostras de efluente tratado e não tratado e no corpo receptor do efluente.

Avaliar eficiência da ETE na remoção de microrganismos e a influência da deposição do efluente tratado no corpo receptor, como agente disseminador de BRA.

Conhecer a diversidade de bactérias de importância clínica em amostras de efluente secundário e água do corpo receptor, bem como os seus perfis de resistência a fármacos antimicrobianos.

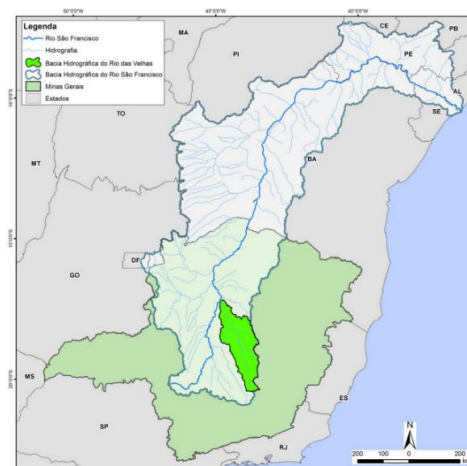
Caracterizar parâmetros físico-químicos de efluentes secundários da ETE em estudo.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. LOCAL DE ESTUDO

Este estudo foi conduzido na Estação de Tratamento de Esgoto - ETE Onça, vinculada a Unidade Territorial Estratégica Ribeirão Onça (UTE-O), que faz parte da Bacia Hidrográfica do Rio das Velhas e fica localizada na região nordeste do município de Belo Horizonte, estado de Minas Gerais, região Sudeste do Brasil. Os principais cursos d'água que compõem a bacia são o Ribeirão do Onça, Ribeirão da Pampulha, Ribeirão do Cabral, Ribeirão Isidora, Córrego da Ressaca e Córrego São João (CBHRV, 2015).

**Figura 1** – Bacia Hidrográfica do Rio das Velhas, localizada na Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco, em Minas Gerais. Em verde delimitamos o estado de Minas Gerais, em branco, a Bacia Hidrográfica Rio São Francisco e em verde-fluorescente a Bacia Hidrográfica Rio das Velhas. As linhas em azul representam os córregos e rios que fazem parte das bacias citadas.



A ETE-Onça atende a população de Belo Horizonte e Venda Nova, totalizando em torno de 1,3 milhões de habitantes, quando atua em sua vazão máxima (2400L/s) (CBHRV, 2015). Ela é considerada a maior estação de tratamento de esgotos da América Latina a adotar o sistema de tratamento biológico por reatores UASB (COPASA, 2018). É composta pelo tratamento preliminar físico no qual o efluente bruto chega por uma elevatória, com gradeamento automatizado e mecanizado, com grades grossas e finas, no qual ocorre a retirada do material particulado maior e lixo e depois segue para o desarenador e decantador primário, que retiram as partículas menores em suspensão. A primeira fase do tratamento biológico se inicia em 24 reatores UASB. O esgoto então é distribuído para os 24 tanques UASB para a primeira etapa de tratamento biológico. Nessa etapa, o efluente entra pelo fundo dos tanques, passando por uma manta de biofilme suspenso (grânulos) composto por bactérias anaeróbias estritas e facultativas que consomem grande parte das substâncias presentes. Esta etapa gera metano direcionado para um queimador, onde sua combustão gera CO<sub>2</sub>, que é menos

poluente para a atmosfera. A manta de lodo é sempre monitorada para manter a eficiência do tratamento, e quando necessário, é feita a retirada desse lodo, que após ser desidratado, é levado para o aterro municipal. O efluente segue então para outra etapa de tratamento biológico, os biofiltros percoladores. Nesta fase, o efluente é aspergido sobre uma malha de brita de diversas granulometrias, fazendo com que haja incorporação de oxigênio na água e degradação dos componentes orgânicos pelas bactérias sésseis presentes no biofilme aderido a superfície desse leito. Na etapa final, o efluente segue para um decantador secundário, que serve para a retirada do material particulado residual e do material flotado, que podem ter se despreendido do biofiltro.

Os pontos de coleta selecionados para o estudo foram: tanque de entrada do afluente antes do gradeamento (Efluente Bruto); saída do tratamento anaeróbio (UASB); saída do decantador secundário (Efluente Tratado); corpo receptor antes do local de deposição do efluente tratado (Rio a Montante); corpo receptor após o local de deposição do efluente tratado (Rio a Jusante). Eles podem ser visualizados na imagem aérea da ETE mostrada na Figura 2.



**Figura 2** - Estação de Tratamento de Esgoto do Ribeirão Onça vista de cima e pontos de amostragem. Imagem de satélite, Google Maps. Ponto 1: Tanque de entrada - EB. Ponto 2: Saída do tratamento anaeróbio - UASB. Ponto 3: Saída do decantador secundário - ET. Ponto 4: Corpo

receptor antes do local de deposição do ET - RM. Ponto 5: Corpo receptor após o local de deposição do ET - RJ.

O estudo foi realizado no período de Agosto a Dezembro de 2022, totalizando 11 coletas, compreendendo o período seco (inverno) e a mudança para o período chuvoso (primavera e início do verão).

Foram coletadas quinzenalmente, amostras de cada um dos pontos de amostragem em frascos de vidro âmbar e bombonas esterilizadas. O volume de material coletado foi de 500 mL para as análises microbiológicas e três litros para as análises físico-químicas. As amostras foram transferidas imediatamente para o Laboratório de Microbiologia Aplicada e Laboratório de Físico-Química (DESDA) da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG e mantidas sob refrigeração até o momento de seu processamento.

#### 4.2. CARACTERIZAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DAS AMOSTRAS DE ESGOTO.

As amostras em estudo foram caracterizadas segundo métodos padrões descritos pelo Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater (2005). O pH e a condutividade foram realizados por potenciometria; a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) por oximetria e a Demanda Química de Oxigênio por colorimetria; a análise de Sólidos Suspensos Totais (SST) foi realizada por gravimetria (APHA, 2005).

#### 4.3. CARACTERIZAÇÃO DE PARÂMETROS BIOLÓGICOS NAS AMOSTRAS EM ESTUDO.

##### 4.3.1. Avaliação da densidade de bactérias heterotróficas totais nas amostras

Alíquotas de 1mL de cada amostra foram transferidas para frascos contendo 9mL de solução salina estéril (NaCl 0,85%) e diluídas em série na razão de 10 até  $10^{-5}$ . Em seguida, alíquotas de 100 $\mu$ L de cada diluição foram semeadas em placas contendo PCA (Agar de Contagem em Placas) para a determinação da densidade de bactérias heterotróficas totais (BHT). As placas foram incubadas por 24 h a 36 °C/ $\pm$ 1°C e após esse tempo, placas contendo de 30 a 300 unidades

formadoras de colônia (UFC) foram contadas. Esta contagem foi multiplicada pelo fator de diluição e dividida pelo volume adicionado na placa para a obtenção da densidade expressa em UFC/mL.

#### 4.3.2. Avaliação da densidade de bactérias resistentes a fármacos antimicrobianos

Alíquotas de 100 µL das diluições anteriormente preparadas foram transferidas para placas contendo os seguintes meios de cultura suplementados com antimicrobianos: Ágar Hicrome ESBL, Hicrome KPC, Hicrome MRSA e Hicrome VRE (Himedia) e incubadas em estufa a 36°C/±1°C por 24-48 horas, visando quantificar diferentes grupos microbianos resistentes a FAM de interesse.

O ágar Hicrome ESBL foi utilizado para quantificar bactérias produtoras de ESBL. As colônias rosas e roxas são sugestivas de *E. coli*, colônias verde-azuladas sugestivas de *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp. (grupo KESC), colônias incolores a marrom claras sugestivas de *Proteus* spp., *Providencia* spp. e *Morganella* spp. (grupo PPM).

O ágar Hicrome KPC foi usado para quantificar bactérias produtoras de Carbapenemase. As colônias com cor rosa a magenta são sugestivas de *E. coli*, colônias verde azuladas sugestivas de espécies de *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Serratia*, colônias incolores sugestivas de *Acinetobacter* e *Salmonella* e colônias verde amareladas sugestivas de *Pseudomonas*. O ágar Hicrome Rapid MRSA foi utilizado para quantificar colônias amarelo-esverdeadas sugestivas de *S. aureus* e colônias verde escuras sugestivas de *Staphylococcus epidermidis* resistentes à meticilina. Por sua vez o agar Hicrome VRE foi usado para quantificar colônias azuis pequenas sugestivas de *Enterococcus* resistente à Vancomicina.

Após o período de incubação, placas contendo de 30 a 300 colônias foram escolhidas para a determinação da densidade expressa em UFC/mL, obtida multiplicando-se o número de colônias pelo fator de diluição, seguida por divisão pelo volume da alíquota adicionada da amostra espalhada na placa.

Os dados obtidos foram usados nos cálculos de eficiência de remoção de bactérias resistentes aos diferentes FAM ao longo das etapas do tratamentos realizados na ETE Onça por meio das equações abaixo:

$$\text{Eficiência de remoção relativa (\%)} = [(1 - \text{UFC/mL ET}) / \text{UFC/mL EB}] \times 100.$$

Eficiência de remoção em Log =  $\text{Log}_{10} (\text{UFC/mL EB} / \text{UFC/mL ET})$ .

Para calcular a influência da deposição do efluente no corpo receptor e qual o seu impacto, utilizou-se as equações abaixo:

Impacto no corpo receptor (%) =  $[(1 - \text{UFC/mL RM}) / \text{UFC/mL RJ}] \times 100$ .

Impacto no corpo receptor em Log =  $\text{Log}_{10} (\text{UFC/mL RJ} / \text{UFC/mL RM})$ .

#### 4.3.3. Avaliação da densidade e identificação de bactérias do grupo ESKAPEE.

Alíquotas de 100  $\mu\text{L}$  das diluições seriadas foram espalhadas na superfície de placas contendo Ágar Cromoclin US (Laborclin) e incubadas em estufa a  $36^{\circ}\text{C}/\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.

No Ágar Cromoclin US, de acordo com o fabricante, colônias rosa ou magenta são sugestivas de *E. coli*; colônias verde escura a azul metálico, médias e grandes sugestivas de *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. e *Citrobacter* spp.; colônias azuis metálicas, pequenas, brilhantes com aspecto seco, sugestivas de *Enterococcus* spp.; colônias incolores a brancas sugestivas de *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Candida* spp. e *Acinetobacter* spp.; colônias amarelas a marrom sugestivas de *Staphylococcus* spp., *Proteus*, *Providencia* e *Morganella* e colônias cinza, creme e levemente esverdeadas sugestivas de *Pseudomonas* spp..

As colônias características de cada grupo microbiano em estudo foram purificadas em meio TSA (Tryptic Soy Agar, BD, EUA) por meio de estrias compostas seguindo incubação por 24 horas a  $36^{\circ}\text{C}/\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Colônias puras foram estocadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  em criotubos contendo Caldo Brucella com 10% de Glicerol e usadas nas etapas de identificação e caracterização da susceptibilidade a antimicrobianos.

Para a identificação, os isolados foram ativados em meio TSA e incubados por 24 horas a  $36^{\circ}\text{C}/\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente uma colônia de cada isolado foi transferida para poços da placa de aço inoxidável de Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization - MALDI (Bruker, Alemanha). Em seguida, 1  $\mu\text{L}$  de ácido fórmico (P.A) foi adicionado em cada amostra e as mesmas foram mantidas à temperatura ambiente até secar. Os poços receberam 1  $\mu\text{L}$  de matriz ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinâmico (HCCA, Sigma-Aldrich, Polônia) e foram mantidos a temperatura

ambiente para, posteriormente, serem analisadas em espectrômetro de massa. Os espectros de massa obtidos foram analisados pelo Software Bruker Daltonik MALDI Biotype (Bruker, Alemanha) e as identificações realizadas com base em um ranking contendo as 20 melhores correspondências entre a amostra e o banco de dados junto ao valor de confiança variando de 0 a 3. A identificação final foi realizada de acordo com os critérios recomendados pelo fabricante. A análise foi feita no Laboratório de Doenças de Animais Aquáticos (Aquavet) do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da UFMG.

#### 4.4. CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DAS ESKAPEE QUANTO AOS PERFIS DE SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS.

A caracterização fenotípica dos microrganismos anteriormente identificados como ESKAPEE, foram realizadas de acordo com as recomendações do Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - BrCast 2022.

##### 4.4.1. Teste de suscetibilidade a antimicrobianos por disco difusão (Kirby-Bauer).

Para o teste de disco difusão, foram utilizadas placas de Ágar Mueller-Hinton com espessura de aproximadamente 4mm. O inóculo foi preparado, transferindo de 3 a 5 colônias de cultivo recente (24 horas) para tubos com 3 mL de solução salina (NaCl 0,85%) e ajustados para a turbidez 0,5 de McFarland. Para a inoculação, o *swab* foi umedecido nessa suspensão e pressionado nas paredes internas do tubo para retirar o excesso de líquido. Em seguida, procedeu-se à semeadura passando o *swab* por toda a superfície do meio de cultura, em três direções, para obtenção de cobertura uniforme da placa com a suspensão celular. Após a absorção do inóculo, os discos dos diferentes FAM foram aplicados na superfície do meio com auxílio de um pinça estéril. As placas foram incubadas por 18 horas a 36°C/±1°C, e para *Enterococcus*, Vancomicina foi lida com 24 horas.

Após isso, as placas foram inspecionadas quanto a presença de halos de inibição de crescimento em torno dos discos, que quando presentes foram mensurados e as medidas usadas para categorizar os isolados como Sensível, Intermediário e Resistente, segundo os critérios definidos no BrCast (BrCAST 2022).

O BrCast tem um enfoque na clínica laboratorial e tratamento de infecções relacionadas à saúde, dessa forma, com o BrCast houve uma releitura na interpretação dos antibiogramas e considera: sensível dose padrão (S), que diz respeito alta probabilidade de sucesso terapêutico ao utilizar a dose padrão do antimicrobiano para tratamento da infecção pelo microrganismo avaliado; sensível aumentando a exposição (I), que diz respeito alta probabilidade de sucesso terapêutico ao modificar e adequar a dose do antimicrobiano para tratamento da infecção pelo microrganismo avaliado, modificando o regime de dosagens ou aumentando a concentração do antimicrobiano no local da infecção; e resistente (R) quando existe alta probabilidade de falha terapêutica, mesmo aumentando a exposição, com ajuste de doses, tempo de administração e concentração.

Isolados de *E. coli*, *K. pneumoniae* e *Enterobacter* spp. foram testados para os antimicrobianos Ampicilina 10µg, Amoxicilina+Clavulanato 20+10µg, Amicacina 30µg, Imipenem 10µg, Meropenem 10µg, Ertapenem 10µg, Cefepime 30µg, Ceftazidima 10µg, Ciprofloxacino 05µg, Gentamicina 10µg e Sulfametoxazol + Trimetoprim 23,75+1,25µg.

Isolados de *P. aeruginosa* foram testados para Amicacina 30µg, Cefepime 30µg, Ceftazidima 10µg, Ciprofloxacino 05µg, Gentamicina 10µg, Imipenem 10µg, Meropenem 10µg, Piperacilina+Tazobactam 30+6µg, Aztreonam 30µg.

Isolados de *A. baumannii* foram testados para Amicacina 30µg, Ciprofloxacino 05µg, Gentamicina 10µg, Imipenem 10µg, Meropenem 10µg, Sulfametoxazol + Trimetoprima 23,75+1,25µg, Ceftazidima 30µg e Piperacilina+Tazobactam 100+10µg.

Isolados de *E. faecalis* e *E. faecium* foram testados para Ampicilina 02µg, Ciprofloxacino 05µg, Norfloxacino 10µg, Eritromicina 15µg, Gentamicina 30µg, Linezolida 10µg, Teicoplanina 30µg e Vancomicina 05µg.

Isolados de *S. aureus* foram testados para Oxacilina (Cefoxitina 30µg), Ciprofloxacino 25µg, Clindamicina 02µg, Eritromicina 15µg, Gentamicina 10µg, Sulfametoxazol + Timetoprim 23,75+1,25µg e Doxiciclina 30µg.

#### 4.4.2. Determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM) por microdiluição em caldo.

Para o teste de microdiluição em caldo para Colistina, foram utilizadas microplacas de 96 poços contendo 100  $\mu$ L de Caldo Mueller-Hinton cátion ajustado em cada cavidade. Na coluna 12 foram adicionados 200  $\mu$ L de solução de antimicrobiano com o dobro da concentração da maior diluição a ser testada. A partir daí, foram realizadas diluições em série retirando alíquotas de 100 $\mu$ L de solução preparada e dispensadas na coluna adjacente, repetindo esse processo até a coluna 2. A coluna 1 contém apenas meio e suspensão bacteriana (controle positivo). A placa foi tampada, devidamente identificada e armazenada em freezer até o momento do uso. Para a inoculação, utilizou-se o mesmo inóculo preparado o método de Kirby-Bauer diluído 1:100 usando Caldo Mueller-Hinton, dispensando-se 100 $\mu$ L da suspensão em todas as colunas. As placas foram incubadas a  $35\pm 1^\circ\text{C}$ ,  $18\pm 2\text{h}$  e após, realizadas as leituras para a determinação da CIM.

Esta metodologia foi utilizada em isolados de *Enterobacter* spp., *E. coli*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa* para Colistina, e em *S. aureus* para Vancomicina.

#### 4. 5. ANÁLISE DE DADOS

Análise multivariada de componentes principais usando o software Past foi conduzida para avaliar o efeito desses parâmetros físico-químicos sobre os dados biológicos.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

O plano de amostragem incluiu coletas em período seco (08 de Agosto a 03 de Outubro de 2022) e chuvoso (17 de Outubro a 26 de Dezembro de 2022) (Tabela 1), o que resultou em vazões diferentes na ETE e conseqüente alterações nos parâmetros físico químicos pH, condutividade, DBO, DQO e SST (Figura 3). Durante o estudo, foi detectado que no período de agosto, havia grande parte de efluente bruto caindo diretamente no rio devido uma obra em dois dos braços coletores do efluente e transporte até a ETE. Com isso, foi possível avaliar também a influência do esgoto bruto nos parâmetros físico químicos e biológicos das amostras coletadas no rio.

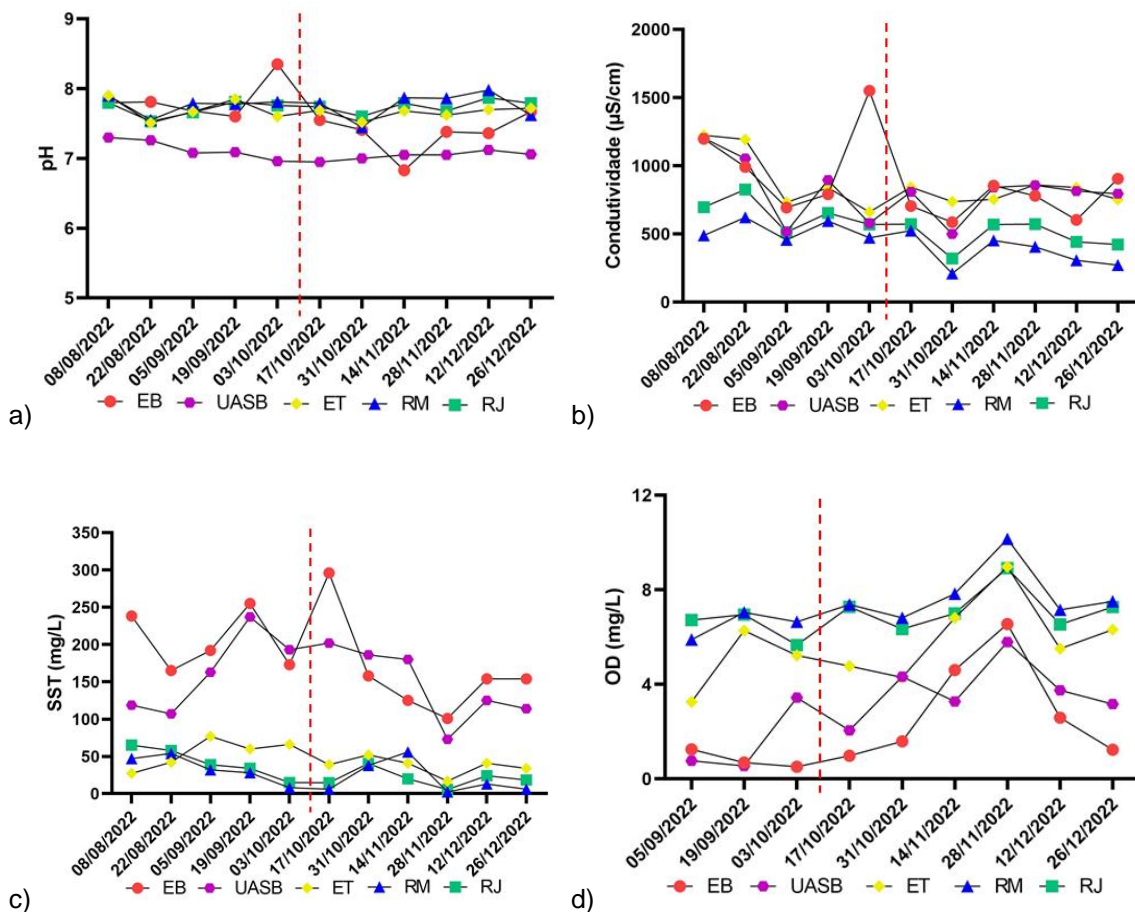
Data	T (°C)	Clima	Período	Observações
08/08/2022	17,3	Ensolarado	Seco	Braço coletor em obra
22/08/2022	18,1	Ensolarado	Seco	Volta parcial da vazão
05/09/2022	20,5	Ensolarado	Seco	Normalização da vazão total
19/09/2022	19,6	Ensolarado	Seco	-
03/10/2022	20,2	Ensolarado	Seco	-
17/10/2022	22,0	Ensolarado	Chuvoso	-
31/10/2022	20,3	Chuvoso	Chuvoso	Enchente no rio
14/11/2022	23,2	Nublado	Chuvoso	-
28/11/2022	22,0	Ensolarado	Chuvoso	-
12/12/2022	21,6	Parcialmente Nublado	Chuvoso	-
26/12/2022	22,7	Nublado	Chuvoso	-

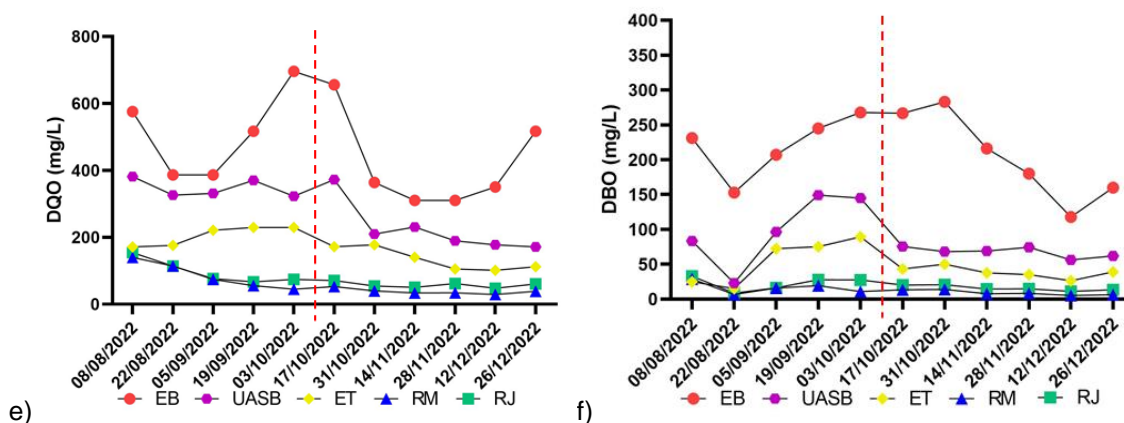
**Tabela 1-** Datas de cada coleta com as informações de clima e observações relativas a cada amostragem.

Como demonstrado na figura 3, todas as amostras de efluente coletadas se mantiveram dentro da faixa de pH de 5-9. O pH do EB foi o que mais variou entre as amostras, indo de 6,83 a 8,35. O pH das amostras do reator UASB mantiveram-

se em faixas mais baixas que dos outros pontos e a média de  $7,08 \pm 0,11$ . As amostras de ET, RJ e RM, apresentaram perfis de pH bastante semelhantes ao longo do tempo, sendo o menor valor encontrado 7,45 e o maior 7,98 nos três pontos.

Os valores de condutividade de EB foi o que mais variou ao longo do estudo com média de  $878 \pm 284,4 \mu\text{S/cm}$ , seguido por UASB com média de  $806 \pm 214,2 \mu\text{S/cm}$  e ET com  $858 \pm 184 \mu\text{S/cm}$ . A condutividade de RJ e RM tiveram uma tendência de queda após o início do período chuvoso, sendo que a menor medida de condutividade aconteceu em dia de fortes chuvas. As médias destes pontos foram  $437 \pm 130 \mu\text{S/cm}$  e  $560 \pm 138 \mu\text{S/cm}$  para RM e RJ, respectivamente. Os maiores valores ocorreram nas primeiras coletas em função do esgoto bruto que estava caindo no rio.





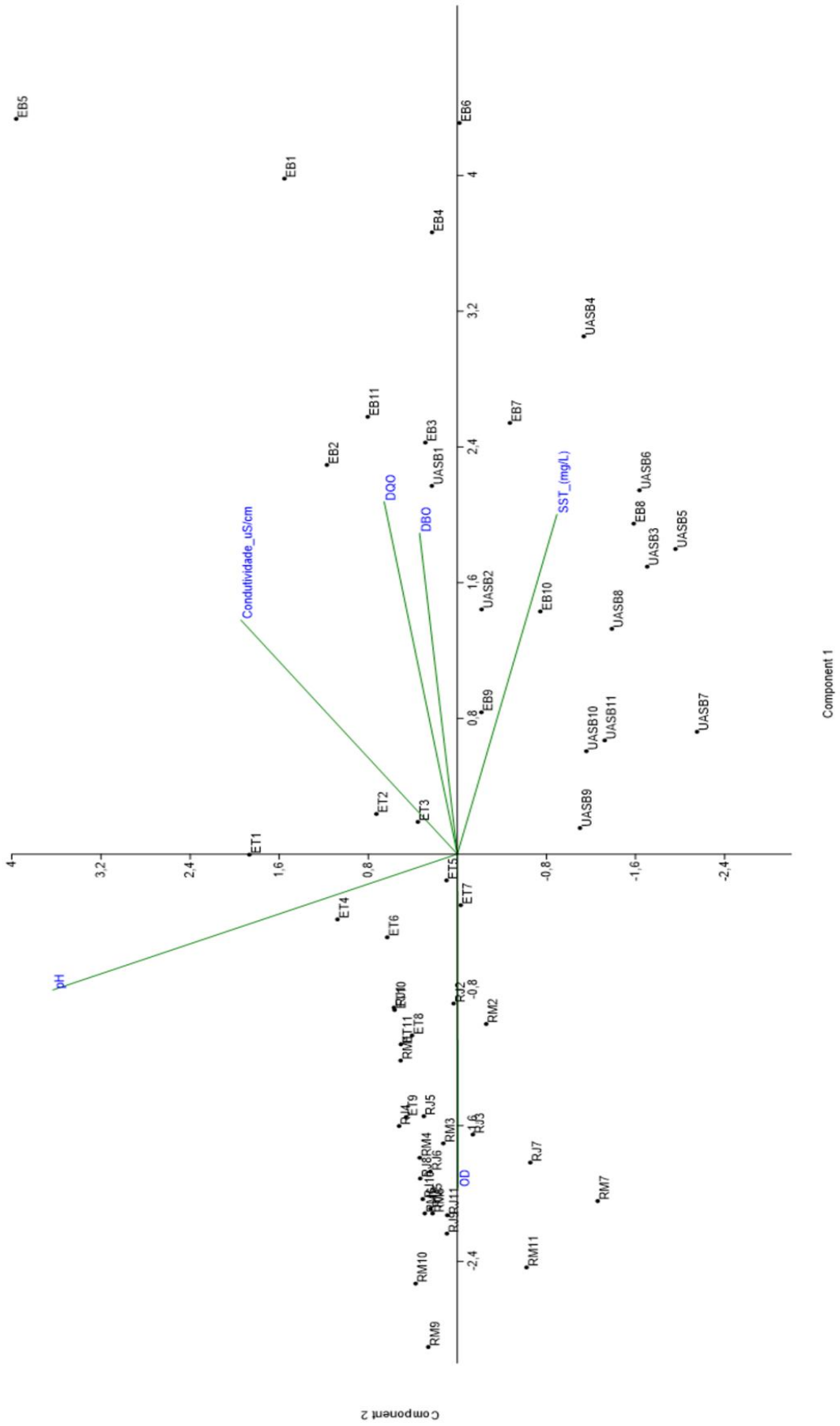
**Figura 3** - Valores de (a) pH; (b) condutividade; (c) Sólidos Suspensos Totais (SST), (d) Oxigênio Dissolvido (OD); (e) Demanda Química de Oxigênio (DQO); (f) Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO). Linha tracejada vermelha indica a mudança da estação seca para a chuvosa. EB: Efluente Bruto; UASB: Upflow Anaerobic Sludge Blanket (Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente); ET: Efluente Tratado; RM: Rio a Montante do local de deposição do ET; RJ: Rio a Jusante do local de deposição do ET.

O EB foi o ponto em que os Sólidos Suspensos Totais foram mais concentrados com média de  $183 \pm 58,2$  mg/L, seguidos de UASB com valor médio de  $154 \pm 50$  mg/L, ET com  $45 \pm 17,4$  mg/L, RJ com  $30,4 \pm 18,9$  mg/L e RM com a menor massa de sólidos no valor de  $26,4 \pm 20,4$  mg/L. A taxa de remoção de sólidos pela ETE foi de 75,41% e a deposição de ET no rio aumentou em média 15,15%. Nas duas primeiras análises, a massa de SST do RM e RJ foi superior à do ET, isto também deve ter ocorrido em função do rio ter recebido esgoto sem tratamento, com grande carga de sólidos. Após o retorno do funcionamento normal do emissário, a massa de SST diminuiu no rio.

Os valores de OD são inversamente proporcionais a DQO e DBO. Os maiores valores de OD foram do RM ( $7,38 \pm 1,18$  mg/L), seguidos por RJ ( $6,96 \pm 0,89$  mg/L), ET ( $5,71 \pm 1,65$  mg/L), UASB ( $3,01 \pm 1,67$  mg/L) e a medida mais baixa foi a de EB ( $2,22 \pm 2,05$  mg/L). Observa-se que a ordem inversa de valores acontece com DQO e DBO: EB com  $460,74 \pm 138,0$  mg/L e  $211,50 \pm 53,6$  mg/L, UASB com  $280,34 \pm 84,5$  mg/L e  $82,01 \pm 37,0$  mg/L, ET com  $166,81 \pm 47,7$  mg/L e  $46,29 \pm 23,4$  mg/L, RJ com  $75,65 \pm 31,7$  mg/L e  $18,88 \pm 7,7$  mg/L e por último, com os menores valores RM com  $59,62 \pm 36,0$  mg/L e  $12,42 \pm 7,05$  mg/L.

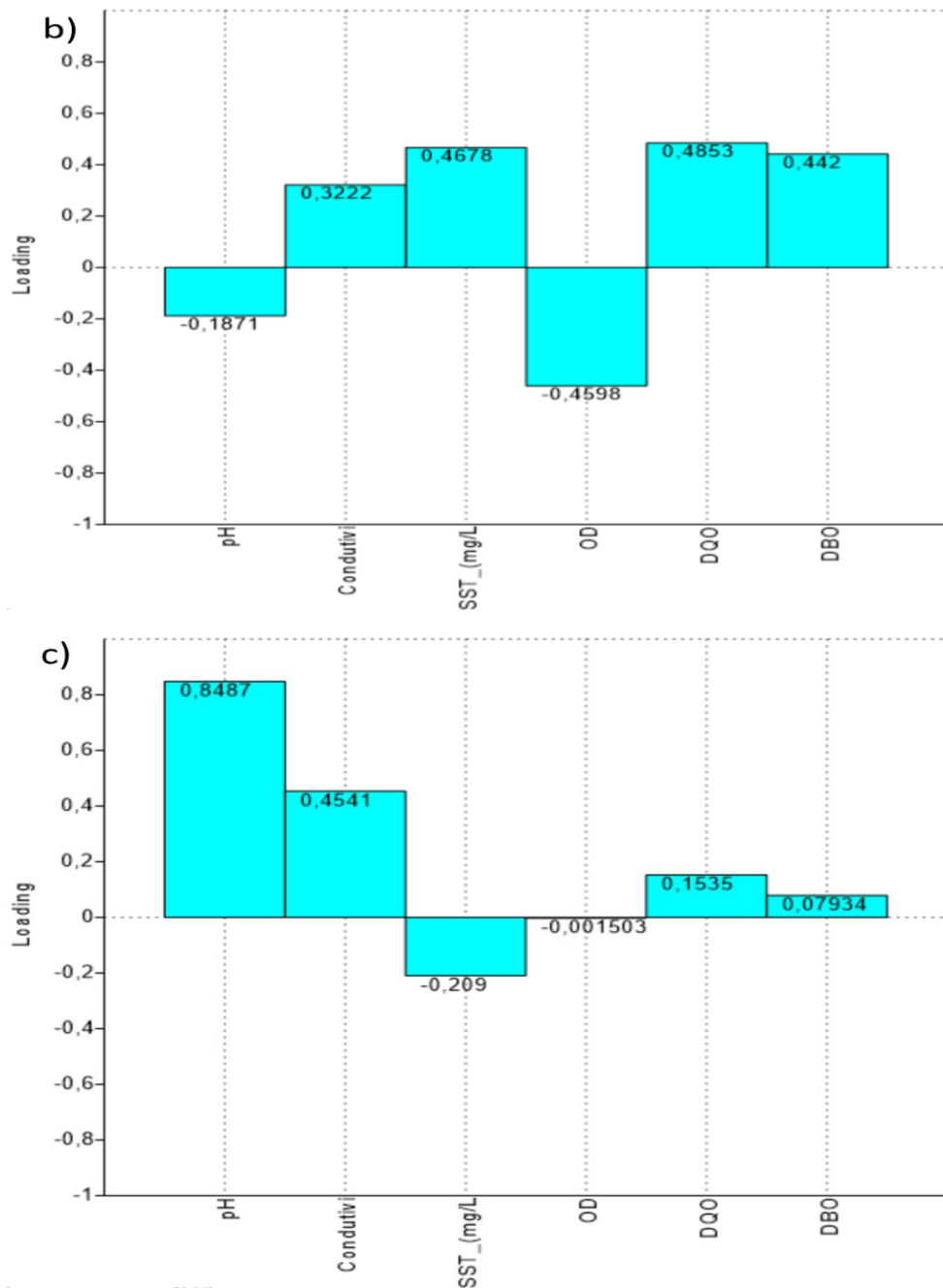
Para avaliar a semelhança entre os pontos com base em suas características físico-químicas, a análise de componentes principais (ACP) foi realizada (Figura 4). De acordo com a distribuição dos pontos na ACP, podemos

observar que a separação foi mais relacionada ao ponto amostral do que ao período. Alguns fatores contribuíram para a separação dos pontos: ao considerar a CP1 (eixo x), percebemos tendência de separação dos pontos que apresentam os maiores valores de DBO (0,44), DQO (0,49) e SST (0,47) e os menores valores de OD (-0,46) em relação aos demais. Já na CP2 (eixo Y), os níveis de pH e condutividade foram os que mais contribuíram para os agrupamentos (loading de 0,85 e 0,45, respectivamente). Pode ser observado um grupo no quadrante superior à direita do eixo X formado pelas amostras de EB que apresentam as maiores concentrações de Condutividade, DBO e DQO, e no quadrante inferior de amostras do reator UASB com maiores valores de SST. Por outro lado, no lado oposto do eixo pode ser observado grupo formado pelas amostras de ET, RM e RJ com maiores concentrações de OD e maiores valores de pH. Na análise é percebido também correlação positiva entre as variáveis SST com DQO ( $r=0,882$ ,  $pvalue=6,46 \times 10^{-19}$ ) e DBO ( $r=0,822$ ,  $pvalue=1,37 \times 10^{-14}$ ); entre DBO e DQO ( $r=0,893$ ,  $pvalue=5 \times 10^{-20}$ ) e negativa entre SST e OD ( $r=-0,830$ ,  $pvalue=4,6 \times 10^{-15}$ ) e entre OD e DQO ( $r=0,852$ ,  $pvalue=1,63 \times 10^{-16}$ ) e DBO ( $r=0,693$ ,  $pvalue=4,4 \times 10^{-9}$ ).



Component 2

Component 1

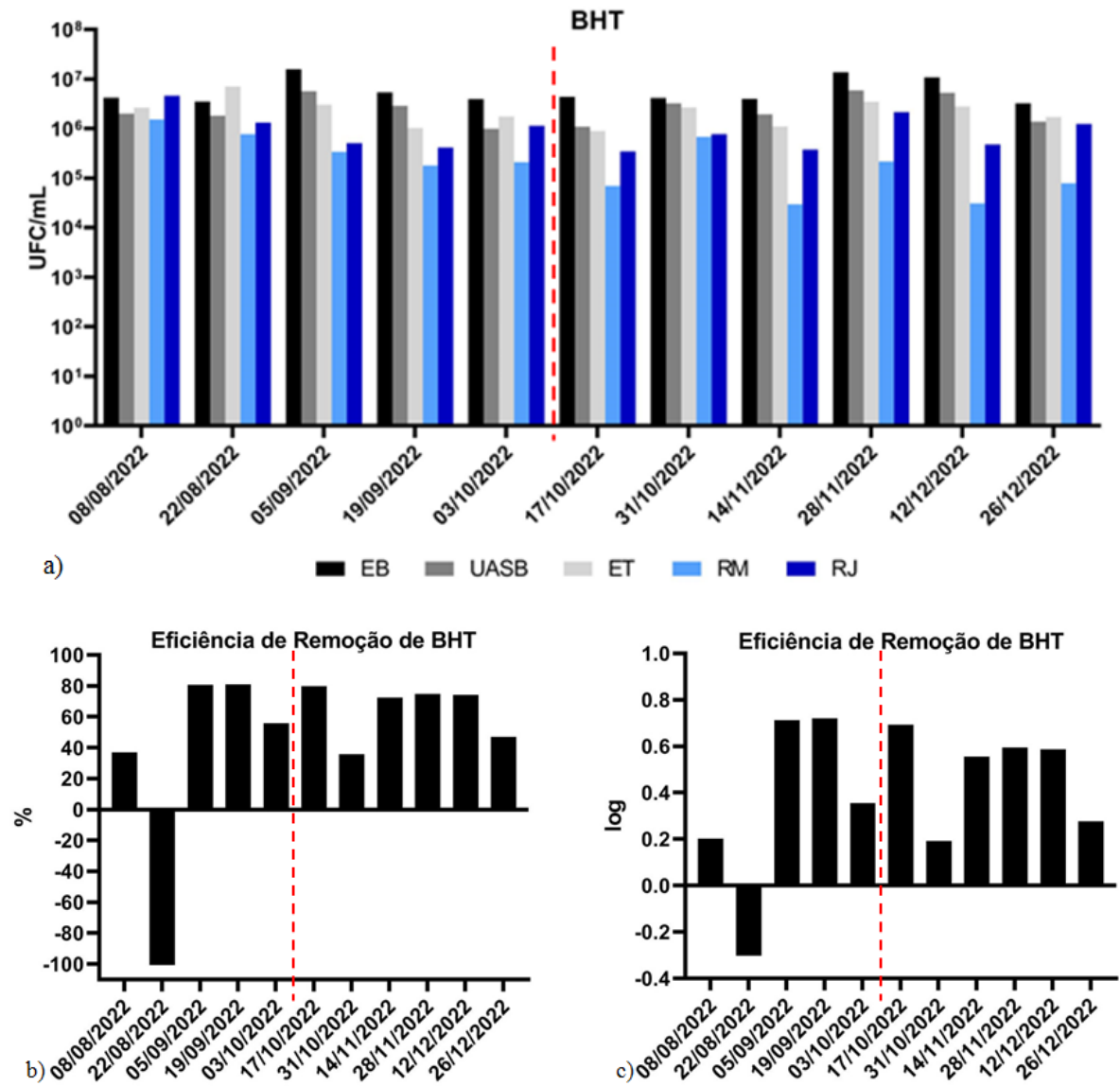


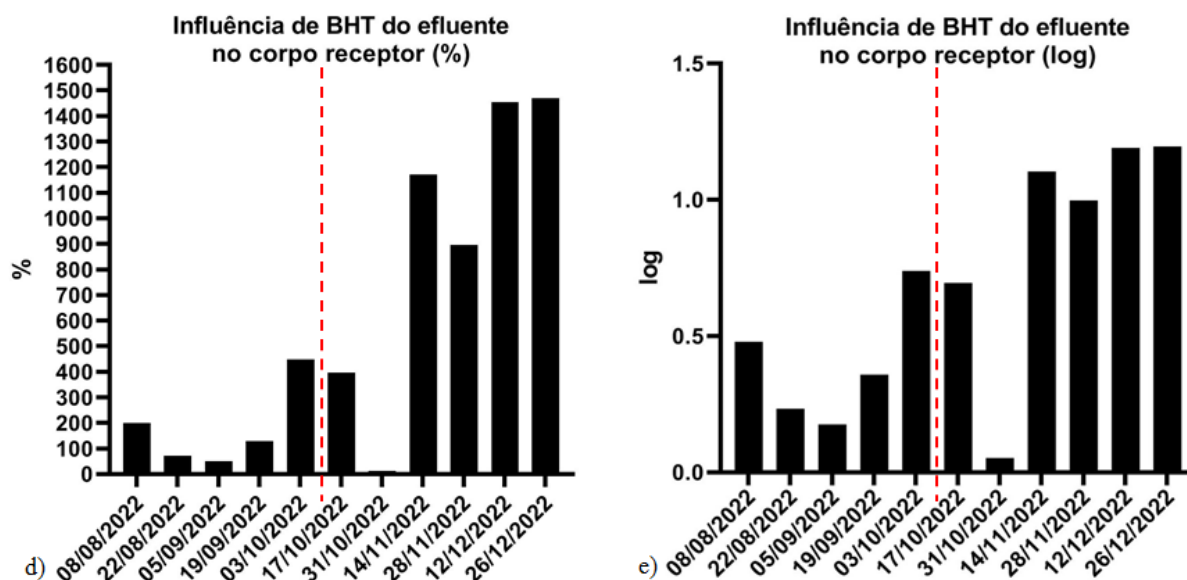
**Figura 4.** Análise de Componente Principal dos fatores físico químicos das amostras coletadas nos diferentes pontos da ETE Onça e corpo receptor do efluente tratado. a) Diagram de Scatter, b) Loadings da CP1 e c) da CP2. EB: Efluente Bruto; UASB: Upflow Anaerobic Sludge Blanket (Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente); ET: Efluente Tratado; RM: Rio a Montante do local de deposição do ET; RJ: Rio a Jusante do local de deposição do ET. SST: Sólidos Suspensos Totais. OD: Oxigênio Dissolvido. DQO: Demanda Química de Oxigênio. DBO: Demanda Bioquímica de Oxigênio.

## 5.2. CARACTERIZAÇÃO DE PARÂMETROS BIOLÓGICOS NAS AMOSTRAS EM ESTUDO.

### 5.2.1. Densidade de bactérias heterotróficas totais.

As densidades de BHT nos diferentes pontos de coleta ao longo do período de estudo, as taxas de remoção da ETE e o impacto do efluente no corpo receptor estão apresentadas na Figura 5.





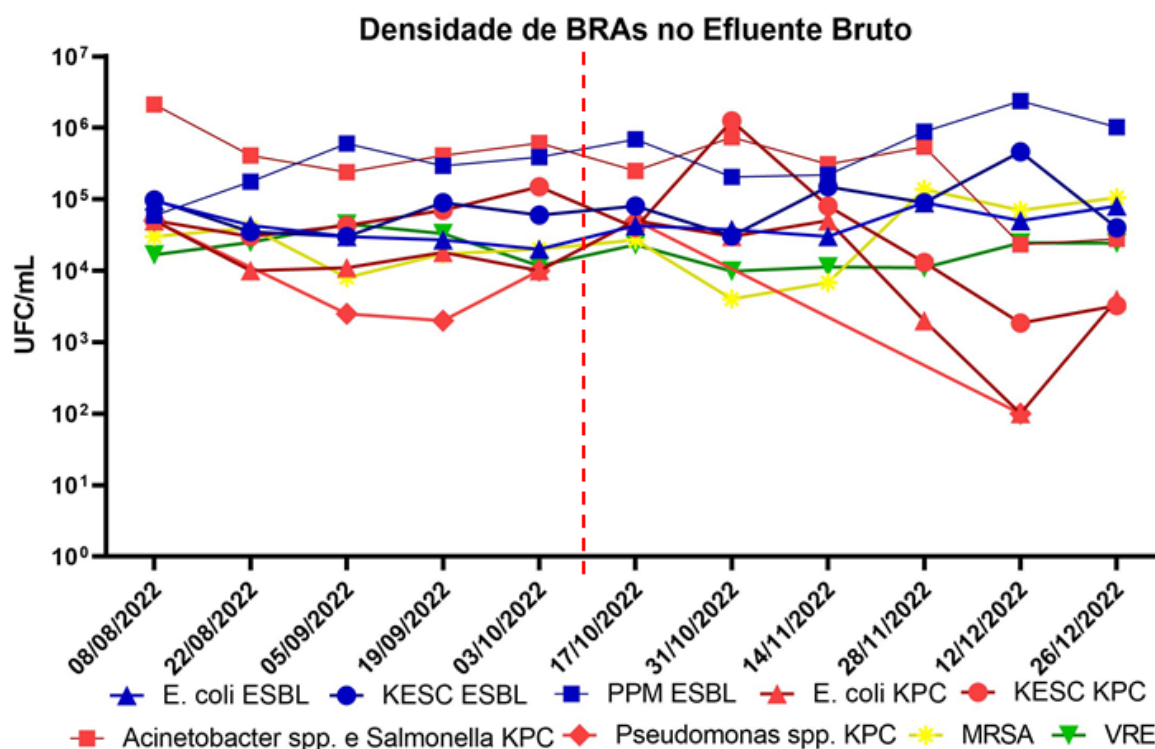
**Figura 5:** (a) Distribuição temporal de BHT nas amostras coletadas ao longo da ETE e no rio que recebe o efluente doméstico tratado entre os meses de Agosto a Dezembro de 2022. (b) Eficiência relativa de remoção de BHT pela ETE. (c) Eficiência de remoção de BHT pela ETE em log. (d) Acréscimo de BHT após a deposição de ET no corpo receptor em %. (e) Acréscimo de BHT após a deposição de ET no corpo receptor em log. Linha tracejada vermelha indica a mudança da estação seca para a chuvosa. EB: Efluente Bruto; UASB: Upflow Anaerobic Sludge Blanket (Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente); ET: Efluente Tratado; RM: Rio a Montante do local de deposição do ET; RJ: Rio a Jusante do local de deposição do ET.

As densidades de BHT variaram com o ponto e época de coleta. No geral, diminuíram ao longo do tratamento, sendo que as amostras de EB apresentaram densidades variando de  $3,25 \times 10^6$  a  $1,57 \times 10^7$  UFC/mL (Média de  $6,66 \times 10^6$  UFC/mL), no ponto da UASB, oscilou de  $9,9 \times 10^5$  a  $5,9 \times 10^6$  UFC/mL (Média de  $2,93 \times 10^6$ ), e no ET variou de  $8,9 \times 10^5$  a  $7,1 \times 10^6$  UFC/mL (Média de  $2,57 \times 10^6$  UFC/mL). Por sua vez, a média da eficiência de remoção de BHT na ETE foi de 48,86%, variando de 35,73-81,00%. A redução em log foi em média 0,417 log, variando de 0,193-0,721 log durante o período estudado. Ocorreu um *outlier* no dia 22/08 em que o ET teve densidade de BHT cerca de duas vezes maior que o EB, correspondendo a  $7,10 \times 10^6$  UFC/mL e  $3,54 \times 10^6$  UFC/mL, respectivamente. Desconsiderando este ponto, a média de remoção aumentou para 63,80% ou 0,49 log. Este aumento de carga microbiana após o tratamento pode estar associada ao aumento da vazão de entrada do esgoto na ETE que ocorreu pela volta do funcionamento de parte do sistema de captação, que se encontrava em obras. Na ocasião, a concentração de SST foi de 77 mg/L, 83,3% maior que a anterior de 42 mg/L. Nessa data, a remoção de SST pela ETE foi de 59,89%, valor 19,65% menor que a anterior de 74,54%.

Já nas águas do corpo receptor, as amostras coletadas a montante do local de deposição de efluente apresentaram densidades de BHT entre  $2,96 \times 10^4$  e  $1,53 \times 10^6$  UFC/mL, com média de  $3,76 \times 10^5$  UFC/mL, menores que as coletadas a jusante, que variaram de  $3,47 \times 10^5$  a  $4,60 \times 10^6$  UFC/mL, com média de  $1,21 \times 10^6$  UFC/mL. A média de acréscimo de BHT após a deposição de efluente no rio foi de 572,33% e 0,66 log, com destaque para as coletas realizadas em Dezembro, em que a diferença RJ em relação ao RM foi de 1453% que corresponde a 1,190 log e 1469% que corresponde a 1,196 log. A menor taxa de acréscimo de 13,24% e 0,053 log ocorreu na coleta de 31/10/2022, dia em que as chuvas estavam intensas. As maiores densidades amostradas observadas no RM aconteceram nas primeiras coletas, quando o braço coletor do esgoto ainda estava em manutenção e o rio estava recebendo grande carga de efluente bruto da cidade de Belo Horizonte. Se considerarmos as duas primeiras coletas como *outliers* e excluirmos estes pontos, devido à influência do efluente bruto afetar a densidade de bactérias no rio, teremos então médias de  $2,04 \times 10^5$  UFC/mL para o RM e  $8,26 \times 10^5$  UFC/mL para o RJ, com diminuição de 0,098 log na média. No período seco, as médias das densidades foram de  $6,06 \times 10^5$  UFC/mL para RM e  $1,6 \times 10^6$  UFC/mL em RJ, considerando as duas primeiras coletas (*outliers*),  $2,43 \times 10^5$  UFC/mL no RM e  $6,9 \times 10^5$  UFC/mL no RJ, sem a inclusão destes pontos. Além disso, as menores densidades das amostras de rio aconteceram após o estabelecimento do período chuvoso. As médias de BHT após o início da estação de chuvas foram de  $1,84 \times 10^5$  UFC/mL para o RM e  $8,94 \times 10^5$  UFC/mL para o RJ.

### 5.2.2. Densidade de Bactérias Resistentes a Antimicrobianos (BRA)

As densidades de BRA ao longo do período experimental nas amostras estudadas estão apresentadas na Figura 6.

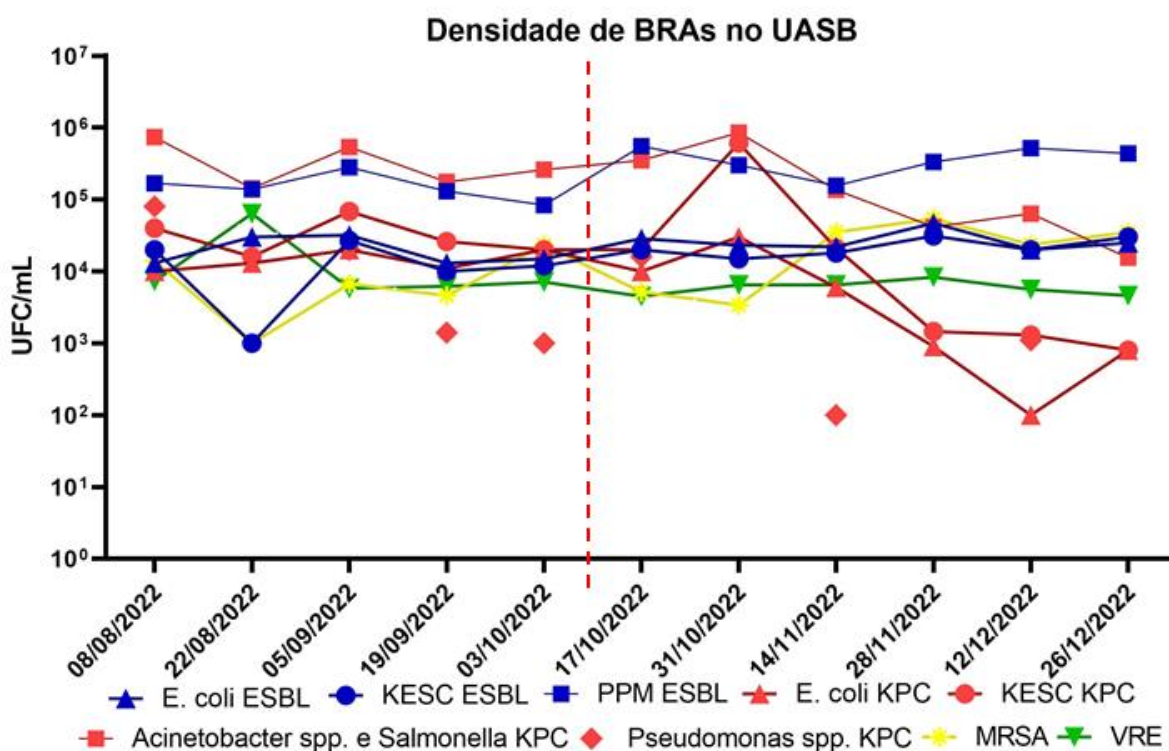


**Figura 6:** Densidade de BRA no Efluente Bruto. Linha tracejada vermelha indica a mudança da estação seca para a chuvosa. ESBL: grupo de bactérias produtoras de Beta-lactamase de espectro estendido; KPC: grupo de bactérias produtoras de Carbapenemases. KESC: *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp.. PPM: *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp.. SCNRM: *Staphylococcus* coagulase negativa resistente à metilina. VRE: *Enterococcus* spp. resistente à Vancomicina.

Na amostra de EB, como mostrado na Figura 6, *E. coli* produtora de ESBL manteve-se dentro da faixa de  $10^4$  UFC/mL, de  $2 \times 10^4$  a  $9,5 \times 10^4$ , com média  $4,95 \times 10^4$  UFC/mL ao longo dos meses; o grupo KESC ESBL variou entre  $3 \times 10^4$  e  $4,6 \times 10^5$  UFC/mL, com média de  $1,06 \times 10^5$ ; já o grupo PPM ESBL apresentou contagens maiores, que variaram de  $5,9 \times 10^4$  a  $2,38 \times 10^6$  UFC/mL, com média  $6,28 \times 10^6$ . Para bactérias produtoras de KPC, *E. coli* e *Pseudomonas* spp. apresentaram as menores contagens. A densidade de *E. coli* KPC variou entre  $1 \times 10^4$  e  $5 \times 10^4$  UFC/mL, sendo a média  $2,14 \times 10^4$  enquanto a de KESC KPC variou de  $1,85 \times 10^3$  a  $1,25 \times 10^6$  UFC/mL, com média de  $1,57 \times 10^5$  UFC/mL. *Acinetobacter* spp. e *Salmonella* spp. produtoras de carbapenemase variaram de  $2,33 \times 10^4$  a  $2,12 \times 10^6$  UFC/mL, com média de  $5,17 \times 10^5$  UFC/mL. *Pseudomonas* spp. não foi detectada em todas coletas, das amostras em que foi possível sua detecção, dias 08/Ago, 05 e 19/Set, 03 e 17/Out e 12/Dez, a densidade variou de  $1 \times 10^2$  a  $5 \times 10^4$  UFC/mL, com

média de  $1,91 \times 10^4$  UFC/mL. A densidade de *Staphylococcus* coagulase negativa resistentes à Meticilina variou entre  $4 \times 10^3$  e  $1,37 \times 10^5$  UFC/mL, com média de  $4,23 \times 10^4$  UFC/mL. VRE variou de  $9,8 \times 10^3$  a  $4,5 \times 10^4$  UFC/mL, com média  $2,14 \times 10^4$  UFC/mL.

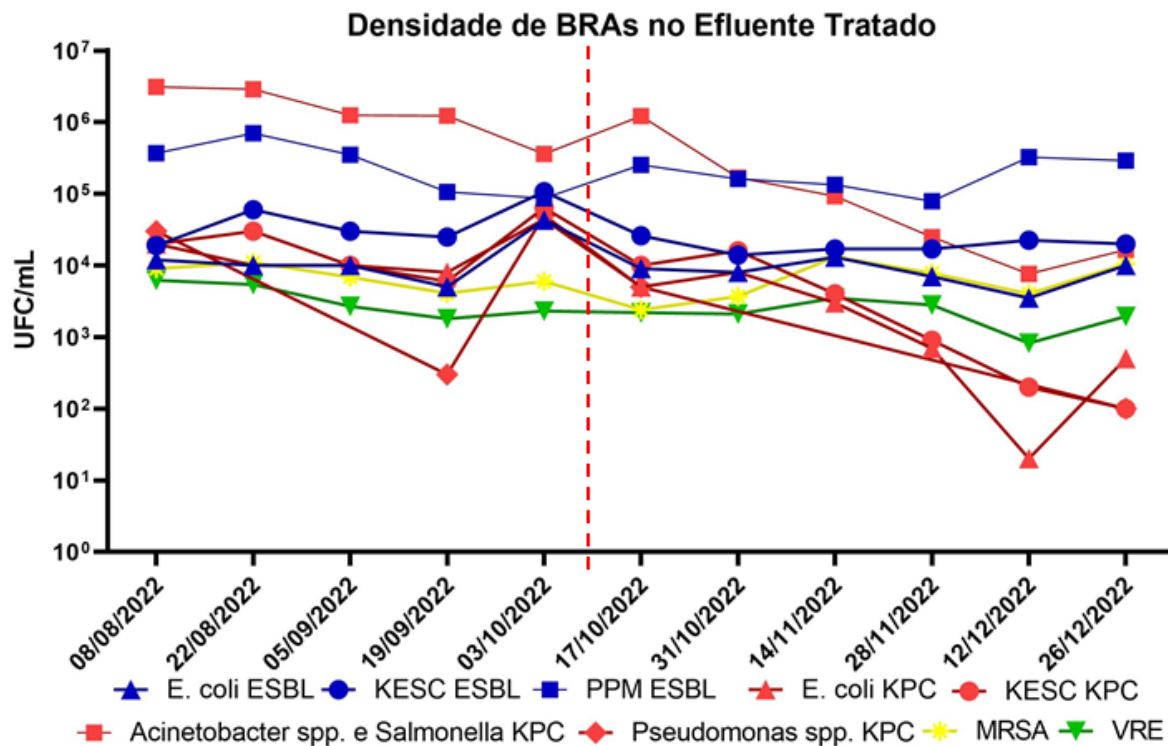
De todos os grupos de BRA, PPM ESBL foi grupo com a maior densidade, com média de  $6,25 \times 10^5$  UFC/mL e a menor densidade foi de *Pseudomonas* spp. KPC com densidade média de  $1,91 \times 10^4$  UFC/mL. Para bactérias produtoras de KPC, incluindo *Pseudomonas* spp. e *E. coli*, houve um decréscimo nas últimas coletas, no período em que as chuvas estavam mais intensas.



**Figura 7:** Densidade de BRA no UASB. Linha tracejada vermelha indica a mudança da estação seca para a chuvosa. ESBL: grupo de bactérias produtoras de Beta-lactamase de espectro estendido; KPC: grupo de bactérias produtoras de Carbapenemases. KESC: *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp.. PPM: *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp.. SCNRM: *Staphylococcus* coagulase negativa resistente à metilina. VRE: *Enterococcus* spp. resistente à Vancomicina.

Na amostra de UASB, *E. coli* produtora de ESBL manteve-se entre  $1,3 \times 10^4$  e  $4,7 \times 10^4$  UFC/mL, com média de  $2,44 \times 10^4$ . KESC ESBL variou de  $1 \times 10^3$  e  $3,10 \times 10^4$  UFC/mL, com média de  $1,85 \times 10^4$  UFC/mL. PPM ESBL teve a menor

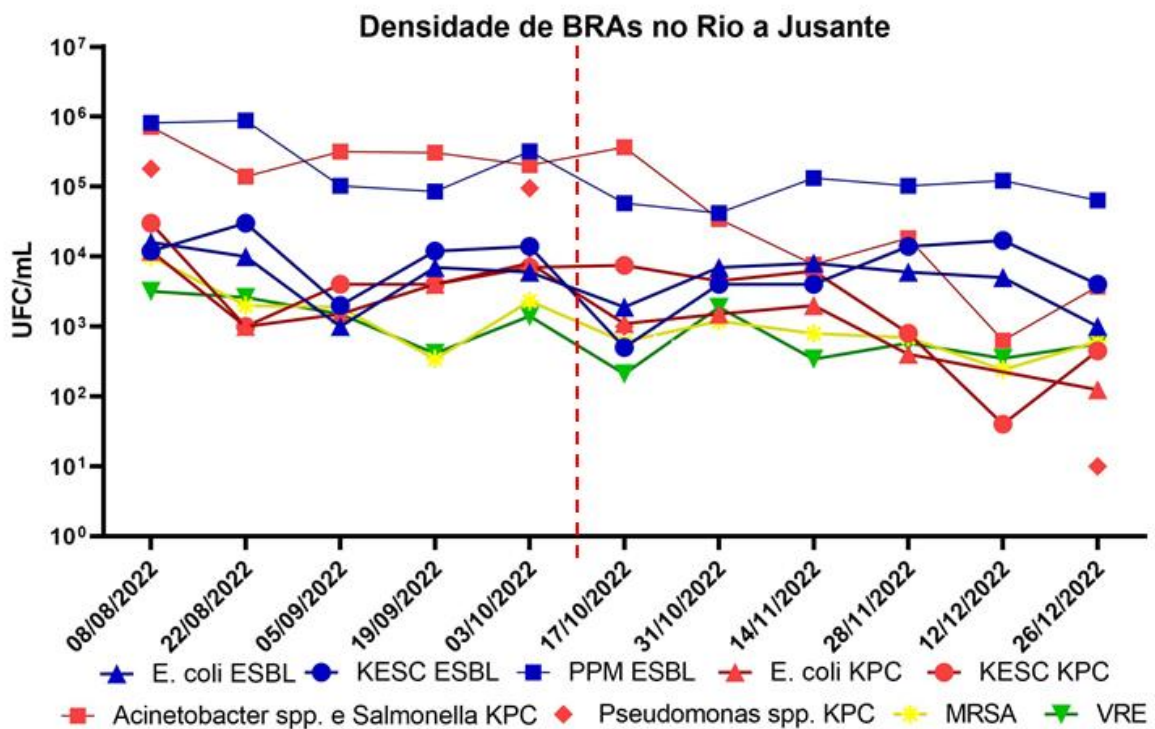
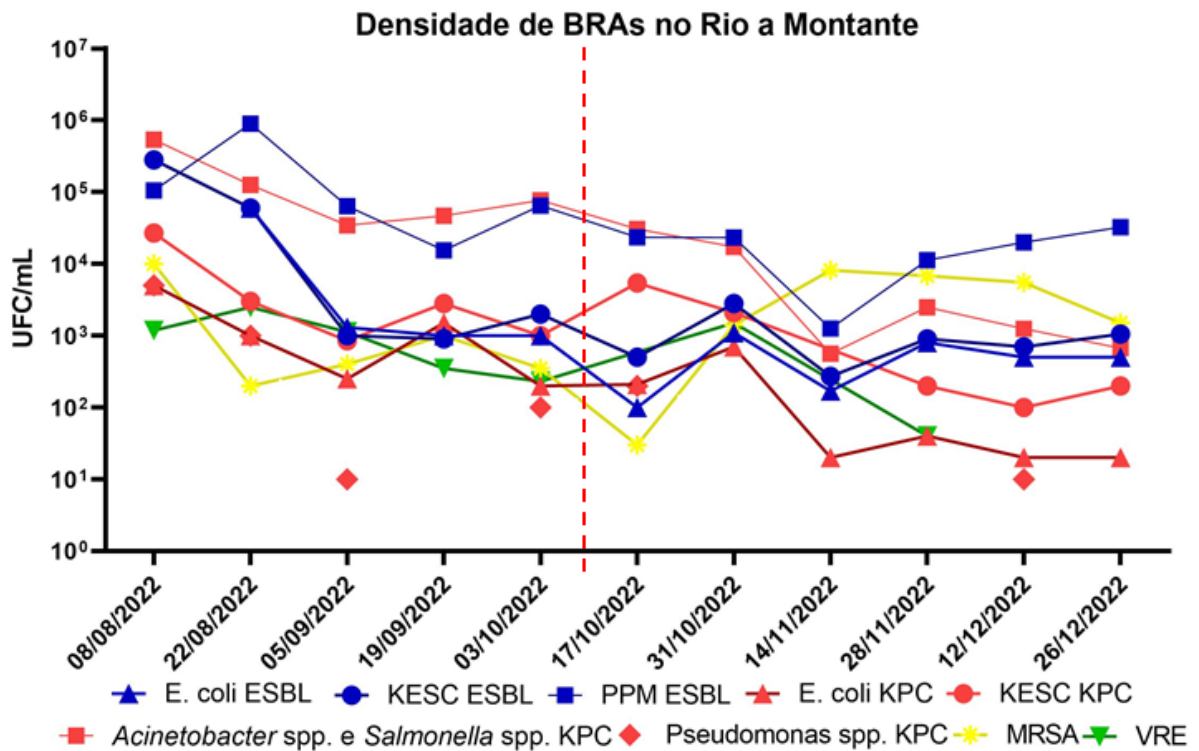
densidade maior contagem de  $8,4 \times 10^4$  UFC/mL e a maior de  $5,50 \times 10^5$  UFC/mL, com média de  $2,82 \times 10^5$  UFC/mL. A densidade de *E. coli* KPC oscilou entre  $1 \times 10^2$  e  $3 \times 10^4$  UFC/mL, equivalente a diferença de duas escalas logarítmicas, com média de  $1,11 \times 10^4$  UFC/mL. KESC KPC também apresentou uma alta variação na densidade, que foi de  $8 \times 10^2$  a  $6,1 \times 10^5$  UFC/mL, com média de  $7,5 \times 10^4$  UFC/mL. *Acinetobacter* spp. e *Salmonella* produtoras de KPC variaram de  $1,55 \times 10^4$  a  $8,5 \times 10^5$  UFC/mL, com densidade média de  $3,01 \times 10^5$  UFC/mL. *Pseudomonas* spp. não foi detectada em todas as coletas, mas das amostras em que foram detectadas (dias 08/Ago, 05 e 19/Set, 03 e 17/Out, 01/Nov e 12/Dez, a maior contagem foi de  $8 \times 10^4$  e a menor de  $1 \times 10^2$  UFC/mL com densidade média de  $1,71 \times 10^4$  UFC/mL. *Staphylococcus* coagulase negativa resistentes à Meticilina foi de  $1 \times 10^3$  a  $5,4 \times 10^4$  UFC/mL, com média de densidade de  $1,87 \times 10^4$  UFC/mL. Por fim, VRE variou de  $4,5 \times 10^3$  a  $6,4 \times 10^4$  UFC/mL, com densidade média de  $1,15 \times 10^4$  UFC/mL. Neste ponto, o grupo de BRA com maior densidade média foi *Acinetobacter* spp. e *Salmonella* spp. KPC e a menor foi a *E. coli* KPC, diferindo do que ocorreu no Efluente Bruto.



**Figura 8:** Densidade de BRA no Efluente Tratado. Linha tracejada vermelha indica a mudança da estação seca para a chuvosa. ESBL: grupo de bactérias produtoras de Beta-lactamase de espectro estendido; KPC: grupo de bactérias produtoras de Carbapenemases. KESC: *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp.. PPM: *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella*

spp.. SCNRM: *Staphylococcus* coagulase negativa resistente à meticilina. VRE: *Enterococcus* spp. resistente à Vancomicina.

No Efluente Tratado, o perfil também divergiu em relação aos pontos anteriores. *E. coli* produtoras de ESBL, a variação da densidade foi de  $5 \times 10^3$  a  $4,3 \times 10^4$  UFC/mL, com média de  $1,19 \times 10^4$  UFC/mL. O grupo KESC ESBL variou de  $1,4 \times 10^4$  a  $1,07 \times 10^5$  UFC/mL, com média de  $3,25 \times 10^4$  UFC/mL. PPM produtoras de ESBL tiveram densidades de  $7,9 \times 10^4$  a  $7 \times 10^5$  UFC/mL, com média de  $2,6 \times 10^5$  UFC/mL. No grupo de bactérias produtoras de carbapenemases, *E. coli* apresentou uma oscilação maior, que foi de  $2,0 \times 10^1$  a  $4,4 \times 10^4$  UFC/mL, com média de  $9,93 \times 10^3$  UFC/mL. KESC apresentou densidades de  $1,0 \times 10^2$  até  $6,4 \times 10^4$  UFC/mL, com média de  $1,47 \times 10^4$  UFC/mL. *Acinetobacter* spp. e *Salmonella* tiveram a menor densidade no valor de  $7,6 \times 10^3$  UFC/mL e a maior de  $3,12 \times 10^6$  UFC/mL, com média de  $9,44 \times 10^5$  UFC/mL, também com grande variação. *Pseudomonas*, assim como nos pontos anteriores, não foi detectada em todas as coletas. Contudo, variou de  $1,0 \times 10^2$  a  $5 \times 10^4$  UFC/mL, com média de  $1,71 \times 10^4$  UFC/mL. *Staphylococcus* coagulase negativa resistentes à Meticilina variou de  $2,4 \times 10^3$  a  $1,32 \times 10^4$  UFC/mL, apresentando média de  $7,14 \times 10^4$  UFC/mL. VRE apresentou a menor contagem no valor de  $8,2 \times 10^2$  UFC/mL e a maior de  $6,2 \times 10^3$  UFC/mL, com média de  $2,89 \times 10^3$  UFC/mL, que foi a menor média de densidade de todos os grupos microbianos nas amostras de ET. Por outro lado, a maior densidade média foi do grupo de *Acinetobacter* spp. e *Salmonella* spp. produtoras de KPC.



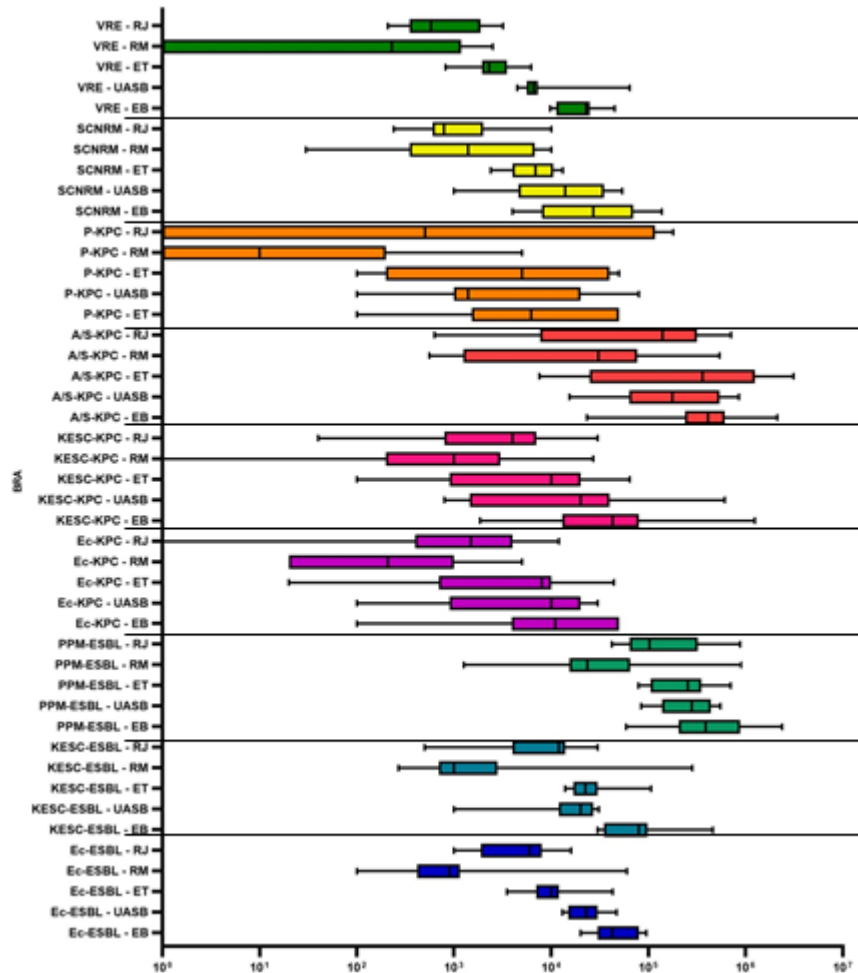
**Figura 9:** (a) Densidade de BRA no Rio a Montante do local de deposição de efluente tratado. (b) Densidade de BRA no Rio a Jusante do local de deposição de efluente tratado. Linha tracejada vermelha indica a mudança da estação seca para a chuvosa. ESBL: grupo de bactérias produtoras de Beta-lactamase de espectro estendido; KPC: grupo de bactérias produtoras de Carbapenemases. KESC: *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp.. PPM: *Proteus* spp.,

*Providencia* spp., *Morganella* spp.. SCNRM: *Staphylococcus* coagulase negativa resistente à meticilina. VRE: *Enterococcus* spp. resistente à Vancomicina.

Na amostra de RM, a primeira coleta não foi detectada a presença de *E. coli* ESBL pela clonagem de outros morfotipos que impediram a sua discriminação. Como demonstrado na Figura 9a, nas demais coletas, a variação de *E. coli* ESBL foi de  $1 \times 10^2$  a  $6 \times 10^4$  UFC/mL, com média de crescimento de  $6,65 \times 10^3$  UFC/mL. KESC ESBL variou de  $2,70 \times 10^2$  a  $2,82 \times 10^5$  UFC/mL, com média de  $3,2 \times 10^4$  UFC/mL. PPM ESBL variou de  $1,26 \times 10^3$  a  $9 \times 10^5$  UFC/mL, com média de  $1,15 \times 10^5$  UFC/mL. *E. coli* produtora de carbapenemase oscilou de  $2 \times 10^1$  a  $5 \times 10^3$  UFC/mL, com média de  $8,15 \times 10^2$  UFC/mL. KESK KPC variou de 0 a  $2,7 \times 10^4$  UFC/mL, tendo média de  $3,88 \times 10^3$  UFC/mL. *Acinetobacter* spp. e *Salmonella* spp. variaram de  $5,6 \times 10^2$  a  $5,4 \times 10^5$  UFC/mL, apresentando média de  $7,98 \times 10^4$  UFC/mL. *Pseudomonas* spp. KPC variaram de 0 a  $5 \times 10^3$  UFC/mL, com média de  $5,75 \times 10^2$  UFC/mL. *Staphylococcus* coagulase negativa resistentes à Meticilina foi de  $3 \times 10^1$  a  $1 \times 10^4$  UFC/mL, com média de contagem de  $3,21 \times 10^3$  UFC/mL. Em algumas coletas, VRE não apresentou crescimento, sendo o limite de detecção  $<10$  UFC/mL. Com isso, as contagens variaram de 0 ( $<10$  UFC/mL) a  $2,5 \times 10^3$  UFC/mL, com densidade média de  $6,32 \times 10^2$ . A maior densidade encontrada foi do grupo PPM ESBL e a menor de *Pseudomonas* spp. KPC. Após o início da estação chuvosa, houve a diminuição da densidade de BRA dos diversos grupos bacterianos, exceto de *Staphylococcus* spp. resistente à Meticilina, que se manteve estável. Além disso, as duas primeiras amostras também podem ser consideradas *outliers*, assim como o ocorrido em BHT. Nestas amostras, estão as maiores densidades de BRA devido a porção de efluente bruto que estava caindo no rio na ocasião da obra.

Na Figura 9b, podemos ver *E. coli* produtora de ESBL com variações de  $1 \times 10^3$  a  $1,6 \times 10^4$  UFC/mL, e média de  $6,26 \times 10^3$  UFC/mL. KESC ESBL variaram de  $5 \times 10^2$  a  $3 \times 10^4$  UFC/mL, com média de  $1,03 \times 10^4$  UFC/mL. A menor contagem de PPM ESBL foi de  $4,2 \times 10^4$  UFC/mL enquanto a maior foi de  $8,8 \times 10^5$  UFC/mL, com média de  $2,48 \times 10^5$  UFC/mL. No meio de cultura para bactérias resistentes a carbapenêmicos, *E. coli* variou de 0 a  $1,20 \times 10^4$  UFC/mL, com média de crescimento de  $2,88 \times 10^3$  UFC/mL. Já KESC foi de  $4 \times 10^1$  a  $3 \times 10^4$  UFC/mL, com média de  $5,95 \times 10^3$  UFC/mL. *Acinetobacter* spp e *Salmonella* spp. KPC variaram de  $6,3 \times 10^2$  a  $7,10 \times 10^5$  UFC/mL, com média de  $1,92 \times 10^5$  UFC/mL. *Pseudomonas* spp. variou de 0

a  $1,8 \times 10^5$  UFC/mL, com média de  $4,61 \times 10^4$  UFC/mL. *Staphylococcus* coagulase negativa resistentes à Meticilina variou de  $2,4 \times 10^2$  a  $1 \times 10^4$  UFC/mL, com média de  $1,88 \times 10^3$  UFC/mL. VRE foi de  $2,10 \times 10^2$  a  $3,2 \times 10^3$  UFC/mL, com média de densidade de  $1,19 \times 10^3$  UFC/mL. A maior densidade média também foi de PPM ESBL assim como no RM, e a menor densidade média foi de VRE.

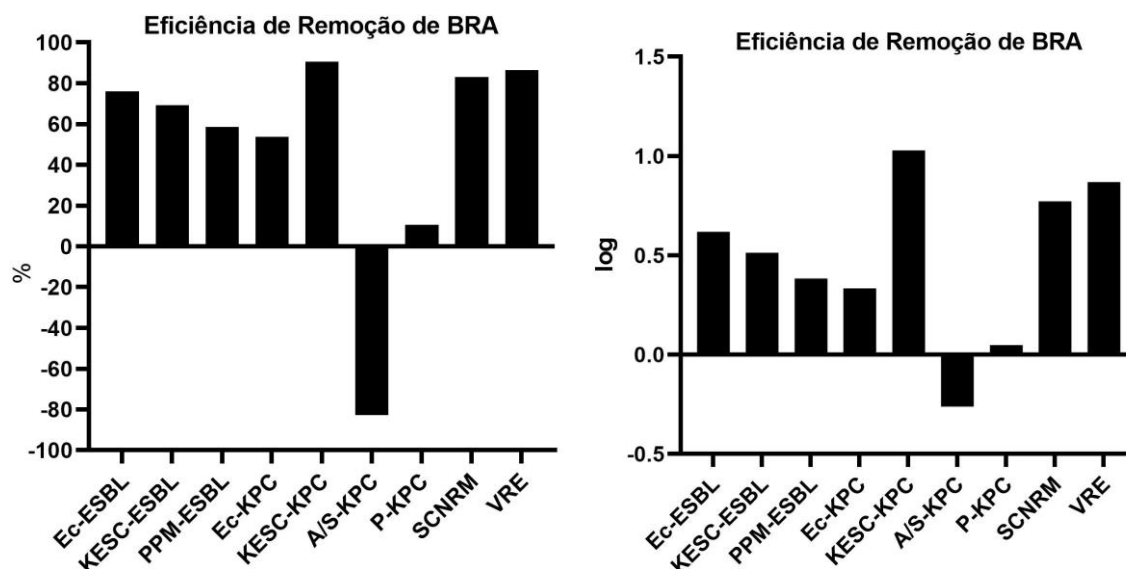


**Figura 10-** Boxplot com as densidades de bactérias resistentes aos antimicrobianos, nos diferentes pontos de coleta. EB: Efluente Bruto; UASB: Reator anaeróbio de fluxo ascendente; ET: Efluente tratado; RM: Rio a Montante do local de deposição do ET; RJ: Rio a Jusante do local de deposição do ET. ESBL: grupo de bactérias produtoras de Beta-lactamase de espectro estendido; KPC: grupo de bactérias produtoras de Carbapenemases. KESC: *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp.. PPM: *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp.. SCNRM: *Staphylococcus* coagulase negativa resistente à meticilina. VRE: *Enterococcus* spp. resistente à Vancomicina.

O gráfico de boxplot representado na Figura 10 mostra a variação média das contagens de BRA nos diferentes pontos de coleta amostrados. Em geral, as

densidades de BRA são maiores no EB, seguido de UASB, ET, RJ e as menores em RM, como esperado por não receber efluente da ETE.

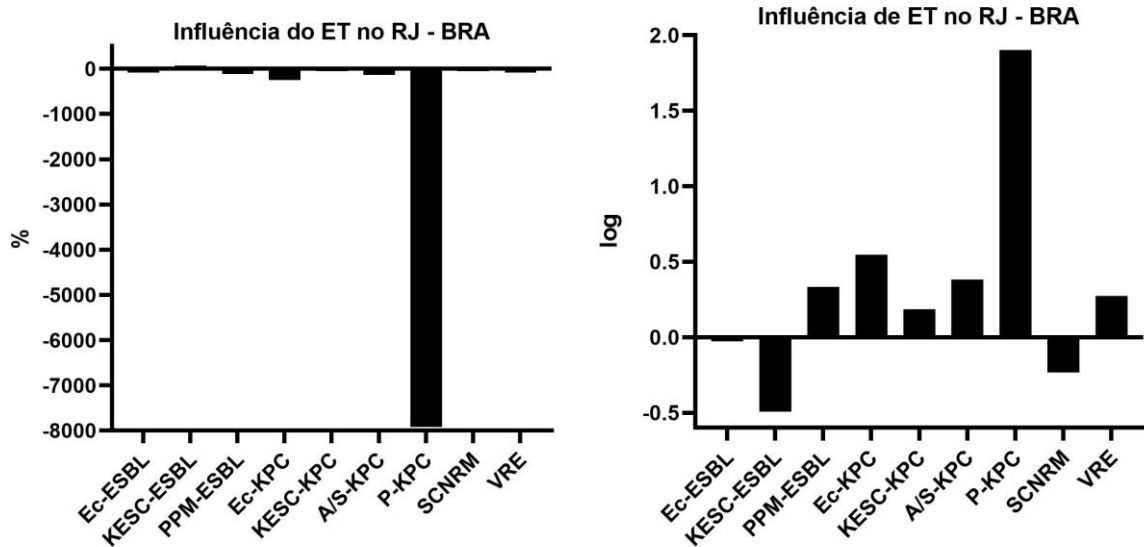
A remoção dos diferentes grupos de BRA, expressa em percentual de UFC/mL e em termos de diminuição no log de UFC/mL, está mostrada na Figura 11. Foi observado que a maior remoção de BRA pela ETE foi de bactérias do grupo KESC produtoras de KPC 90,64% ou 1,029 log e a menor para *Pseudomonas* spp. KPC 10,47% ou 0,049 log. Por outro lado, *Acinetobacter* spp. e *Salmonella* spp. tiveram um acréscimo de 82,6% na densidade (UFC/mL) ao fim do tratamento, correspondente a 0,261 log.



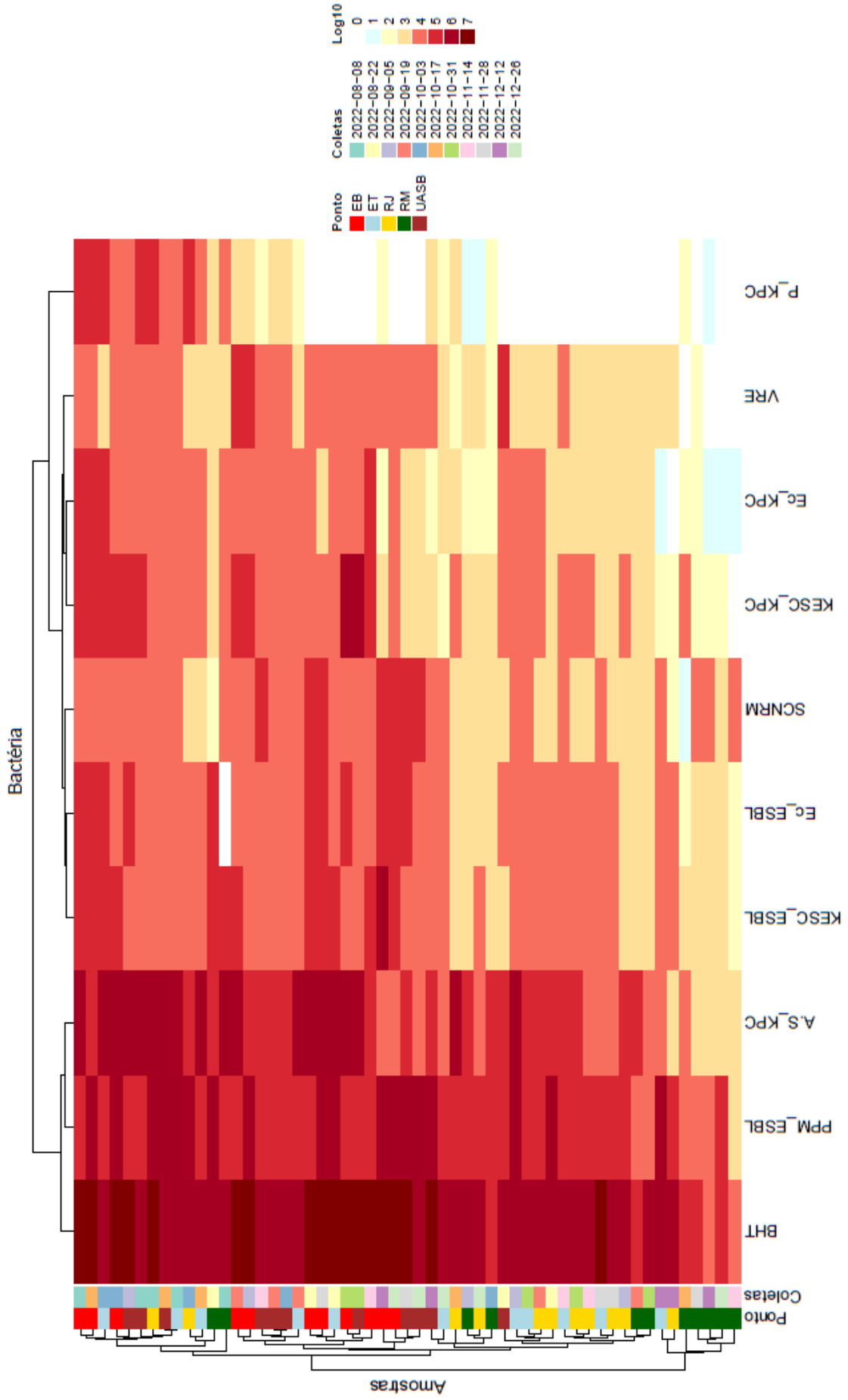
**Figura 11:** (a) Média de eficiência de remoção de BRA da ETE em %. (b) Média de eficiência de remoção de BRA da ETE em Log. ESBL: grupo de bactérias produtoras de Beta-lactamase de espectro estendido; KPC: grupo de bactérias produtoras de Carbapenemases. Ec: *E. coli*. KESC: *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp.. PPM: *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp.. A/S: *Acinetobacter* spp e *Salmonella* spp. SCNRM: *Staphylococcus* coagulase negativa resistente à metilicina. VRE: *Enterococcus* spp. resistente à Vancomicina.

No corpo receptor, e deposição de efluente tratado aumentou em 0,334 log a grupo de PPM ESBL, 0,548 log a densidade de *E. coli* KPC, 0,185 log KESC KPC, 0,382 log para *Acinetobacter* spp e *Salmonella* spp., 1,904 log para *Pseudomonas* spp. KPC e 0,274 log de aumento de VRE. Por outro lado, houve uma redução de 0,026, 0,492 e 0,232 log de *E. coli* ESBL, KESC ESBL e SCNRM, respectivamente. Desconsiderando as duas primeiras rodadas de amostragem, o impacto do efluente tratado no RJ apresentou um perfil diferente: somente SCNRM

apresentou redução na densidade no valor de 0,461 log. A maior influência foi de *Pseudomonas* spp. KPC, que teve um aumento de 2,734 log de UFC/mL na sua densidade. VRE foi o grupo com a menor influência no RJ, com acréscimo de 0,345 log de UFC/mL.



**Figura 12:** (a) Média da influência da deposição de BRA do efluente tratado no RJ em relação ao RM em %. (b) Média da influência da deposição de BRA do efluente tratado no RJ em relação ao RM em Log. ESBL: grupo de bactérias produtoras de Beta-lactamase de espectro estendido; KPC: grupo de bactérias produtoras de Carbapenemases. KESC: *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp.. PPM: *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp.. SCNRM: *Staphylococcus* coagulase negativa resistente à meticilina. VRE: *Enterococcus* spp. resistente à Vancomicina.

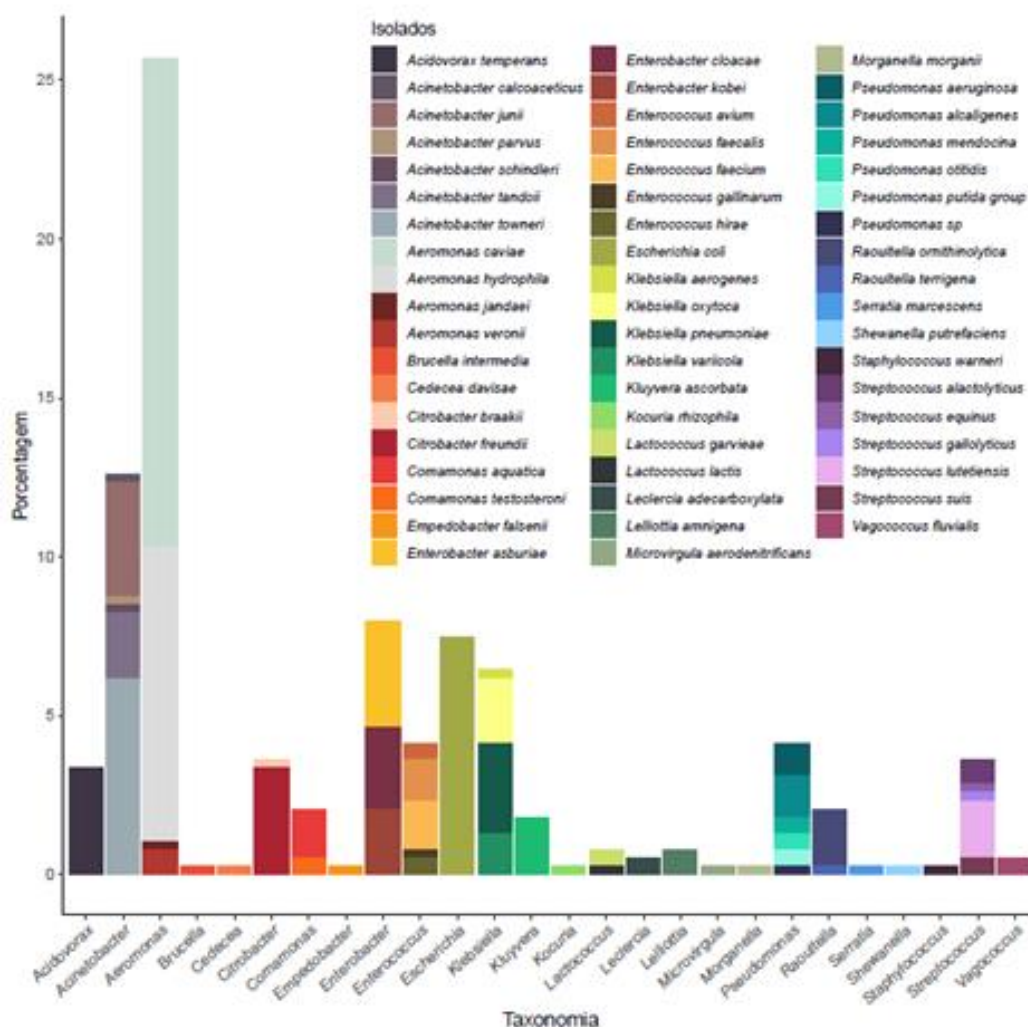


**Figura 13-** Heatmap das densidades de diferentes grupos de bactérias resistentes a antimicrobianos presentes nos diferentes pontos e épocas do estudo avaliadas por meio do crescimento em meios seletivos/indicadores. EB: Efluente Bruto; UASB: Reator anaeróbio de fluxo ascendente; ET: Efluente tratado; RM: Rio a Montante do local de deposição do ET; RJ: Rio a Jusante do local de deposição do ET. ESBL: grupo de bactérias produtoras de Beta-lactamase de espectro estendido; KPC: grupo de bactérias produtoras de Carbapenemases. KESC: *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp.. PPM: *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp.. SCNRM: *Staphylococcus* coagulase negativa resistente à meticilina. VRE: *Enterococcus* spp. resistente à Vancomicina.

Pelo Heatmap podemos perceber que BHT foi o grupo com maiores densidades populacionais encontradas no estudo, uma vez que o meio favorece a multiplicação de todas as bactérias viáveis, diferente dos meios de cultura suplementados com antimicrobianos, que seleciona BRA. Entre as BRA, nota-se um agrupamento de *Acinetobacter* spp/*Salmonella* spp. KPC e PPM ESBL aparecendo com as maiores densidades e *Pseudomonas* spp KPC e VRE com as menores densidades. O grupo KESC ESBL e *E. coli* ESBL se associam. KESC KPC apresenta densidades de cerca de um log a mais que *E. coli* KPC majoritariamente nas amostras coletadas no rio. Em geral, EB e UASB têm perfis semelhantes nas densidades, assim como RM e RJ, que registraram as menores densidades de BRA durante o estudo, com exceção a alguns outliers referentes às duas primeiras amostragens.

### 5.2.3. Isolamento de bactérias do grupo ESKAPEE.

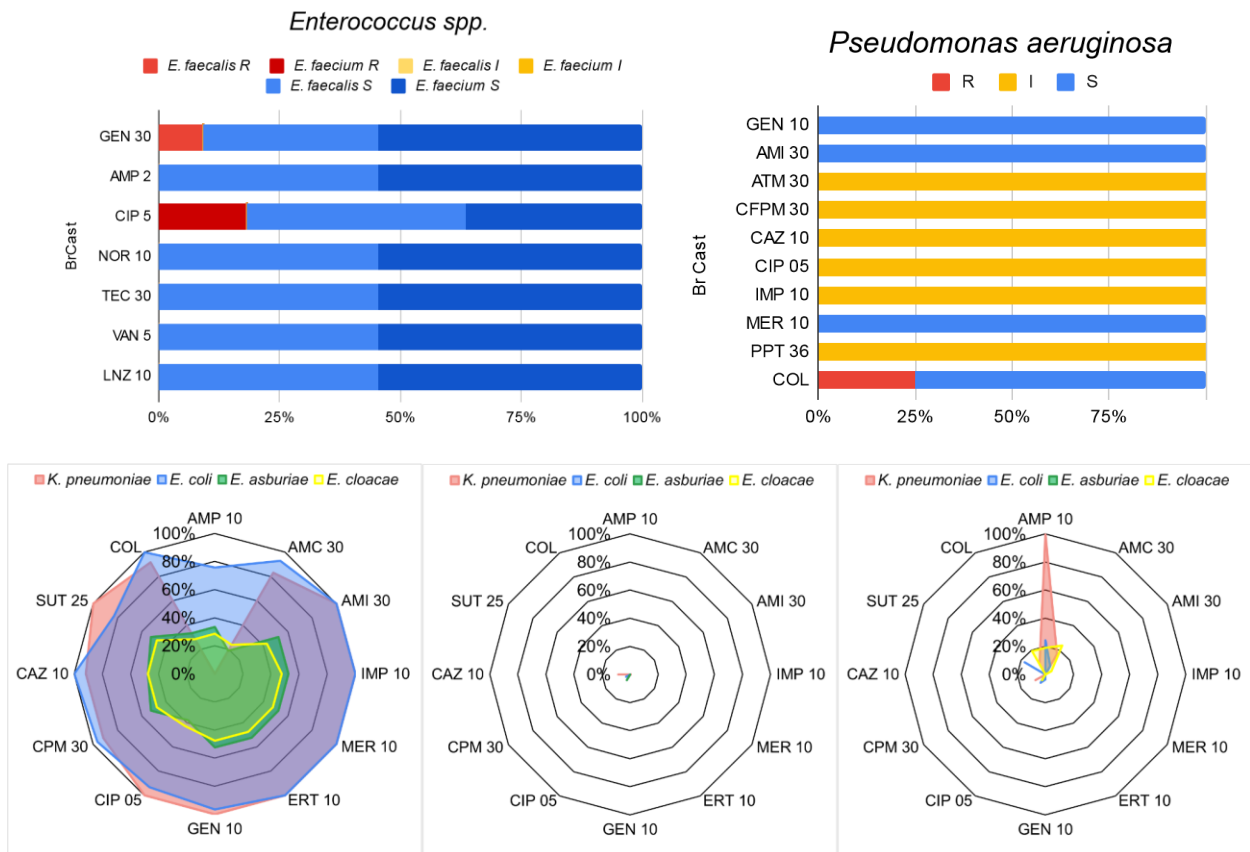
Um total 389 bactérias provenientes de amostras do ET cultivadas em Ágar Cromoclin US, foram isoladas e identificadas pelo MALDI-TOF. Em ordem decrescente, *Aeromonas* foi o gênero mais prevalente, seguido por *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Citrobacter*, *Streptococcus*, *Acidovorax*, *Comamonas*, *Raoultella*, *Kluyvera*. Os demais gêneros identificados representam individualmente menos de 1% dos isolados. A Figura 14 e a Tabela 4 em anexo mostram a porcentagem de gêneros e espécies identificados a partir dos isolados.



**Figura 14:** Porcentagem de gêneros e espécies identificados, isolados do Efluente Tratado.

Do total de isolados identificados, haviam 76 bactérias pertencentes ao grupo ESKAPPE (19,5%). Deste total, foram 21 do gênero *Enterobacter* spp. (27,63%) [11 *E. asburiae* (14,47%) e 10 *E. cloacae* (13,16%)], 11 de *Enterococcus* spp. (14,47%) [cinco *E. faecalis* (6,58%) e seis *E. faecium* (7,89%)], 29 da espécie *E. coli* (38,16%), 11 de *K. pneumoniae* (14,47%) e quatro *P. aeruginosa* (5,26%). Não houveram isolados das espécies *S. aureus* e *A. baumannii* pela abordagem utilizada.

#### 5.2.4. Avaliação da resistência a antimicrobianos das bactérias ESKAPEE isoladas de ET.



**Figura 15:** Perfil de suscetibilidade a antimicrobianos dos isolados de efluente tratado, segundo o BrCast. (a) Suscetibilidade de *Enterococcus* spp. segundo o BrCast. (B) Suscetibilidade de *P. aeruginosa* segundo o BrCast. (C) Suscetibilidade de *Enterobacter* spp, *E. coli* e *K. pneumoniae* segundo o BrCast. R: Resistente; I: Intermediário (sensível aumentando a dose); S: Sensível. AMI: Amicacina; AMC: Amoxicilina+Clavulanato; AMP: Ampicilina; ATM: Aztreonam; CPM: Cefepime; CAZ: Ceftazidima; CIP: Ciprofloxacino; COL: Colistina; ERI: Eritromicina; ERT: Ertapenem; GEN: Gentamicina; IMP: Imipenem; LNZ: Linezolida; MER: Meropenem; NOR: Norfloxacino; PPT: Piperacilina+Tazobactam; SUT: Sulfametoxazol+Trimetoprim; TEC: Teicoplanina; VAN: Vancomicina.

O perfil caracterizado considerando o BrCast foi o seguinte: para o gênero *Enterococcus* 18,2% foram resistentes a Ciprofloxacino e 9,1% resistentes a Gentamicina. Não houveram isolados resistentes a Ampicilina, Norfloxacino, Teicoplanina, Vancomicina e Linezolida. Somente um isolado de *P. aeruginosa* (25%) apresentou resistência à Colistina, mas todos os isolados exibiram suscetibilidade intermediária (sensível aumentando a dose) a Aztreonam, Cefepime, Ceftazidima, Ciprofloxacino, Imipenem e Piperacilina+Tazobactam. Dos 21 isolados de *Enterobacter* spp., 57,14% foram resistentes à Amoxicilina+Clavulanato, 38,1% resistentes à Colistina, 33,3% à Ampicilina, 14,3%

à Ciprofloxacino e 4,8% a Amicacina e Ceftazidima. 4,76% foram sensíveis aumentando a dose para Ampicilina e Ciprofloxacino. Em isolados de *E. coli*, 24,1% foram resistentes à Ampicilina, 17,2% resistentes à Sulfametoxazol+Trimetoprim, 6,9% resistentes à Amoxicilina+Clavulanato e Ciprofloxacino e 3,45% à Gentamicina e Cefepime. Não houveram isolados resistentes à Amicacina, Imipenem, Meropenem e Ertapenem, Ceftazidima e Colistina. Já em *K. pneumoniae*, todos os isolados foram resistentes a Ampicilina, 9,1% dos isolados foram resistentes à Amoxicilina+Clavulanato, Cefepime e Colistina. Os demais isolados foram suscetíveis a todos os antimicrobianos testados.

## 6. DISCUSSÃO

As características físicas e químicas do corpo receptor do efluente podem ser significativamente afetadas por lançamento direto de esgoto bruto e efluente tratado, assim como mudanças na precipitação. No presente estudo, de modo geral, o pH e a condutividade não apresentarem grandes alterações ao longo do tempo, a exceção de um *outlier* na coleta do dia 03 out, provavelmente associada recebimento de resíduos de caminhões limpa fossa e chorume coletado no aterro sanitário, os quais são misturados pontualmente ao Efluente bruto. Esses parâmetros variaram mais com os pontos de coleta: as amostras de EB apresentaram maior variação no pH e as de UASB mantiveram o pH mais baixo em relação ao restante das amostras, não havendo variação expressiva ao longo do tempo.

Apesar disso, todas as amostras ficaram dentro dos padrões de pH recomendados para efluentes que é de 5 a 9, de acordo com a Resolução 430 de 13 de maio de 2011 do CONAMA, que define condições e padrões de lançamento de efluentes em corpos d'água receptores. Com o início da estação de chuvas, houve uma tendência de queda nos valores de condutividade nas amostras do rio, que pode ser explicada pela diluição dos íons dissolvidos com o maior volume de água da chuva. Em geral, níveis superiores a 100  $\mu\text{S}/\text{cm}$  indicam ambientes impactados, sendo uma medida indireta da concentração de poluentes (UFSC, 2005). Todas as medidas de condutividade foram superiores a este valor, sendo que a menor delas foi de 210  $\mu\text{S}/\text{cm}$  em uma amostra de RM, mostrando que mesmo o rio estudado sofre influência da poluição urbana. Além da condutividade, o aumento do volume d'água dos rios com a chuva pode afetar a concentração de sólidos suspensos totais. Durante eventos de chuvas intensas, o fluxo e a velocidade da água aumentam, possibilitando o transporte de substâncias dissolvidas ou ocasionar a ressuspensão dos sedimentos de córregos e rios (HRDINKA *et al.*, 2012; JOSHI *et al.*, 2017; MISHRA, ALNAHIT, CAMPBELL, 2021).

Após todo o processo de tratamento, ao sair do decantador secundário, a remoção de DQO foi de  $62,3 \pm 11\%$  e a de DBO foi de  $78,4 \pm 8,5\%$ , valores que estão dentro dos limites para lançamento de efluentes que é de no máximo 120mg/L, em que a remoção de DBO deve ser no mínimo 60% (CONAMA, 2011).

Também podemos avaliar o impacto do efluente tratado no corpo receptor por meio da medição da DBO e DQO, que são indicadores da presença de matéria orgânica na água. Eles avaliam o nível de oxigênio consumido na oxidação da matéria orgânica presente nas amostras. Valores elevados desses parâmetros implicam na diminuição da quantidade de oxigênio dissolvido na água que recebe o efluente tratado, o que pode gerar diversos danos ao ecossistema aquático. O processo de tratamento da ETE conseguiu aumentar os valores de OD (EB para ET) cerca de 157,2% (de 2,22mg/L para 5,71mg/L). Em geral os valores de OD do EB são baixos, permanecendo abaixo de 2,6mg/L na maioria das amostragens, exceto dias 14 e 28/Nov, em que houve o registro de valores de 4,6 e 6,55mg/L respectivamente. Amostras do reator UASB também apresentaram níveis de OD por volta de 3,0mg/L, com um *outlier* também no dia 28/Nov. O ET teve uma crescente em seus valores, sendo a OD mais baixa de 3,26mg/L e a maior 8,97mg/L. A OD do RM e RJ foram bastante semelhantes, sendo que a deposição do ET no rio diminuiu somente 5,7% do valor da OD em relação ao RM. A média dos valores do RJ ficou dentro do parâmetro de qualidade de águas doces, recomendado pelo CONAMA (2005).

No corpo receptor a montante do local de recebimento do esgoto tratado (RM), foi observada uma DQO média de  $59,62 \pm 36,0$  mg/L, aumentando para  $75,65 \pm 31,7$  após a deposição do esgoto tratado (RJ). Apesar disso, existe a possibilidade de autodepuração do rio, que é a capacidade de se recuperar da carga poluente, influenciada por características físicas e biológicas, como velocidade de fluxo e volume de água, conteúdo residual da água, comunidade microbiana, temperatura, e são extremamente importantes para a recuperação da saúde do rio (WAGNER, ZALEWSKI, 2016; ZUBAIDAH, KARNANINGROEM, SLAMET, 2019). Estudo conduzido por Xie e colaboradores (2023) em águas fluviais, em Jinan, na China, mostrou impactos superiores aos do nosso estudo nas medidas de DQO (média de 59,6mg/L no RM e 76,6mg/L no RJ). A DQO no rio aumentou de 47,3mg/L para 62,8 mg/L após deposição do efluente tratado; o qual reduziu para 52,3 mg/L em 3 Km abaixo do ponto de lançamento. Com relação aos resultados de taxa de remoção de BHT nos efluentes pela ETE, foi observado valor médio de 48,86% que equivale a  $0,41 \pm 0,3$  log de UFC/mL ao longo do período amostrado, valores inferiores a ETEs de outras configurações e países. Podemos perceber que

amostras de EB e UASB apresentam valores mais altos de DBO, DQO e SST e em contrapartida, valores mais altos de OD aconteceram em amostras de ET, RM e RJ.

A partir da literatura consultada, é possível perceber que as densidades de bactérias nos afluentes e efluentes podem variar de acordo com o tipo de ETE, época da coleta, e características da população geradora do efluente. O padrão de nosso estudo foi semelhante ao observado por Machado e colaboradores (2023) numa ETE da mesma configuração. No estudo as densidades variaram de  $4,1 \times 10^5$  a  $1,7 \times 10^6$  UFC/mL em EB e  $1,7 \times 10^2$  a  $1,2 \times 10^5$  UFC/mL em ET durante o período de estudo de Ago/2017 a Out/2018, sendo a taxa de remoção média de 0,3 log. Mas os valores são baixos quando comparados a resultados de ETEs com outras configurações e de em outros países, especialmente de ETES que operam com reatores aeróbios.

O parâmetro densidade de BHT fornece uma percepção geral da possível contribuição da ETE nos níveis de microrganismos do rio, sem distinção dos grupos bacterianos. Esse efeito foi observado em nosso estudo e foi influenciado de modo geral pela época de coleta e fatores adversos que alteram a microbiota aclimatizada presente nos reatores biológicos mesmo que temporariamente. Um exemplo foi o observado na segunda coleta, marcada por maior lançamento de BHT por meio do efluente tratado em comparação com o EB. Na ocasião, houve um aumento da vazão do afluente associado ao reparo de um braço coletor que estava em obra, fazendo com que a ETE operasse por alguns meses com vazão diminuída. Machado e colaboradores (2023) também registraram episódios de perdas de sólidos no efluente em sistemas UASB combinado a biofiltro percolador, com instabilidades nos percentuais de remoção de BHT e BRA. Outro fator associado ao aumento de vazão é a possibilidade de remoção de bactérias aderidas no material suporte de reatores que operam com leito fixo, como o biofiltro percolador da ETE em estudo (LEPESOVÁ *et al.*, 2019). Esses resultados sugerem a necessidade de uma revisão dos processos e tecnologias utilizados na ETE em questão, a fim de otimizar a remoção de poluentes e, conseqüentemente, garantir a qualidade da água no corpo receptor.

De modo geral, o aumento na densidade de BHT no RJ em relação ao RM foi observado em todas as coletas, em média 0,66 log UFC/mL. Com o início da estação chuvosa, o RM apresentou um decréscimo nas densidades de BHT, o que pode ser explicado pela diluição do efluente pela água de escoamento durante o

período de chuvas e pela limpeza do curso do rio pelo aumento no volume de água (RODRIGUEZ-MOZAZ *et al.*, 2015; XU, *et al.*, 2015). Apesar disso, episódios de chuvas intensas acompanhadas de enchentes podem carrear substâncias tóxicas, lixo e a descarga de nutrientes nas bacias hidrográficas, o que aumenta as concentrações bacterianas e pode contribuir para a propagação de doenças de veiculação hídrica, como diarreias, infecções respiratórias e cutâneas, leptospirose e hepatites (ALDERMAN, TURNER, TONG, 2012; BASRI, OTHMAN, WAHID, 2015, MISHRA, ALNAHIT, CAMPBELL, 2021). Isto foi observado pontualmente no dia 31 Out, em que as chuvas estavam intensas e o rio encontrava-se em enchente, com isso havia grande quantidade de matéria orgânica em suspensão, indicada por SST no valor de 38 mg/L (seis vezes maior que da amostragem anterior) e pela densidade de BHT, que foi a maior encontrada no período de chuvas.

Outro parâmetro foco de nosso estudo foi a densidade de bactérias com fenótipo de resistência a diferentes FAM. No presente estudo, nas amostras de EB, *Proteus*, *Providencia*, *Morganella* ESBL foi grupo com a maior densidade de bactérias, com média de  $6,25 \times 10^5$  UFC/mL e a menor densidade foi de *Pseudomonas* spp. KPC com  $1,91 \times 10^4$  UFC/mL de média. As bactérias, *Providencia* e *Morganella*, têm um alto potencial de adquirir resistência durante o tratamento com FAM da classe dos b-lactâmicos. Embora muitas dessas bactérias tenham sido classificadas apenas como comensais, estudos mais recentes mostram que elas são responsáveis por causar sérios problemas de saúde em todo o mundo (SANTOS *et al.*, 2015).

As densidades das bactérias produtoras de KPC apresentaram variação semelhante às BHT, decréscimo nas últimas coletas, provavelmente resultado da diluição dos efluentes no escoamento durante a estação chuvosa, o que diminui a densidade de bactérias e limita seu impacto no ambiente (AL SALAH *et al.*, 2020). Alta frequência de *Providencia* resistente à FAM já foi descrita, como no estudo de Al Mayali e Ali (2018), que ao estudarem a ocorrência de bactérias da ordem *Enterobacterales* em amostras de esgotos no Iraque, encontram *Providencia* spp. numa frequência de 12,93% (15 de 116 isolados), sendo 60% classificados como produtores de ESBL e 100% exibiram um fenótipo MDR de acordo com o EUCAST.

As densidades de amostras de *E. coli* produtora de ESBL encontradas no efluente após o processo de tratamento foram em média  $1,19 \times 10^4$  UFC/mL, superiores às descritas em outros estudos. Oliveira e colaboradores (2023), por

exemplo, detectaram *E. coli* ESBL somente no efluente tratado de uma das cinco ETE estudadas, com uma densidade média de 2,0 log UFC/100 mL. Segundo os mesmos, as ETEs foram capazes de reduzir em cerca de 5 log a densidade de *E. coli* ESBL com auxílio do tratamento terciário (OLIVEIRA *et al.*, 2023).

VRE foi o grupo encontrado em menor densidade nas amostras de ET, enquanto as maiores densidades médias foram dos grupos de *Acinetobacter* spp. e *Salmonella* spp. produtoras de KPC. De maneira semelhante, Sahoo e colaboradores (2022) também encontraram altas densidades de *Acinetobacter* spp. resistentes a carbapenêmicos em amostras de efluentes e rio na cidade de Cuttack, na Índia:  $3,8 \times 10^6$  e  $6,3 \times 10^6$  UFC/mL em efluentes,  $4,9 \times 10^6$  UFC/mL no rio logo após a deposição do efluente e  $2,0 \times 10^6$  UFC/mL 100 metros abaixo do local de deposição do efluente. Apesar disso, em amostras do rio a montante da zona de mistura do efluente não foram detectadas bactérias deste grupo. Os autores verificaram também que cerca de 80,82% dos isolados (de um total de 73 isolados) foram classificados como potencialmente patogênicos (SAHOO *et al.* 2022). Hubeny e colaboradores (2022) também detectaram *A. baumannii* resistentes a carbapenêmicos em amostras de efluentes municipais.

Em nosso estudo, avaliamos a densidade de *Salmonella* KPC através de meio de cultura cromogênico, suplementado com antimicrobianos, o que não é frequente na literatura, que utilizam metodologias de enriquecimento específico para essa bactéria. Sabe-se que *Salmonella* ocorre em concentrações relativamente baixas em amostras de águas ambientais (HSU *et al.*, 2011). Como o ágar Hicrome KPC não diferencia colônias de *Acinetobacter* spp e *Salmonella* spp, a densidade de *Salmonella* pode ter sido superestimada. Em um estudo realizado em amostras de efluentes avaliados durante 3 anos, Yanagimoto e colaboradores (2020) encontraram 44% dos isolados de *Salmonella* resistentes a pelo menos um antimicrobiano. Eles observaram resistência contra cefalosporinas de terceira geração (ceftazidima e/ou cefotaxima) em três isolados de esgoto, enquanto nenhuma resistência foi observada contra carbapenêmicos (imipenem e meropenem). Em rios altamente contaminados na Índia, observou-se uma concentração elevada de *Salmonella*, variando entre  $10^2$ - $10^4$  UFC/mL em rios que recebiam águas residuais domésticas não tratadas (JYOTI *et al.*, 2010).

Dentro da nossa análise de amostras de água do rio, tanto a montante quanto a jusante do local de deposição do efluente tratado, o grupo encontrado em

maior densidade foi PPM ESBL. No RM a menor densidade foi de *Pseudomonas* spp. KPC e no RJ foi de VRE. Mesmo em baixas densidades, a disseminação de VRE é importante, visto que é uma bactéria que faz parte da microbiota intestinal de muitos animais e é um importante causador de infecções, tendo a vancomicina como um dos últimos antimicrobianos para o seu tratamento. Dželalija e colaboradores (2023) ao compararem isolados de *Enterococcus* encontrados em hospitais com isolados ambientais encontraram similaridade genética entre elas mostrando que efluentes são rotas de disseminação de BRA.

Após o início da estação chuvosa, no RM houve a diminuição da densidade de BRA dos diversos grupos bacterianos, exceto de *Staphylococcus* spp. resistente à Meticilina, que se manteve estável. Além disso, as duas primeiras amostras também podem ser consideradas *outliers*, assim como o ocorrido em BHT, uma vez que sofreram a influência de despejo de porção de efluente bruto que estava caindo diretamente no rio a montante da ETE, como já mencionado.

Assim como VRE, KESC e *E. coli* produtoras de KPC apresentaram densidades inferiores aos outros grupos microbianos estudados, principalmente em amostras do corpo receptor. Al Salah e colaboradores (2020) encontraram densidades de *E. coli* resistente a carbapenêmicos ainda menores, os valores na amostra de rio a jusante correspondeu a  $3,5 \times 10^1$  UFC/mL na estação seca e não houve a detecção nas amostras de rio a montante do local de despejo do efluente.

A eficiência de remoção de BRA pela ETE-Onça foi de 0,48 log de UFC/mL, menor que as obtidas por Rizzo e colaboradores (2018), que encontraram reduções variando em torno de 1,5 a 2 log de UFC/mL para diversos FAM, com até 4 log de remoção de bactérias resistentes à Amoxicilina e Sulfametoxazol. Com a deposição do efluente no rio, a densidade de BRA dos diversos grupos estudados aumentou 0,32 log UFC/mL no rio a jusante, menor que a influência de BHT no rio, que aumentou a densidade em 0,66 log UFC/mL.

Das bactérias isoladas de Efluente Tratado, que foram identificadas, houve predomínio do filo *Proteobacteria*, que correspondeu a 79,95% (311/389) dos isolados, seguido por *Firmicutes*, com 9,25% (36/389), Bacteroidetes e Actinobacteria por último com uma parcela de 0,52% (2/389). Este resultado corrobora com o encontrado por Machado e colaboradores (2023), em amostras de ETEs do estado de Minas Gerais, em que foram encontrados 76,6% (302/394) do filo

Proteobacteria, seguido por Firmicutes 20,6% (81/394), Bacteroidetes 1,8% (7/394) e Actinobacteria 1% (4/394).

Ao testar a suscetibilidade a antimicrobianos dos isolados de ESKAPEE, Ampicilina apresentou a maior taxa de isolados resistentes dentre todos os antimicrobianos testados, seguida por Amoxicilina+Clavulanato e Ciprofloxacino. Do total de *Enterobacteriaceae*, 42,6% foram resistentes a Ampicilina, 24,6% resistentes à Amoxicilina+Clavulanato, 14,7% com resistência à Colistina, 8,2% à Ciprofloxacino e Sulfametoxazol+Trimetoprim, 3,3% à Cefepime, 1,64% à Amicacina, Gentamicina e Ceftazidima. Apenas dois isolados foram classificados como MDR, o que representa 3,28% das *Enterobacteriaceae* e 2,63% do total de ESKAPEE.

Entre os isolados de *Enterococcus* spp., foi encontrado isolados de *E. faecalis* resistentes a Gentamicina e dois isolados resistentes de *E. faecium* resistentes a Ciprofloxacino. Ao avaliar o perfil de suscetibilidade à Eritromicina, 18,2% foram resistentes e 54,5% foram sensíveis aumentando a dose. No entanto, este FAM não é padronizado pelo BrCast, portanto os parâmetros para a definição desse teste foram os recomendados pelo CLSI. Nenhum dos *Enterococcus* spp. apresentou fenótipo MDR. Perfis de suscetibilidade a gentamicina e ciprofloxacino semelhantes foram encontrados por Molale-Tom e Bezuidenhout (2020) que observaram percentuais de 6% e 8% de isolados de *Enterococcus* spp. resistentes a esses fármacos, em amostras de efluentes e água do corpo receptor na África do Sul. Diferente do perfil de nossos isolados, eles foram resistentes também à Ampicilina (67%), Vancomicina (62%) e Eritromicina (51%). Observamos que os isolados que foram resistentes ou sensíveis aumentando a dose a Eritromicina, foram sensíveis a Vancomicina. Isso também foi observado por Russo e colaboradores (2019) em amostras de efluentes na Itália. Apesar disso, eles encontraram isolados resistentes à Eritromicina (100%), Cloranfenicol (97%), Rifampicina (84%), Ampicilina (83%), Penicilina (73%) e Gentamicina (5,4%).

Em nosso estudo não encontramos *Enterococcus* spp. resistentes à Ampicilina, Teicoplanina, Vancomicina e Linezolida, como no estudo de Dzelalija e colaboradores (2023), em que todos os isolados de *Enterococcus* spp de origem hídrica foram resistentes a estes antimicrobianos, exceto à Linezolida. A Linezolida é um importante fármaco que serve como uma das últimas opções de tratamento para VRE (HASHEMIAN, FARHADI, GANJPANVAR, 2018). De fato, diversos

estudos consideram a importância das espécies *E. faecalis* e *E. faecium* no contexto de saúde pública e diferenças quanto a suscetibilidade a FAM. *E. faecalis* geralmente é sensível a penicilina enquanto *E. faecium* apresenta altas taxas de resistência a b-lactâmicos, e nesses casos, infecções geralmente requerem tratamento com glicopeptídeos, como vancomicina ou teicoplanina (VEHRESCHILD *et al.*, 2019).

No nosso estudo, não foi observada ocorrência de *P. aeruginosa* com fenótipo de multirresistência. Todos os isolados foram sensíveis aumentando a dose (intermediário) para Piperacilina+Tazobactam, Aztreonam, Cefepime, Ceftazidima, Ciprofloxacino e Imipenem segundo o BrCast. Foi observado fenótipo de resistência somente para colistina e entre isolados de amostras de efluentes. Baixos índices de resistência também foram observados por Oliveira e colaboradores (2017) ao estudarem isolados *P. aeruginosa* de amostras de efluentes do interior de Minas Gerais. Eles encontraram somente 3 isolados, dentre os 27 testados resistentes à Imipenem e Meropenem, um isolado resistente à amicacina e gentamicina, um resistente à cefepime (EB), e um resistente à ceftazidima (ET). Nenhum isolado encontrado foi classificado com MDR.

Em contrapartida, Govender e colaboradores (2021) encontraram altas taxas de resistência a antimicrobianos em isolados de *Pseudomonas* spp. em amostras de efluentes e águas fluviais da África do Sul: 100% de resistência a Sulfametoxazol+Trimetoprim, 95% à Cefixima (cefalosporina de terceira geração), 93% de resistência à Ampicilina, 36% a Polimixina B, 21% à Meropenem, 14% à Minociclina, 7% à Imipenem e Colistina, 5% à Ciprofloxacino, 4% à Levofloxacino e Ceftazidima e 2% à Ofloxacino. Estes resultados podem estar relacionados ao perfil de uso de antimicrobianos de uma região ou país.

Todos os isolados de *P. aeruginosa* foram sensíveis à Gentamicina, Amicacina e Meropenem. Também foram encontradas altas taxas de suscetibilidade a estes FAM por Roulová e colaboradores (2022) em efluentes hospitalares na República Tcheca. Em 59 isolados, 88,1%, 71,2% e 62,7% foram Sensíveis à Amicacina, Gentamicina e Meropenem, respectivamente. Alguns isolados foram classificados como Suscetível com exposição aumentada: 91,5% para Aztreonam, 88,1% para Piperacilina+Tazobactam e Ceftazidima, 69,5% à Ciprofloxacino. Quanto à RAM, 30,5% de isolados resistentes a Ciprofloxacino, 28,8% à Gentamicina, 27,2% à Meropenem, 11,9% de resistência à

Piperacilina+Tazobactam, à Ceftazidima e à Amicacina, 8,5% à Aztreonam. Foram classificados como MDR 28,8% dos isolados.

O gênero que apresentou maior número de isolados com resistência a pelo menos um FAM foi *Enterobacter* spp., com 16/21 (76,2%). Mais da metade dos isolados foram resistentes a Amoxicilina+Clavulanato, 38% resistentes à Colistina e 33% resistentes à Ampicilina. Um perfil bem diferente foi encontrado por Mishra e colaboradores (2020) que avaliaram isolados de amostras de águas da Índia e encontraram 3% de resistência ao Meropenem e Ceftazidima. 90% dos isolados foram classificados com Sensível aumentando a exposição a Cefepime, seguido por 75% para Amoxicilina+Clavulanato, 55% à Meropenem e 30% a Ceftazidima. Todos os isolados foram Sensíveis à Imipenem, Gentamicina e Colistina. Quanto ao fenótipo MDR, encontramos somente um isolado, com resistência a Ampicilina, Amoxicilina+Clavulanato, Ceftazidima e Ciprofloxacino. Isolado resistente a estes mesmos FAM e ainda a Amicacina, Ampicilina+Sulbactam, Piperacilina+Tazobactam, Cefepime, Cefoxitina, Ceftriaxona, Imipenem, Meropenem, Ertapenem e Gentamicina foi descrito por Zagui e colaboradores (2022) em efluente hospitalar em Ribeirão Preto - SP. Neste mesmo estudo, de 28 colônias isoladas e identificadas, 18 foram do grupo ESKAPEE. Ao avaliar o perfil de suscetibilidade a antimicrobianos, os três isolados de bactérias gram positivas apresentaram resistência a Clindamicina e Sulfametoxazol+Trimetoprima, dois foram classificados como MDR. Os três isolados de *P. aeruginosa* foram resistentes à Ceftazidima e um foi MDR. 100% das cepas de *K. pneumoniae* foram resistentes a Ampicilina, 80% foram resistentes a Amoxicilina e 40% resistentes a Sulfametoxazol+Trimetoprim. Um dos isolados foi resistente a 13 antimicrobianos testados, sendo que dois foram classificados com MDR. Mais de 50% dos isolados de bactérias gram negativas apresentaram resistência a Ampicilina, Amoxicilina e Ceftazidima (ZAGUI *et al.*, 2022).

No que se refere a isolados de *E. coli*, a maior ocorrência de resistência foi para Ampicilina (24,14%), seguido de Sulfametoxazol+Trimetoprim (17,24%). Encontramos ainda baixo número de isolados resistentes a Amoxicilina+Clavulanato e Ciprofloxacino (6,9%), Gentamicina e Cefepime (3,45%) e ausência de isolados resistentes a fármacos carbapenêmicos. Apenas um isolado foi classificado como multirresistente (3,4%), e apresentou resistência a Ampicilina, Amoxicilina+Clavulanato, Gentamicina, Ciprofloxacino e Sulfametoxazol

+Trimetoprim. Assim como já descrito para outras espécies, o perfil de resistência de isolados resistentes a FAM varia com o local e tipo de efluente estudado. Por exemplo, Zagui e colaboradores (2022) encontraram em efluentes hospitalares alta frequência de isolados de *E. coli* com resistência a Ampicilina (83,3%), Amoxicilina (66,6%), Ceftazidima e Tetraciclina (50%) e ausência de isolados de *E. coli* resistente à Colistina. Mas diferente do nosso estudo, metade dos isolados apresentaram fenótipo multirresistente, mostrando que o perfil de resistência de efluentes hospitalares tende a ser mais frequente. Azuma e colaboradores (2022) também isolaram *E. coli* produtoras de ESBL que além da resistência aos FAM b-lactâmicos testados, tiveram metade dos isolados resistentes à Ciprofloxacino e 9% resistentes à Gentamicina. Já Shibuki e colaboradores (2023) encontraram perfis de resistência aos mesmos antimicrobianos do nosso estudo, porém em maiores percentuais. Eles avaliaram amostras de efluentes do Japão para a detecção de *E. coli* produtora de b-lactamase, e em 279 isolados encontraram resistência para Ampicilina e Cefotaxime em 100% dos isolados; resistência à cefepime em 67,7% dos isolados. Observaram também alta resistência a Ciprofloxacina (CIP), Sulfametoxazol + Trimetoprima (ST) e tetraciclina, mas baixa frequência de isolados resistentes a Amicacina (<5%) e ausência de isolados com resistência à Imipenem e Tigeciclina. Em estudo realizado na Espanha, Oliveira e colaboradores (2023) isolaram 89 *E. coli* produtoras de ESBL, sendo 37 isoladas de amostras de efluentes. A maioria dos isolados apresentou resistência a diferentes b-lactâmicos, como Cefotaxima (100%), Ampicilina (100%), Ceftazidima (99%), a quinolonas como Ciprofloxacino (93%), Tetraciclina (82%) e a Sulfametoxazol (96%) e Trimetoprim (79%). Também nesse estudo, foi descrito ausência de resistência à meropenem, tigeciclina e colistina, dado importante, considerando que eles são utilizados como último recurso a bactérias resistentes a antimicrobianos mais “antigos”.

Todos os isolados de *K. pneumoniae* foram resistentes à Ampicilina, padrão já esperado, dada a resistência intrínseca desta bactéria a este FAM (ANVISA, 2020). Além disso, somente dois isolados apresentaram resistência a outros antimicrobianos: um deles teve um perfil de resistência à Amoxicilina+Clavulanato e Cefepime, que são FAM b-lactâmicos; o outro foi resistente à Colistina e com perfil de suscetibilidade intermediário a Ceftazidima. Nenhum isolado foi multirresistente. Na literatura consultada, encontramos relatos de

maiores frequências de fenótipos de resistência em amostras de pacientes hospitalizados e amostras de águas de rios, como no estudo de Lepuschitz e colaboradores (2018), onde os nove amostras provenientes de água de rio e pacientes de hospitais da Áustria, foram resistentes a Ampicilina, Cefotaxima, Ceftazidima e Cefepime; sete foram resistentes a Ciprofloxacina (77,8) e todos foram sensíveis à Colistina, segundo o EUCAST; e no estudo de Palmeira e colaboradores (2023) com amostras de águas do rio Douro em Portugal, que mostrou que dentre 15 isolados produtores de carbapenemases (sendo seis de *E. coli* e nove de *K. pneumoniae*) todos foram resistentes a Meropenem (como esperado) além de Sulfametoxazol + Trimetoprima (7/15, 46,7%), Ciprofloxacina (3/15, 20%), Fosfomicina (3/15, 20%) e Cloranfenicol (2/15, 13,3%).

Ambientes aquáticos podem ser habitats transitórios ou permanentes para patógeno, sendo capazes de atuar como reservatório ou vetor desta bactéria para os seres humanos (CHO, JACKSON, FYRE, 2020). Por isso, o monitoramento ambiental é importante para perceber as fontes de contaminação da água potável. No entanto, são necessários estudos adicionais que forneçam dados sobre a resistência à FAM em amostras ambientais de água e efluentes, que podem contribuir para o entendimento das fontes de infecções e da transmissão de GRA e da disseminação de patógenos no ambiente.

## 7. CONCLUSÃO

O presente trabalho investigou a eficiência de remoção de BHT e BRA de uma ETE com configuração de reatores UASB seguida de biofiltro percolador localizada em Belo Horizonte - MG. Pôde-se observar que a ETE reduziu a carga microbiana após a saída do decantador secundário e que a deposição do efluente tratado no corpo receptor aumentou a densidade de bactérias do rio a jusante em relação ao rio a montante. Apesar do efluente tratado cumprir todos os parâmetros físico-químicos recomendados pelo CONAMA, a remoção de BHT pela ETE ainda é baixa, visto que ainda estão sendo lançadas altas cargas de BHT e BRA no rio. As bactérias isoladas na saída do decantador secundário, pertencentes ao grupo ESKAPEE apresentaram resistência a poucos antimicrobianos. Os resultados mostram que mesmo diminuindo a carga orgânica de poluentes, ainda são liberadas grandes densidades de bactérias para o ambiente aquático, reafirmando que as ETE podem contribuir com a disseminação de resistência a antimicrobianos para o ecossistema.

## 8. REFERÊNCIAS

ABES, Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. **Ranking ABES da Universalização do Saneamento**. Edição 2021. Disponível em: <[https://abes-dn.org.br/?page\\_id=41939](https://abes-dn.org.br/?page_id=41939)> Acesso em: 19 Set 2021.

ADEKANMBI, A.O. *et al.*, Diversity of Extended Spectrum Beta-lactamase (ESBL) genes in *Escherichia coli* isolated from wastewater generated by a Sick Bay located in a University Health Care Facility. **Gene Reports**, v. 20, n. 100738, 2020.

Disponível em: <

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2452014420301527>> Acesso em: 11 Mar 2023.

AHMED, M. B. *et al.*, Progress in the biological and chemical treatment technologies for emerging contaminant removal from wastewater: A critical review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 323, p. 274-298, 2017. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389416303867>> Acesso em: 09 Nov 2021.

AL SALAH, D. M. M. *et al.*, Hospital wastewaters: A reservoir and source of clinically relevant bacteria and antibiotic resistant genes dissemination in urban river under tropical conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 200, n. 110767, 2020. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147651320306060>> Acesso em: 16 Abr 2023.

ALAM, M. M. *et al.*, Antimicrobial Resistance Crisis and Combating Approaches. **Journal of Medicine**, v. 20, p. 38-45, 2019. Disponível em:

<<https://www.banglajol.info/index.php/JOM/article/view/38842>> Acesso em: 07 Nov 2021.

ALDERMAN, K., TURNER, L. R., TONG, S. Floods and human health: a systematic review. **Environment International**, v. 15, n. 47, p. 37-47, 2012. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22750033/>> Acesso em 14 Abr 2023.

ALEXANDER, J., HEMBACH, N., SCHWARTZ, T., Evaluation of antibiotic resistance dissemination by wastewater treatment plant effluents with different catchment areas in Germany. **Scientific Reports**, v. 10, p. 8952, 2020. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1038/s41598-020-65635-4>> Acesso em: 09 Fev 2023

AL-MAYAH, F. S. A., ALI, R. H., Preliminary study of emergence MDR of *Providencia* spp. isolates producing ESBL, *AmpC* and MBL among patients with RTI and in wastewater in Al-Diwaniya City, Iraq. **Biochemical and Cellular Archives**, v.

18, p. 1357-1368, 2018. Disponível em:  
<[https://www.connectjournals.com/file\\_html\\_pdf/2873800H\\_1357A.pdf](https://www.connectjournals.com/file_html_pdf/2873800H_1357A.pdf)> Acesso em:  
16 Abr 2023.

ALMEIDA, A. *et al.*, Human and Veterinary Antibiotics Used in Portugal—A Ranking for Ecosurveillance. **Toxics**, v. 2, p. 188–225, 2014. Disponível em:  
<<https://www.mdpi.com/2305-6304/2/2/188>> Acesso em: 05 Set 2021.

ANA, Agência Nacional de Águas. **Atlas Esgotos**, Despoluição de Bacias Hidrográficas, Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental, 88 p. Brasília – DF, 2017. Disponível em:  
<[https://arquivos.ana.gov.br/imprensa/publicacoes/ATLASESGOTOSDespoluicaood eBaciasHidrograficas-ResumoExecutivo\\_livro.pdf](https://arquivos.ana.gov.br/imprensa/publicacoes/ATLASESGOTOSDespoluicaood eBaciasHidrograficas-ResumoExecutivo_livro.pdf)> Acesso em: 03 Jul. 2021.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Gerência de Investigação e Prevenção das Infecções e dos Eventos Adversos – Gipea; Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde – GGTES. **Investigação e controle de bactérias multirresistentes**, 21 p. 2007. Disponível em:  
<[https://www.anvisa.gov.br/servicosade/controlere/reniss/manual%20\\_controle\\_bacterias.pdf](https://www.anvisa.gov.br/servicosade/controlere/reniss/manual%20_controle_bacterias.pdf)> Acesso em: 03 Jul 2021.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia Clínica para Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde**. Módulo 10 – Detecção dos Principais Mecanismos de Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos pelo Laboratório de Microbiologia Clínica. 1ª ed. Brasília - DF, 2020.

APHA. American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington: 2005.

APHA. American Public Health Association; AWWA. American Water Works Association; WEF. Water Environment Federation. (2012) **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22. ed. Washington: 2012.

AQUINO, S. F.; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 18, n. 3, p. 187-204, 2013. Disponível em:  
<<https://www.scielo.br/j/esa/a/DV5v33YwS6jFK4mw99WkTsc/abstract/?lang=pt>>  
Acesso em: 05 Out 2021.

ARIAS, C. A. *et al.* Unmet Needs and prospects for Oritovancin in the Management of Vancomycin- resistant Enterococcal Infections, **Clinical Infectious Diseases**, v. 54, n. 3 ,p 233-238, 2012. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22431854/>>  
Acesso em: 11 Mar 2023.

ASHBOLT, N. J. *et al.*, Human health risk assessment (HHRA) for environmental development and transfer of antibiotic resistance. **Environmental Health Perspectives**, v. 121, p. 993-1001, 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23838256/>> Acesso em: 01 Nov 2021.

AZIZ, A. *et al.* Biological wastewater treatment (anaerobic-aerobic) technologies for safe discharge of treated slaughterhouse and meat processing wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 686, p. 681-708, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.295> Acesso em: 21 Set 2021.

AZUMA, T. *et al.*, Distribution and characteristics of carbapenem-resistant and extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* in hospital effluents, sewage treatment plants, and river water in an urban area of Japan. **Science of the Total Environment**, v. 839, n. 156232, 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969722033290>> Acesso em: 10 Fev 2023.

BAQUERO, F. *et al.* Gene transmission in the one health microbiosphere and the channels of antimicrobial resistance. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 2892, 2019. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.02892/full>> Acesso em: 10 Nov 2021.

BARANCHESHME, F., MUNIR, M., Strategies to Combat Antibiotic Resistance in the Wastewater Treatment Plants. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 2603, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29387043/>> Acesso em: 04 Nov 2021.

BASRI, Z. D. M., OTHMAN, Z., WAHID, M. A. Detection of Pathogenic Bacteria in Flood Water. **ISFRAM**. Springer, Singapore, 2015. Disponível em: <[https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-287-365-1\\_16](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-287-365-1_16)> Acesso em: 14 Abr 2023.

BEN, W. *et al.*, Occurrence, removal and risk of organic micropollutants in wastewater treatment plants across China: Comparison of wastewater treatment processes. **Water Research**, v. 130, p. 38-46, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135417309855>> Acesso em: 03 Nov 2021.

BERENDONK, T. U. *et al.*, Tackling antibiotic resistance: The environmental framework. **Nature Review Microbiology**, v. 13, p. 310–317, 2015. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrmicro3439>> Acesso em: 01 Nov 2021.

BILOTTA, P.; DANIEL, L. A. Utilização de lâmpadas germicidas na desinfecção de esgoto sanitário. **Revista Ambiente e Água**, v. 7, n. 1, p. 120-129. Taubaté – SP, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.845>> Acesso em: 10 Jul. 2021.

BRASIL, Lei de saneamento nº 9.984, de 17 de julho de 2000 e Lei nº 14.026, de 15 de Julho de 2020, Brasília, 2020.

BrCast - Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. Versão 11 EUCAST, 2021

BYAPPANAHALLI, M. N. *et al.* Enterococci in the environment. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 76, p. 685-706, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3510518/>> Acesso em: 01 Mar 2023.

CARVALHO, R. S. *et al.* Utilização do biocarvão de bagaço de laranja na remoção de tetraciclina em água residuária, **Revista Matéria**, v. 26, n. 2, 2021. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rmat/a/6bLXhP3WY5K6WZQdg57pryR/>> Acesso em: 30 Nov 2021.

CBHRV, Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio das Velhas – Agência Peixe Vivo. **Plano Diretor de Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica do Rio das Velhas**. Belo Horizonte, 2015. Disponível em: <<https://cdn.agenciapeixe vivo.org.br/media/2020/06/RESUMO-EXECUTIVO-PDRH-VELHAS-2015.pdf>> Acesso em: 10 Jan 2023.

CHATTOPADHYAY, M. K.; GROSSART, H. P., Antibiotic and heavy metal resistance of bacterial isolates obtained from some lakes in northern Germany. **NSHM Journal of Pharmacy and Healthcare Management**, v. 2, p. 44-45, 2011. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/267363668\\_Antibiotic\\_and\\_heavy\\_metal\\_resistance\\_of\\_bacterial\\_isolates\\_obtained\\_from\\_some\\_lakes\\_in\\_northern\\_Germany](https://www.researchgate.net/publication/267363668_Antibiotic_and_heavy_metal_resistance_of_bacterial_isolates_obtained_from_some_lakes_in_northern_Germany)> Acesso em: 30 Nov 2021.

CHENG, G. *et al.* Selection and dissemination of antimicrobial resistance in Agri-food production. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 8, p. 158, 2019. Disponível em: <<https://aricjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13756-019-0623-2>> Acesso em: 01 Nov 2021.

CHENG, K. ZHOU, J. L. Occurrence and behavior of antibiotics in water and sediments from the Huangpu River, Shanghai, China. **Chemosphere**, v. 95, p. 604-612, 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653513014070>> acesso em: 14 Set 2021.

CHERNICHARO, C. A. L. Reatores anaeróbios. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, v. 5, n. 2, p. 380, 2007.

CHO, S., JACKSON, C. R., FYRE, J. G. The prevalence and antimicrobial resistance phenotypes of *Salmonella*, *Escherichia coli* and *Enterococcus* sp. in surface water. **Letters in Applied Microbiology**, v. 71, n. 3, p.25, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32304575/>> Acesso em 20 Abr 2023.

CHRISTAKI, E.; MARCOU, M.; TOFARIDES, A. Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. **Journal of Molecular Evolution**, 88: 26–40, 2020. Disponível em: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00239-019-09914-3.pdf>> Acesso em: 16 Ago 2021.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing - M100. 31 ed. 2021.

CONAMA, Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. 2005.

CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. **Resolução nº 430, de 13 de Maio de 2011**, 2011.

COPASA, Companhia de Saneamento de Minas Gerais. **Parecer Único/Parecer de Licenciamento Ambiental Simplificado para Licença de Operação do empreendimento Estação de Tratamento de Esgotos – ETE Onça**. 2018. Disponível em: <http://sistemas.meioambiente.mg.gov.br/licenciamento/uploads/Ze2aiyU9Hww-xScVWn1k3-UbltCsPL2F.pdf>> Acesso em: 11 Jan 2023.

COSTELLOE, C. *et al.* Effect of antibiotic prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: systematic review and meta-analysis. **BMJ**. 2010. Disponível em: <<https://www.bmj.com/content/340/bmj.c2096>> Acesso em: 31 Out 2021.

COX, G., WRIGHT, G. D. Intrinsic antibiotic resistance: Mechanisms, origins, challenges and solutions. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 303, p. 287-292, 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23499305/>> Acesso em: 29 Jan 2023.

CZEKALSKI, N. *et al.*, Increased levels of multiresistant bacteria and resistance genes after wastewater treatment and their dissemination into Lake Geneva,

Switzerland. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, p. 106, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3310248/>> Acesso em: 29 Out 2021.

DEVARAJAN, N. *et al.*, Accumulation of clinically relevant antibiotic-resistance genes, bacterial load, and metals in freshwater lake sediments in Central Europe. **Environmental Science and Technology**, v. 49, p. 6528–6537, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25933054/>> Acesso em: 30 Out 2021.

DUARTE, A. S., Efeitos da aplicação de efluente tratado no solo: pH, matéria orgânica, fósforo e potássio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, n.3, p.302–310, 2008. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbeaa/a/hfmdQhxfPSzdbwdhr7C7KZg/abstract/?lang=pt>> Acesso em: 01 Nov 2021.

DZELALIJA, M. *et al.*, Microbiome profiling and characterization of virulent and vancomycin resistant *Enterococcus faecium* from treated and untreated wastewater, beach water and clinical sources. **Science of the Total Environment**, v. 858, n. 159720, 2023. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36306843/>> Acesso em 03 Mar 2023.

EKWANZALA, M. D. *et al.*, Comparative genomics of vancomycin-resistant enterococcus spp. Revealed common resistome determinants from hospital wastewater to aquatic environments. **Science of Total Environment**, v. 719, n. 137275, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137275>> Acesso em: 08 Mar 2023.

FERNANDEZ, L., HANCOCK, R. E. W., Adaptive and mutational resistance: Role of porins and efflux pumps in drug resistance. **Clinical and Microbiology Reviews**, v. 25, p. 661–681, 2012. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00043-12>> Acesso em: 11 Mar 2023.

FERREIRA, J. C. **Bactérias potencialmente resistentes a antibióticos, desinfetantes e radiação ultravioleta, isoladas de esgoto hospitalar e esgoto sanitário**, Dissertação de Mestrado, UTFPR - Campus Londrina, 2015.

FUNASA - Fundação Nacional de Saúde. **Manual de saneamento – 5ª Ed.** Brasília - DF. p. 545, 2019. Disponível em: <[http://www.funasa.gov.br/documents/20182/38564/Manual\\_de\\_Saneamento\\_Funasa\\_a\\_5a\\_Edicao.pdf/278113a8-2cda-4b9f-8611-9087912c9dff](http://www.funasa.gov.br/documents/20182/38564/Manual_de_Saneamento_Funasa_a_5a_Edicao.pdf/278113a8-2cda-4b9f-8611-9087912c9dff)> Acesso em: 28 Jun. 2021.

GARNER, E. *et al.*, A human exposome framework for guiding risk management and holistic assessment of recycled water quality. **Environmental Science: Water Research & Technology**, v. 2, p. 580–598, 2016. Disponível em:

<<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/ew/c6ew00031b>> Acesso em: 01 Nov 2021.

GOTKOWSKA-PYACHTA, A., The prevalence of virulent and multidrug-resistant enterococci in river water and in treated and untreated municipal and hospital wastewater. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 2, p. 563, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ijerph18020563>> Acesso em 08 Mar 2023.

GOVENDER, R. *et al.*, Identification, antibiotic resistance, and virulence profiling of *Aeromonas* and *Pseudomonas* species from wastewater and surface water. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 193, p. 294, 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33893564/>> Acesso em: 25 Abr 2023.

GRENNI, P. Antimicrobial Resistance in Rivers: A Review of the Genes Detected and New Challenges. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 41, p. 687–714, 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35191071/>> Acesso em: 03 Mar 2023.

GRIJALVA, C. G. Reduction in antibiotic use, an added yet sometimes underappreciated benefit of pneumococcal conjugate vaccines. **Lancet Infectious Disease**; v. 14, n. 3, p. 175–177, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4831623/>> Acesso em: 20 Nov 2021.

GULLBERG, E. *et al.*, Selection of a multidrug resistance plasmid by sublethal levels of antibiotics and heavy metals. **MBio** v. 5, n. 5, p. 1914-1918, 2014. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/mBio.01918-14>> Acesso em: 30 Nov 2021.

GUO X, *et al.*, Metagenomic Analysis of Antibiotic Resistance Genes in Untreated Wastewater From Three Different Hospitals. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34504480/>> Acesso em: 09 Nov 2021.

HASHEMIAN, S. M. S., FARHADI, T., GANJPARVAR, M. Linezolid: a review of its properties, function, and use in critical care. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 12, p. 1759-1767, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6014438/>> Acesso em: 05 Mai 2023.

HARBARTH, S. *et al.* Antimicrobial resistance: one world, one fight! **Antimicrobial Resistance e Infection Control**. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13756-015-0091-2>> Acesso em: 23 Ago 2021.

HILTUNEN, T.; VIRTA, M.; LAINE, A. L., Antibiotic Resistance in the Wild: An Eco-Evolutionary Perspective. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v. 372, p. 1712, 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27920384/>> Acesso em: 01 Nov 2023.

HOFFMAN, P. S., Antibacterial Discovery: 21st Century Challenges. **Antibiotics**, v. 9, p. 213, 2020. Disponível em: <doi:10.3390/antibiotics9050213> Acesso em: 18 Abr 2023.

HONG, P. Y. *et al.*, Reusing Treated Wastewater: Consideration of the Safety Aspects Associated with Antibiotic-Resistant Bacteria and Antibiotic Resistance Genes. **Water**, v. 10, p. 244, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135419304117>> Acesso em: 15 Nov 2021.

HRDINKA, T. *et al.*, Possible impacts of floods and droughts on water quality. **Journal of Hydro-environment Research**, v. 6, n. 2, p. 145–150, 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1570644312000093>> Acesso em: 02 Abr 2023.

HSU, B. *et al.*, Evaluation of different analysis and identification methods for *Salmonella* detection in surface drinking water sources. **Science of the Total Environment**, v. 409, p. 4435–4441, 2011. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21782212/>> Acesso em: 19 Abr 2023.

HUBENY, J. *et al.*, Characterization of carbapenem resistance in environmental samples and *Acinetobacter* spp. isolates from wastewater and river water in Poland. **Science of the Total Environment**, v. 822, n. 153437, 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35122847/>> Acesso em: 19 Abr 2023.

IWA, International Water Association. **Treatment of Micropollutants in Water and Wastewater**. London, p. 483, 2010. Disponível em: <<https://www.iwapublishing.com/books/9781843393160/treatment-micropollutants-water-and-wastewater>> Acesso em: 02 Out 2021.

JAGER, T. *et al.* Reduction of antibiotic resistant bacteria during conventional and advanced wastewater treatment, and the disseminated loads released to the environment. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2599, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6218952/>> Acesso em: 01 Nov 2021.

JEON, J. H. *et al.*, Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. **International Journal of**

**Molecular Science**, v. 16, p. 9654–9692, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4463611/>> Acesso em: 03 Mar 2023.

JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos**. 6ª ed. Rio de Janeiro-RJ: ABES, 2011.

JOSHI, I. D. *et al.*, Turbidity in Apalachicola Bay, Florida from Landsat 5 TM and Field Data: seasonal patterns and response to extreme events. **Remote Sensing**, v. 9, p. 367, 2017. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2072-4292/9/4/367>> Acesso em: 02 Abr 2023.

JYOTI, A. *et al.*, Contamination of surface and potable water in South Asia by *Salmonellae*: culture independent quantification with molecular beacon realtime PCR. **Science of Total Environment**, v. 408, p. 1256–1263, 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20035972/>> Acesso em: 20 Abr 2023.

KAKOULLIS, L. *et al.*, Mechanisms of Antibiotic Resistance in Important Gram-Positive and Gram-Negative Pathogens and Novel Antibiotic Solutions. **Antibiotics**, v. 10, p. 405, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/antibiotics10040415>> Acesso em: 20 Nov 2021.

KIM, D. W., CHA, C. J. Antibiotic resistome from the One-Health perspective: understanding and controlling antimicrobial resistance transmission. **Experimental and Molecular Medicine**, v. 53, p. 301-309, 2021. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s12276-021-00569-z>> Acesso em: 11 Nov 2021.

KORVENIEWSKA, E., HARNISZ, M. Relationship between modification of activated sludge wastewater treatment and changes in antibiotic resistance of bacteria. **Science of the Total Environment**, v. 639, p. 304–315, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29791883/>> Acesso em: 09 Fev 2023.

LAMBA, M., AHAMMAD, S. Z., Performance comparison of secondary and tertiary treatment systems for treating antibiotic resistance. **Water Research**, v. 15, n. 127, p. 172-182, 2017. Disponível em: <doi: 10.1016/j.watres.2017.10.025>. Acesso em: 20 Abr 2023.

LEPESOVÁ, K. *et al.* Annual changes in the occurrence of antibiotic-resistant coliform bacteria and enterococci in municipal wastewater. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, p. 18470–18483, 2019. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-019-05240-9>> Acesso em: 12 Abr 2023.

LEPUSCHITZ, S. *et al.*, Whole genome sequencing reveals resemblance between ESBL-producing and carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from

Austrian rivers and clinical isolates from hospitals. **Science of the Total Environment**, v. 662, p. 227–235, 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719301986>> Acesso em: 16 Fev 2023.

LI, B. *et al.*, Diversity and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* isolates from surface water in Southeastern United States. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, p. 6355-6365, 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25107969/>> Acesso em: 14 Abr 2023.

LI, H. *et al.*, Structure and function of OprD protein in *Pseudomonas aeruginosa*: From antibiotic resistance to novel therapies. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 302, p. 63–68, 2012. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22226846/>> Acesso em: 10 Mar 2023.

LIAO, K. *et al.*, Integrating microbial biomass, composition and function to discern the level of anthropogenic activity in a river ecosystem. **Environment International**, v. 116, p. 147-155, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29679777/>> Acesso em: 09 Fev 2023.

LOGAN, L. K. WEINSTEIN, R. A. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: The Impact and Evolution of a Global Menace. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 215, p. 28-36, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5853342/>> Acesso em: 15 Fev 2023.

LORENZO, P. *et al.*, Antibiotic resistance in urban and hospital wastewaters and their impact on a receiving freshwater ecosystem, **Chemosphere**, v. 206, p. 70-82, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004565351830818>> Acesso em: 12 Abr 2023.

LOUDERMILK, E. M. *et al.*, Tracking *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase Gene as an Indicator of Antimicrobial Resistance Dissemination from a Hospital to Surface Water Via a Municipal Wastewater Treatment Plant. **Water Research**, v. 213, n. 118151, 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135422001142>> Acesso em 10 Mar 2023.

MACHADO, E. C. *et al.*, Antibiotic resistance profile of wastewater treatment plants in Brazil reveals different patterns of resistance and multi resistant bacteria in final effluents. **Science of the Total Environment**, v. 857, n. 159376, 2023. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969722064750>> Acesso em: 07 Abr 2023.

MAHANEY, A. P., FRANKLIN, R. B., Persistence of wastewater-associated antibiotic resistant bacteria in river microcosms. **Science of the Total Environment**, v. 14, n. 819, p. 153099, 2022. Disponível em:

<<http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153099>> Acesso em: 01 Fev 2023.

MANAIA, C. M., Assessing the Risk of Antibiotic Resistance Transmission from the Environment to Humans: Non-Direct Proportionality between Abundance and Risk. **Trends in Microbiology**, v. 25, n. 3, 2017. Disponível em: <

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28012687/>> Acesso em: 20 Set 2021.

MAO, D. *et al.*, Prevalence and proliferation of antibiotic resistance genes in two municipal wastewater treatment plants. **Water Research**, v. 85, p. 458-466, 2015.

Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26372743/>> Acesso em: 03 Out 2021.

MCKINNEY, C. W.; PRUDEN, A. Ultraviolet disinfection of antibiotic resistant bacteria and their antibiotic resistance genes in water and wastewater.

**Environmental Science and Technology**, v. 46, p. 13393-13400. 2012. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23153396/>> Acesso em: 20 Jun 2021.

METCALF; EDDY, **Tratamento de Efluentes e Recuperação de Recursos**, 5ª edição, 2016.

MICHAEL, I. *et al.*, Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: a review. **Water Research**, v. 47, p. 957-995, 2013.

Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135412008391>> Acesso em: 09 Nov 2021.

MISHRA, A., ALNAHIT, A., CAMPBELL, B. Impact of land uses, drought, flood, wildfire, and cascading events on water quality and microbial communities: A review and analysis. **Journal of Hydrology**, v. 596, n. 125707, 2021. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022169420311689>> Acesso em: 03 Abr 2023.

MISHRA, M *et al.*, Antibiotic Resistance Profile, Outer Membrane Proteins, Virulence Factors and Genome Sequence Analysis Reveal Clinical Isolates of *Enterobacter* Are Potential Pathogens Compared to Environmental Isolates. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 21, n. 10, p. 54, 2020. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7047878/>> Acesso em: 28 Abr 2023.

MOLALE-TOM, L. G., BEZUIDENHOUT, C. C., Prevalence, antibiotic resistance and virulence of *Enterococcus spp.* from wastewater treatment plant effluent and

receiving waters in South Africa. **Journal of Water and Health**, v. 18, n.5, p. 753-765, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33095198/>> Acesso em: 24 Abr 2023.

MORELL, E. A., BALKIN, D. M., Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: A pervasive pathogen highlights the need for antimicrobial development. **Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 83, p. 223–233, 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21165342/>> Acesso em: 12 Mar 2023.

MOTA, S. **Gestão ambiental de recursos hídricos**. 3. ed.: ABES. 344 p. Rio de Janeiro – RJ, 2008.

MOUBARECK, C. A., HALAT, D. H. Insights into *Acinetobacter baumannii*: A Review of Microbiological, Virulence, and Resistance Traits in a Threatening Nosocomial Pathogen. **Antibiotics**, v. 9, p. 119, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32178356/>> Acesso em> 09 Mar 2023.

MULDER, A. *et al.*, Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 16, n. 3, p. 177-183, 1995. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0168649694000817>> Acesso em: 30 Out 2021.

MUNITA, J. M.; ARIAS, C. A. Mechanisms of antibiotic resistance. **Microbiology Spectrum**, v. 4, n. 2, p. 1–37, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>> Acesso em: 14 Ago 2021.

NAAS, T., DORTET, L., IORGA, B. I., Structural and Functional Aspects of Class A Carbapenemases. **Current Drug Targets**, v. 17, p. 1006–1028, 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26960341/>> Acesso em: 03 Mar 2023.

NAAS, T., POIREL, L., NORDMANN, P. Minor extended-spectrum b-lactamases. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 14, p. 42–52, 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X14604742?via%3Dihub>> Acesso em: 15 Fev 2023.

NAIDOO, S., OLANIRAN, A. O., Treated Wastewater Effluent as a Source of Microbial Pollution of Surface Water Resources. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, p. 249-270, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3924443/>> Acesso em: 10 Out 2021.

NOVO, A., MANAIA, C. M., Factors influencing antibiotic resistance burden in municipal wastewater treatment plants. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.

87, p. 1157–1166, 2010. Disponível em:  
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20396880/>> Acesso em: 08 Nov 2021.

NOZHEVNIKOVA, A. N.; SIMANKOVA, M. V.; LITTI, Y. V. Application of the microbial process of anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) in biotechnological wastewater treatment. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 48, n. 8, p. 667-684, 2012. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1134/s0003683812080042>> Acesso em: 31 Out 2021.

O'NEILL, J., Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations. 2014. Disponível em: <<https://www.who.int/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>> Acesso em: 11 Out 2021.

OLIVEIRA, L. G. *et al.*, Antibiotic resistance profile and occurrence of AmpC between *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a domestic full-scale WWTP in southeast Brazil. *Water Science & Technology*, v.1, p. 108, 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29698226/>> Acesso em: 27 Abr 2023.

OLIVEIRA, M. *et al.*, Surveillance on ESBL-Escherichia coli and Indicator ARG in Wastewater and Reclaimed Water of Four Regions of Spain: Impact of Different Disinfection Treatments. **Antibiotics**, v. 12, p. 400, 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-6382/12/2/400>> Acesso em: 17 Abr 2023.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS – ONU. Transformando nosso mundo: Agenda 2030 para o desenvolvimento sustentável. 2017 Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/pos2015/agenda2030/>> Acesso em: 01 Dez 2021.

PALMEIRA, J. D. *et al.*, Producing Enterobacteriales from Douro River, Portugal - Persistent Environmental Contamination by Putative Healthcare Settings. **Antibiotics**, v. 12, n. 62, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/antibiotics12010062>> Acesso em: 11 Mar 2023.

PAPAJOVÁ, I. *et al.*, Effect of Wastewater Treatment on Bacterial Community, Antibiotic-Resistant Bacteria and Endoparasites. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 19, n. 2750, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ijerph19052750>> Acesso em: 11 Abr 2022.

PENDLETON, J. N., GORMAN, S. P., GILMORE, B. F. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 11, n. 3, p. 297-308, 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23458769/>> Acesso em: 26 Nov 2021.

PETROVICH, M. L. *et al.*, Microbial and viral communities and their antibiotic resistance genes throughout a hospital wastewater treatment system. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 153, 2020. doi: 10.3389/fmicb.2020.00153 Acesso em: 30 Out 2021.

PIZZOL, J. L. D, **Relação entre variáveis ambientais e a presença de enterobactérias resistentes a antimicrobianos isoladas de um ecossistema estuatino no sul do Brasil**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2022. Disponível em: <<https://sistemas.furg.br/sistemas/sab/arquivos/bdtd/0000014988.pdf>> Acesso em: 31 Jan 2023.

POMPEO, M. *et al.* **Ecologia de reservatórios e interfaces**. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2015. Disponível em: <<https://www.livrosabertos.sibi.usp.br/portaldelivrosUSP/catalog/book/35>> Acesso em: 29 Set 2021

POPOWSKA, M. *et al.*, The impact of environmental contamination with antibiotics on levels of resistance in soil bacteria. **Journal Environmental Quality**, v. 39, p. 1679-1687, 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21043273/>> Acesso em: 09 Nov 2021.

PRADO, C. A. *et al.* Evaluation of the use of fertilizer obtained from pharmaceutical effluent. **Revista Ambiente e Água**, Taubaté - SP, v. 14, n. 4, 2019. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/ambiagua/a/fR5PWq9bmvVsTcWkckt5JZH/?lang=en>> Acesso em: 11 Ago 2021.

QUEENAN, A. M., BUSH, K., Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, p. 440–458, 2007. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17630334/>> Acesso em: 04 Mar 2023.

RAHIMI, F. *et al.*, Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in sewage treatment plants in Tehran, Iran. **Journal of Water and Health**, v. 19, n. 2, p. 216–228, 2021. Disponível em: <<https://iwaponline.com/jwh/article/19/2/216/79854/Characterization-of-methicillin-resistant>> Acesso em: 02 Mar 2023.

RIBAS, T. B. C.; NETO, P. F., Disposição no solo de efluentes de esgoto tratado visando à redução de coliformes termotolerantes. **Revista Ambiente e Água**, Taubaté, v. 3, n. 3, p. 81-94, 2008. Disponível em: <DOI:[10.1134/S0003683812080042](https://doi.org/10.1134/S0003683812080042)> Acesso em: 31 Out 2021.

RIVERA-UTRILLA, J. *et al.*, Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. **Chemosphere**, v. 93, p. 1268–1287, 2013. Disponível

em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653513010436>>  
Acesso em: 30 Out 2021.

RIZZO, L. *et al.*, Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. **Science Total Environment**, v. 447, p. 345-360, 2013. Disponível em:  
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23396083/>> Acesso em: 01 Nov 2021.

ROCHA, M. C. V., **Microbiologia Ambiental**. Editora Intersaberes, 260 p., 2020.

RODRIGUEZ-MOZAZ, S., *et al.*, Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. **Water Research**, v. 69, p. 234–242, 2015. Disponível em:  
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25482914/>> Acesso em: 30 Out 2021.

ROULOVÁ, N. *et al.*, Antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospital wastewater in the Czech Republic. **Journal of Water and Health**, v. 20, n. 4, 2022. Disponível em:  
<<https://iwaponline.com/jwh/article/20/4/692/88198/Antibiotic-resistance-of-Pseudomonas-aeruginosa>> Acesso em: 28 Abr 2023.

ROUSHAM, E. K., UNICOMB, L., ISLAM, M. A., Human, animal and environmental contributors to antibiotic resistance in low-resource settings: integrating behavioural, epidemiological and One Health approaches. **Proceedings of the Royal Society**, v. 285, n. 20180332, 2018. Disponível em:  
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5904322/>> Acesso em: 12 Jan 2023.

RUEKIT, S. *et al.*, Molecular characterization of multidrug-resistant ESKAPEE pathogens from clinical samples in Chonburi, Thailand (2017–2018). **BMS Infectious Diseases**, v. 22, n. 695, 2022. Disponível em:  
<<https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-022-07678-8>>  
Acesso em: 02 Fev 2023.

RUSSO, N. *et al.*, Occurrence, diversity, and persistence of antibiotic resistant enterococci in full-scale constructed wetlands treating urban wastewater in Sicily. **Bioresource Technology**, v. 274, p. 468–478, 2019. Disponível em:  
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30553958/>> Acesso em: 24 Abr 2023.

SAHOO, S. *et al.*, Environmental carbapenem- resistant *Acinetobacter baumannii* in wastewater receiving urban river system of eastern India: a public health threat. **International Journal of Environmental Science and Technology**, 2022. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13762-022-04569-y>>  
Acesso em: 18 Abr 2023.

SANCHES, F. R. **Pós-tratamento de esgoto sanitário de reator anaeróbio de manta de lodo: por processos de coagulação/floculação/sedimentação e por filtração biológica aeróbia**. Dissertação de Mestrado em Engenharia Sanitária e Ambiental - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2019.

SANTAJIT, S., INDRAWATTANA, N. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *BioMed Research International*, n. 2475067, p. 8, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4871955/>> Acesso em: 14 Jan 2023.

SANTOS, C. D. **Avaliação da Eficiência da Desinfecção Mediante uso de Cloro Gás na ETE INSULAR – Florianópolis-SC**. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Curso de Pós-graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental. Florianópolis: 2014.

SANTOS, G. S. *et al.*, Study of the *Enterobacteriaceae* Group CESP (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Providencia*, *Morganella* and *Hafnia*): A Review. **The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs**, Ed. A. Méndez-Vilas, 2015. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/297730985\\_Study\\_of\\_the\\_Enterobacteriaceae\\_Group\\_CESP\\_Citrobacter\\_Enterobacter\\_Serratia\\_Providencia\\_Morganella\\_and\\_Hafnia\\_A\\_Review](https://www.researchgate.net/publication/297730985_Study_of_the_Enterobacteriaceae_Group_CESP_Citrobacter_Enterobacter_Serratia_Providencia_Morganella_and_Hafnia_A_Review)> Acesso em: 15 Abr 2023.

SANTOS, L. H. M. *et al.*, Contribution of Hospital Effluents to the Load of Pharmaceuticals in Urban Wastewaters: Identification of Ecologically Relevant pharmaceuticals. **Science of The Total Environment**, v. 461–462, p. 302-316, 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969713005111>> Acesso em: 01 Nov 2021.

SANTOS, L. H. M. L. M. *et al.*, Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, p. 45-95, 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389409017518>> Acesso em: 03 Nov 2021.

SAVIN, M. *et al.*, ESKAPE Bacteria and Extended Spectrum  $\beta$  Lactamase Producing *Escherichia coli* Isolated from Wastewater and Process Water from German Poultry Slaughterhouses. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 86, n. 8, 2020. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.02748-19>> Acesso em: 05 Jan 2023.

SHIBUKI, R. *et al.*, Characterization of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from municipal and hospital wastewater in Japan. *Journal of*

Global Antimicrobial Resistance, v. 32, p. 145-151, 2023. Disponível em:  
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36842459/>> Acesso em 29 Abr 2023.

SILVA, J. R. M. *et al.* Avaliação hidrodinâmica de dois reatores UASB e um filtro biológico aerado submerso. Anais do 28º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Rio de Janeiro, 2015. Acesso em: 22 Set 2021.

SILVA, W. T. L. *et al.*, Avaliação físico-química de efluente gerado em biodigestor anaeróbio para fins de avaliação de eficiência e aplicação como fertilizante agrícola, **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 35-40, 2012. Disponível em:  
<<https://www.scielo.br/j/qn/a/yKqrG7WxRkFqcbt4PmVvbxG/?lang=pt>> Acesso em: 01 Nov 2021.

SINGER, A. C. *et al.*, Review of antimicrobial resistance in the environment and its relevance to environmental regulators. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1728, 2016. Disponível em:  
<<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.01728/full>> Acesso em: 09 Fev 2023.

SNIS - Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. **Diagnóstico Temático Serviços de Água e Esgoto**. 2023. Disponível em:  
<<https://www.gov.br/mdr/pt-br/assuntos/saneamento/snis>> Acesso em: 11 Abr 2023.

SNIS - Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. **Diagnóstico Temático Serviços de Água e Esgoto - Visão Geral**, 2022. Disponível em:  
<<https://www.gov.br/mdr/pt-br/assuntos/saneamento/snis>> Acesso em: 11 Abr 2023.

SNIS - Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: **25º Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos – 2019**. 183 p. Ministério do Desenvolvimento Regional. Secretaria Nacional de Saneamento, Brasília-DF, 2020. Disponível em:  
<[http://www.snis.gov.br/downloads/diagnosticos/ae/2019/Diagn%C3%B3stico\\_SNIS\\_AE\\_2019\\_Republicacao\\_31032021.pdf](http://www.snis.gov.br/downloads/diagnosticos/ae/2019/Diagn%C3%B3stico_SNIS_AE_2019_Republicacao_31032021.pdf)> Acesso em: 01 Jul. 2021.

SOARES, C. M. T.; FEIDEN, A.; TAVARES, S. G. Fatores que influenciam o processo de digestão anaeróbia na produção de biogás. **NATIVA - Pesquisas Agrárias e Ambientais**, v. 5, p. 509-514, 2017. Disponível em:  
<<https://doi.org/10.5935/2318-7670.v05nespa10>>. Acesso em: 09 Out 2021.

SUETENS C. *et al.*, Prevalence of healthcare-associated infections, estimated incidence and composite antimicrobial resistance index in acute care hospitals and long-term care facilities. Results from two European point prevalence surveys, 2016 to 2017. **Euro Surveillance**, v. 23, n. 46, 2018. Disponível em:  
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30458912/>> Acesso em 05 Nov 2021.

TIMRAZ, K. *et al.*, Removal of bacterial cells, antibiotic resistance genes and integrase genes by on-site hospital wastewater treatment plants: Surveillance of treated hospital effluent quality. **Environmental Science: Water Research & Technology**, v. 3, p. 293-303, 2017. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/ew/c6ew00322b>> Acesso em: 01 Nov 2021.

TSAI, H. *et al.*, Multidrug-resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from a subtropical river contaminated by nearby livestock industries. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 200, n. 110724, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32450435/>> Acesso em: 12 Mar 2023.

TUROLLA, A. *et al.*, Antibiotic resistant bacteria in urban sewage: Role of full-scale wastewater treatment plants on environmental spreading. **Chemosphere**, v. 191, p. 761-769, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653517316843>> Acesso em: 10 Abr 2023.

UFSC, **Qualidade da Água e Controle de Poluição**. Curso de Especialização em Gestão de Recursos Hídricos. Universidade Federal de Santa Catarina. 2005.

VEHRESCHILD, M. J. G. T. *et al.*, Vancomycin-resistant enterococci (VRE): a reason to isolate? **Infection**, v. 47, p. 7-11, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s15010-018-1202-9>> Acesso em: 25 Abr 2023.

VIKESLAND, P. J. *et al.*, Toward a comprehensive strategy to mitigate dissemination of environmental sources of antibiotic resistance. **Environmental and Science Technology**, v. 51, n. 22, p. 13061-13069, 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28976743/>> Acesso em: 05 Nov 2023.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Editora UFMG, v. 1, 4 ed., 2014.

WAGNER, I., ZALEWSKI, M. Temporal changes in the abiotic/biotic drivers of selfpurification in a temperate river. **Ecological engineering**, v. 94, p. 275-285, 2016. Disponível em: < <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201800305479>> Acesso em: 13 Abr 2023.

WEINER, L. M. *et al.*, Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections. summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011–2014. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 37, p. 1288-1301, 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27573805/>> Acesso em: 05 Nov 2021.

WERNER G, *et al.* *Enterococcus faecium* strains from bloodstream infections of German hospital patients revealed a preferred prevalence of ST117 and an increasing number of vanB-type VRE between 2011 and 2017. **European Congress of Microbiology and Infectious Diseases**, Madrid; 2018. Disponível em: <<https://aricjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/2047-2994-1-21>> Acesso em: 13 Mar 2023.

WHO, World Health Organization, **WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed**. Geneva, 2017. Disponível em: <<https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>> Acesso em: 27 Nov 2021.

WHO. World Health Organization, **Antimicrobial resistance**: global report on surveillance. Bulletin of the World Health Organization. v. 61, n. 3, p. 383-394, 2014. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/112642>> Acesso em: 30 Out 2021.

WILSON, D. N. Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v. 12, n. 1, p. 35–48, 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24336183/>> Acesso em: 20 Jan 2023.

XIE, Y. *et al.*, Insight into impact of sewage discharge on microbial dynamics and pathogenicity in river ecosystem. Scientific Reports, v. 12, n. 6894, 2022. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-022-09579-x>> Acesso em: 10 Abr 2023.

XIONG, W. *et al.* Responses of plasmid-mediated quinolone resistance genes and bacterial taxa to (fluoro) quinolones-containing manure in arable soil. **Chemosphere** v. 119, p. 473–478, 2015a.

XIONG, W. *et al.* Selective pressure of antibiotics on ARGs and bacterial communities in manure-polluted freshwater-sediment microcosms. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 194, 2015b.

XU, J. *et al.*, Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in a sewage treatment plant and its effluent-receiving river. **Chemosphere**, v. 119, p. 1379-1385, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24630248/>> Acesso em: 30 Out 2021.

YADAV, S., KAPLEY, A., Antibiotic resistance: Global health crisis and metagenomics. **Biotechnology Reports**, v 29, n. 604, 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33732632/>> Acesso em: 12 Fev 2023.

YAMACHIKA, S. *et al.*, Correlation between penicillin-binding protein 2 mutations and carbapenem resistance in *Escherichia coli*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, p. 429-436, 2013. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23222859/>> Acesso em 10 Mar 2023.

YANAGIMOTO, K. *et al.*, Characterization of *Salmonella* Isolates from Wastewater Treatment Plant Influent to Estimate Unreported Cases and Infection Sources of Salmonellosis. **Pathogens**, v. 9, p. 52, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31936747/>> Acesso em: 20 Abr 2023.

YEWALE, P. P. *et al.*, Molecular profiling of multidrug-resistant river water isolates: insights into resistance mechanism and potential inhibitors. **Environmental Science and Pollution Research International**; v. 27, n. 22, p. 27279-27292, 2020. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31236860/>> Acesso em: 11 Mar 2023.

YOO, K. *et al.*, Exploring the antibiotic resistome in activated sludge and anaerobic digestion sludge in an urban wastewater treatment plant via metagenomic analysis. **Journal of Microbiology**, v. 58, p. 123–130, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31875929/>> Acesso em: 30 Nov 2021.

ZAGUI, G. S. *et al.*, Tertiary hospital sewage as reservoir of bacteria expressing MDR phenotype in Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, n. 234471, 2022. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/bjb/a/r7xFBVQyqsXyvjGwwwKpyvj/>> Acesso: 29 Abr 2023.

ZHANG, Y. *et al.*, Subinhibitory concentrations of disinfectants promote the horizontal transfer of multidrug resistance genes within and across genera. **Environmental Science and Technology**, v. 51, p. 570–580, 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27997135/>> Acesso em: 01 Nov 2021.

ZUBAIDAH, T., KARNANINGROEM, N., SLAMET, J. The self-purification ability in the Rivers of Banjarmasin, Indonesia. **Ecological engineering**, v. 20, p. 177-182, 2019. Disponível em: <<http://www.jeeng.net/The-Self-Purification-Ability-in-The-Rivers-of-Banjarmasin-Indonesia,97286,0,2.html>> Acesso em: 12 Abr 2023.