UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

ISABELLE CARDOSO ALVES DE LIMA

Efluentes hospitalares e sua relação com as estações de tratamento de esgoto com ênfase na composição Microbiológica

São José do Rio Preto
2023

Isabelle Cardoso Alves de Lima

Efluentes hospitalares e sua relação com as estações de tratamento de esgoto com ênfase na composição Microbiológica

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientadora: Prof.ª Dra. Margarete Teresa Gottardo de Almeida
Co-orientador: Dr. Wilson Tadeu Lopes da Silva

São José do Rio Preto
2023

Lima, Isabelle Cardoso Alves de

L732

Efluentes hospitalares e sua relação com as estações de tratamento de esgoto com ênfase na composição microbiológica / Isabelle Cardoso Alves de Lima. -- São José do Rio Preto, 2023

99 f. : il., tabs., fotos, mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

1. Saneamento Básico. 2. Impacto Farmacêutico. 3. Resistencia Microbiana.

I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

ISABELLE CARDOSO ALVES DE LIMA

Efluentes hospitalares e sua relação com as estações de tratamento de esgoto com ênfase na composição Microbiológica

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora :CAPES: Processo - 88887.649413/2021-00

Comissão examinadora:

Prof.ª Dra. Margarete Teresa Gottardo de Almeida
UNESP – São José do Rio Preto
Orientadora

Prof. Dr. Samir Felício Barcha
UNESP – São José do Rio Preto

Dra. Franciele Pereira Camargo
USP – São Carlos

São José do Rio Preto
04 de outubro 2023

Dedico este trabalho a minha família, em especial ao meu Pai, a minha Mãe, e aos meus Avós, por todo apoio durante o desenvolvimento deste trabalho.

Agradecimentos

A professora Margarete Teresa Gottardo de Almeida, que foi uma orientadora paciente, admirável, além de ser um ser humano de muita bondade, pelos ensinamentos acadêmicos e pela amizade, apoio e confiança.

Ao professor Wilson Lopes Tadeu, pelo apoio durante meu período em São Carlos, pela confiança no meu trabalho e pela disponibilidade e ajuda com os processos das análises físico – químicas.

A Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, por proporcionar uma pós-graduação em Microbiologia que conta professores e orientadores altamente qualificados.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e a todos os funcionários que sempre me trataram com muita simpatia e me ajudaram em diversas etapas das minhas análises, em especial a Viviane, Silviane, Alice, Adriana e a Milene.

A Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, sede do laboratório que foi realizado as análises Microbiológicas, em especial aos meus companheiros de pesquisa, Bianca, Thiago, Mariela, Emília e Luceli, pela amizade e cooperação durante o trabalho.

A Estação de Tratamento de Esgoto e Água de Barretos, pela liberação e acompanhamento durante as coletas, em especial ao Fabiano, Vitor e ao Tom.

Aos meus familiares, especialmente ao meu Pai e a minha Mãe, pelo apoio emocional e financeiro durante meu projeto.

Aos meus avôs, Adauto, Cécilia e Maria Aparecida por se fazerem presente na minha vida e acompanharem todo meu processo não só durante esse trabalho, mas durante a minha caminhada.

Aos meus amigos que de alguma forma incentivaram meu processo na pesquisa, proporcionando confiança e compreensão em todos os momentos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para elaboração deste trabalho.

"*Compartilhar seu conhecimento é uma forma de alcançar a imortalidade*"

Dalai Lama

Resumo

Os efluentes hospitalares são considerados contaminantes emergentes em águas residuais de estações de tratamento de esgoto, e tem gerado uma preocupação crescente nos últimos anos. Com avanço na produção de novos medicamentos, é inevitável sua maior distribuição e aplicação, visando melhora na saúde. Todavia, é importante ressaltar que os fármacos são complexos desenvolvidos e usados com o objetivo de promover efeitos biológicos específicos e serem excretados com facilidade, na sua forma original ou como metabólito. Quando excretados, seu destino é uma estação de tratamento, que utiliza a mesma metodologia para tratar os afluentes urbanos, sendo assim, qualquer descontaminação dos efluentes hospitalares é fortuita e inerente ao processo de tratamento. Esse estudo apresenta uma análise comparativa entre três estações de tratamento localizadas em Barretos – SP, sendo que duas delas recebem os resíduos gerados pelo Hospital do Câncer, um dos maiores e mais sofisticados centros de tratamento oncológico da América Latina. Nos anos de 2022 e 2023, foram realizadas coletas durante as quatro estações do ano, a fim de entender as diferenças e as similaridades encontradas entre as estações de tratamento. As estações foram avaliadas sob três áreas de investigação: (i) análise do material presente na biomassa das estações por Espectroscopia de Infravermelho, Análise elementar e avaliação dos paramentos físico-químicos para estabelecer uma comparação com o aceito pela legislação ambiental (ii) análise do microbioma por sequenciamento do gene ribossomal 16S em conjunto com mapeamento de oligonucleotídeos e (iii) caracterização fenotípica de suscetibilidade antimicrobiana em conjunto com a identificação bioquímica dos microrganismos. Os resultados, mostram uma similaridade tanto na análise do material presente na biomassa, quanto na identificação microbiológica e abundância relativa dos microrganismos nas três estações de tratamento, principalmente no esgoto bruto sem tratamento. Todavia, vale ressaltar que em relação a resistência microbiana, as estações de tratamento que estão ligadas ao despejo diário dos resíduos do Hospital do Câncer, apresentam índices mais elevados de fenótipos resistentes, do que quando comparado com a estação que recebe apenas o afluente urbano, sendo isso atrelado há um problema de saúde pública que merece atenção de órgãos ambientais.

Palavras-Chave: Saneamento básico. Impacto farmacêutico. Resistencia microbiana. Análise comparativa.

Abstract

HOSPITAL EFFLUENTS AND THER RELATIONSHIP WITH SEWAGE TRATMENT PLANTS WITH EMPHASIS ON THE MICROBOLOGICAL COMPOSITON

Hospital effluents are considered emerging contaminants in wastewater of sewage treatment plants and have generated increasing concern in recent years. With advancements in the production of new medications, their wider distribution and application for health improvement are inevitable. However, it is important to highlight that pharmaceuticals are complex compounds developed and used to induce specific biological effects and are easily excrete either in their original form or as metabolites. When excreted, their destination is a treatment plant that employs the same methodology to treat urban effluents. Consequently, any decontamination of hospital effluents is incidental and inherent to the treatment process. This study presents a comparative analysis of three treatment plants located in Barretos – SP, Brazil. Two of these plants receive waste generated by the Cancer Hospital, one of the largest and most sophisticated oncology treatment centers in Latin America. In the years 2022 and 2023, samples were collected during all four seasons to understand the differences and similarities among the treatment plants. The plants were assessed in three investigative areas: (i) analysis of material present in the plants biomass using Infrared Spectroscopy, Elemental Analysis and assessment of physicochemical parameters to establish a comparison with standards set by environmental regulations, (ii) microbiome analysis through 16S ribosomal gene sequencing combined with oligonucleotide mapping, and (iii) phenotypic characterization of antimicrobial susceptibility in conjunction with biochemical identification of microorganisms. The results show similarities in both the analysis of material in the biomass and microbiological identification and relative abundance of microorganisms in the three treatment plants, particularly in the untreated raw sewage. However, it is worth noting that concerning microbial resistance, the treatment stations linked to the daily disposal of waste from the Cancer Hospital show higher levels of resistant phenotypes compared to the station receiving only urban effluents. This is tied to a public health issue that warrants attention from environmental agencies.

Keywords: Basic sanitation. Pharmaceutical impact. Microbial resistance. Comparative analysis.

Lista de Ilustrações

Figura 1: Sistema Lagoa Anaeróbia - Lagoa Facultativa 28
Figura 2: Sistema Convencional de Lodo Ativado 29
Figura 3: Mapa de Localização do Munícipio de Barretos - SP 37
Figura 4: Localização das ETEs e do HA em Barretos – SP 38
Figura 5: Relação das ETEs com seu afluente e sistema de tratamento 39
Figura 6: Coleta em amostra 40
Figura 7: Pontos de coleta da ETE II 41
Figura 8: Pontos de coleta da ETE III 41
Figura 9: Pontos de coleta da ETE IV 41
Figura 10: Fluxograma das biomassas dos pontos de coleta das ETEs conforme os períodos de 2022/2023 44
Figura 11: Separação de colônias de MOs por morfologia 45
Figura 12: MOs fermentadores utilizando o KIT EPM-MILi 46
Figura 13: MOs não fermentadores no MINI KIT NF – PROV 47
Figura 14: Determinação de Staphylococcus aureus utilizando Ágar Manitol 47
Figura 15: FTIR das amostras liofilizadas, coletadas no Outono de 2022 51
Figura 16: FTIR das amostras liofilizadas, coletadas no Inverno de 2022 52
Figura 17: FTIR das amostras liofilizadas, coletadas na Primavera de 2022 53
Figura 18: FTIR das amostras liofilizadas, coletadas no Verão de 2023 54
Figura 19: FTIR da comparação das amostras liofilizadas EEB de acordo com o período sazonal 55
Figura 20: PCA das EEB e das SET referentes ao Outono, 2022 61
Figura 21: PCA das EEB e das SET referentes ao Inverno, 2022 62
Figura 22: PCA das EEB e das SET referentes a Primavera, 2022 62
Figura 23: PCA das EEB e das SET referentes ao Verão, 2023 63
Figura 24: Análise de Diversidade Microbiana - Indice de Diversidade de Shannon e Simpson 65
Figura 25: PCA referente a Abundância Relativa dos PdC das ETEs 67
Figura 26: Halo de Inibição avaliado em resistente, intermediário e sensível 70

Figura 27: Avaliação da suscetibilidade antimicrobiana da coleta do Outono e Inverno de 2022 72
Figura 28: Avaliação da suscetibilidade antimicrobiana da coleta da Primavera de 2022 e Verão de 2023..... 72

Lista de Tabelas

Tabela 1: Padrões permitidos pelo CONAMA para Lançamento de Efluentes Seção II 24
Tabela 2: As diferentes remoções de substâncias em cada nível de tratamento em uma ETE 26
Tabela 3: Data, Ano e Estação de cada coleta 39
Tabela 4: Tempo de detenção hidráulica das ETEs do ano de 2022 43
Tabela 5: Disco de difusão com antibióticos utilizados para análise AST e suas respectivas concentrações 48
Tabela 6: Resultados obtidos pela Análise Elementar do Outono e Inverno, 2022 57
Tabela 7: Resultados obtidos pela Análise Elementar da Primavera de 2022 e Verão de 2023 57
Tabela 8: Resultado do pH, Condutividade Elétrica e Turbidez dos PdC das ETEs referente ao Outono e Inverno, 2022 58
Tabela 9: Resultado do pH, Condutividade Elétrica e Turbidez dos PdC das ETEs referente a Primavera de 2022 e Verão de 2023 58
Tabela 10: Resultado dos parâmetros físico - químicos realizados pelo SAAEB 60
Tabela 11: Resultado dos parâmetros físico - químicos realizados pelo SAAEB referente ao ano de 2022 60
Tabela 12: Índices relacionados a primeira componente da PCA 66
Tabela 13: Índices relacionados a segunda componente da PCA 66
Tabela 14: Identificação das bactérias conforme os PdC das estações do outono, inverno e primavera de 2022 e verão de 2023 68
Tabela 15: Avaliação da suscetibilidade antimicrobiana do Outono, Inverno e Primavera de 2022 e Verão de 2023, em seus respectivos PdC 71
Tabela 16: Avaliação dos Antibióticos em Resistência e Sensibilidade para as estações do Outono, Inverno Primavera de 2022 e Verão de 2023 em relação as ETEs II, III e IV conforme a soma dos MOs 74

Lista de Abreviaturas e Siglas

AF – Afluente

AFHU – Afluente Hospitalar + Urbano

AFU – Afluente Urbano

AST – Antibiotic Susceptibility Testings

ASVs – Variantes de Sequenciamento de Amplicon

BHI – Brain Heart Infusion

C – Carbono

Cd – Cadmio

CE – Condutividade Elétrica

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

COT – Carbono Orgânico Total

Cr – Cromo

cro – Ceftriaxona

Cu – Cobre

DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

DQO – Demanda Química de Oxigênio

e – Eritromicina

EF – Efluente

EFH – Efluentes Hospitalares

EFU – Efluente Urbanos

ETE – Estação de tratamento de esgoto

ETE II – Estação de Tratamento II

ETE III – Estação de Tratamento III

ETE IV – Estação de Tratamento IV

ETEs – Estações de tratamento de esgoto

EUCAST – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

f – Nitrofurantoína

FAMERP – Faculdade de Medicina de Rio Preto

H – Hidrogênio

HCA – Análise hierárquica de agrupamentos

Hg – Mercúrio

IEP – Instituto de Ensino e Pesquisa

ME – Micropoluentes Emergentes

mm – Milímetro

MO – Matéria Orgânica

N – Nitrogênio

ox – Oxacilina

p – Penicilina

pb – Polimixina B

PCA – Análise dos Componentes Principais

PdC – Pontos de Coleta

pH – Potencial Hidrogeniônico

POP – Procedimento Operacional Padrão

rd – Rifampicina

s – Estreptomicina

SAAEB – Serviço Autônomo de Água e Esgoto de Barretos

SS – Sólidos em Suspensão Totais

sxt – Sulfametoxazol/trimetoprima

tec – Teicoplanina

tim – Ticarcilina/ácido clavulânico

tob – Tobramicina

va – Vancomicina

w – Trimetoprima

Sumário

1. Introdução 18
1.1. Motivação e Escopo 19
1.2. Objetivo Geral 20
1.3. Objetivos Específicos 20
1.4. Organização da dissertação 20
2. Fundamentação Teórica 22
2.1. As Estações de Tratamento 22
2.1.1. Legislação Ambiental 23
2.1.2. Sistemas de Tratamento de Esgoto 24
2.1.3. Pré Tratamento 25
2.1.4. Tratamento Primário 25
2.1.5. Tratamento Secundário 26
2.1.6. Tratamento Terciário 26
2.1.7. Lagoas de Estabilização 27
2.1.8. Tratamento por Lodo Ativado 28
2.1.9. Efluentes hospitalares em ETEs 29
2.2. Efluentes Hospitalares 30
2.2.1. Contaminantes Emergentes 30
2.2.2. Impactos Ambientais 31
2.2.3. Bactérias Resistentes aos Antibióticos (BRA) 32
2.2.4. Os Antibióticos antibacterianos mais usados no Brasil 33
2.3. Trabalhos Correlatos 33
2.3.1. As características dos EFH 33
2.3.2. O ambiente e a saúde 34
2.4. Considerações finais 35
3. Descrição experimental do projeto 36
3.1. Área de Estudo 37
3.1.1. Município de Barretos 37
3.1.2. Hospital do Câncer de Barretos 38
3.1.3. Sistema de Tratamento de Efluentes 38
3.2. Coletas 39
3.3. Análise Físico – Químicas 42
3.3.1. Liofilizador 42
3.3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) 42
3.3.3. Análise Elementar (CHN) 43
3.3.4. Parâmetros Físico – Químicos 43

3.4. Análise Genotípica 44
3.4.1. Amostragem 44
3.4.2. Biomassa 44
3.4.3. Extração do DNA 44
3.4.4. Identificação Taxonômica 45
3.5. Análise Microbiológica Fenotípica 45
3.5.1. Cultura microbiológica 45
3.5.2. Técnica de Coloração de Gram 46
3.5.3. MOs Gram (-) 46
3.5.4. MOs Gram (+) 47
3.5.5. Resistência Microbiana 48
3.6. Análise Estatística 49
4. Resultados e discussão 50
4.1. Análises Físico – Químicas 50
4.1.1. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier 50
4.1.2. Analisador Elementar (CHN) 57
4.1.3. Parâmetros Físico – Químicos (pH, Turbidez e Condutividade Elétrica) 58
4.1.4. Parâmetros Físico – Químicos (SAAEB) 59
4.1.5. Análise de Componentes Principais dos Parâmetros Físico – Químicos 61
4.2. Análise Genotípica por Biologia Molecular 63
4.2.1. Abundância Relativa 63
4.2.2. Diversidade Alfa (α) 64
4.2.3. PCA para Diversidade Microbiana 65
4.3. Análise Fenotípica de suscetibilidade antimicrobiana 68
4.3.1. Identificação das Bactérias selecionadas nas ETEs 68
4.3.2. Análise da Resistência antimicrobiana 69
4.3.3. Avaliação dos Antibióticos 74
4.4. Estatística 74
5. Conclusões 76
Referências 78
ANEXO A: Valores brutos da análise elementar. Resultado expresso em (%) do C, H e N pelo Analisador Elementar 84
ANEXO B: Taxonomia em categoria de filo expresso em porcentagem dos MOs encontrados nas ETEs II, III e IV, conforme a Análise de Biologia Molecular 85
ANEXO C: Taxonomia em categoria de gênero expresso em porcentagem dos MOs encontrados nas ETEs II, III e IV, conforme a Análise de Biologia Molecular 86
ANEXO D : Halo de inibição expresso em mm para a ETE II, III e IV de acordo com o PdC, realizadas para o Outono, Inverno e Primavera de 2022 e Verão de 2023..... 94

ANEXO E: Valores de referência avaliados em Resistente, Intermediário e Sensível para cada disco de difusão de antibiótico em determinada concentração, de acordo com o microrganismo 96
ANEXO F: Estatística ANOVA aplicado em parâmetros físico – químicos dos anos de 2019, 2020 e 2021 98

1. Introdução

Os produtos farmacêuticos e seus metabólitos, são considerados um grupo de micropoluentes emergentes (ME), que são reconhecidos e caracterizados devido à sua presença em quantidades vestigiais entre diferentes matrizes ambientais e organismos vivos (ABBASI et al., 2022). Os ME são potencialmente perigosos e têm atraído uma preocupação mundial crescente nos últimos anos. Esses compostos são considerados um dos problemas ambientais em maior crescimento da atualidade. Devido à aplicabilidade em complexos de saúde, os medicamentos são compostos que contém substâncias que são metabolizadas em diferentes graus, e após seu uso são lançadas em águas residuais (AL-QAIM et al., 2014; CHONOVA et al., 2016)

Os fármacos são compostos bioativos, ou seja, têm o objetivo de promover efeitos biológicos específicos no organismo. Após administradas, essas substâncias são absorvidas e distribuídas pelo corpo, parcialmente metabolizadas e finalmente excretadas em suas formas originais, conjugadas, ou como metabólitos (HEBERER, 2002).

Quando excretadas, essas substâncias têm como destino o esgoto, que posteriormente, irá para uma estação de tratamento, que normalmente emprega processos biológicos como tecnologia, não utilizando técnicas complementares, ou seja, qualquer remoção desses compostos é fortuita e inerente ao processo de tratamento (FRANCISCO DE AQUINO et al., 2013).

Os hospitais são fontes críticas e importantes de lançamento de fármacos que entram nos esgotos municipais. Estes fármacos são considerados de importância ambiental, devido às quantidades consumidas, toxicidade e persistência no ambiente, sendo prevalentes, os betabloqueadores, analgésicos, anti-inflamatórios, hormônios esteroides, citostáticos e

drogas para tratamento de câncer, compostos neuro-ativos, agentes redutores de lipídeos no sangue, antiparasitas e antibióticos (CARVALHO; PENTEADO, 2009)

Dessa forma, motivado pela importância e complexidade do entendimento de como esses fármacos podem estar atuando sobre a microbiota de diferentes estações de tratamento de esgoto (ETEs), esse estudo apresenta uma análise comparativa entre três ETEs localizadas em Barretos, cidade localizada no estado de São Paulo, sendo que duas dessas estações recebem os afluentes gerados pelo Hospital do Câncer de Barretos, um dos maiores e mais sofisticados centros de tratamento oncológico da América Latina.

1.1. Motivação e Escopo

Desde a década de 1970, diversas pesquisas têm sido realizadas a fim de entender como os ME descartados nas ETEs, podem causar problemas ambientais, interferindo diretamente na microbiota das estações. Algumas pesquisas (BOILLOT et al., 2008; NIEMI et al., 2020; TAMBOSI et al., 2010; VERLICCHI, 2021) têm demonstrado a interferência desses poluentes nas águas residuais quando comparado ao esgoto urbano.

Os hospitais são os principais responsáveis pelo lançamento de fármacos em ETEs. A presença desses compostos, pode impedir o crescimento de microrganismos que habitam o lodo e contribui para o desenvolvimento de bactérias diferentes quanto aos padrões fenotípicos de suscetibilidade antimicrobiana, devido aos compostos químicos ambientais. Essas bactérias influenciam diretamente a comunidade microbiana da estação, mudando sua estrutura e função, podendo acarretar em mudanças nos corpos receptores (TIWARI et al., 2020).

As águas residuais hospitalares são compostas pelos efluentes de diversos serviços: cozinha, lavanderia interna, sistemas de aquecimento e refrigeração, laboratórios, departamentos de radiologia, ambulatórios, centros transfusionais e enfermarias. Devido à natureza e quantidade dos micro poluentes que eles abrigam, essas substâncias ativas de medicamentos e seus metabólitos, estão normalmente estão presentes em concentrações de μg/L (VERLICCHI et al., 2012).

Assim considerando-se que os hospitais são pontos críticos de propagação de micropoluentes, pelos motivos expostos previamente, a análise e comparação da microbiota de estações de tratamento é de grande importância. Nesse sentido respostas sobre a interferência de ME sobre a microbiota de águas residuais das estações poderão explicar as alterações relacionadas ao seu funcionamento e, consequentemente reduzir os impactos ambientais ao sistema de saneamento.

1.2. Objetivo Geral

O objetivo desse trabalho foi avaliar, em três áreas de investigação, se os efluentes gerados por um grande hospital instalado em uma cidade de médio porte do noroeste paulista, impactam sobre as características físico-químicas e biológicas gerais no esgoto bruto e no líquido tratado das ETEs.

1.3. Objetivos Específicos

Para fins de análise, este trabalho foi dividido em objetivos específicos, a saber:

- Análise das propriedades Físico-Químicas, com objetivo de comparar a biomassa presente nos sistemas de tratamento.
- Análise do perfil genotípico característico de espécies microbianas, com o intuito de se obter um panoroma com todos os microrganismos presentes e compará-los entre as estações de tratamento.
- Análise do perfil fenotípico da suscetibilidade antimicrobiana a diversos antibióticos, com o objetivo de separá-los em organismos resistentes, intermediários ou sensíveis, assim como realizar sua identificação bioquímica.

Correlacionar os diversos resultados e compreender a influência do hospital na microbiota das estações de tratamento.

1.4. Organização da dissertação

Na introdução foi apresentada a preocupação emergente com descarte dos micropoluentes oriundos dos hospitais nas ETEs, e de que forma podem estar alterando o microbioma das estações. O restante do texto está organizado em outras quatro seções. Na Seção 2 é apresentada a fundamentação teórica com os conceitos relevantes para entendimento do trabalho, tais como: estruturação e níveis de tratamento das estações, as metodologias aplicadas nos sistemas de tratamentos com foco nas lagoas de estabilização e tecnologia por lodo ativado, os tipos de tratamento (mecânico, físico, químico e biológico), os efluentes hospitalares e suas características, os principais antibióticos utilizados no Brasil e os impactos no meio ambiente e na saúde. Na seção 3 é exposto de forma detalhada o procedimento experimental, desde a amostragem, coletas, mapeamento e as metodologias utilizadas nas áreas

específicas de: microbiologia, biologia molecular e físico-química. Na seção 4 são expostos os resultados do estudo e por fim, na seção 5 está apresentado a conclusão do trabalho.

2. Fundamentação Teórica

A gestão e o tratamento dos efluentes hospitalares são questões de preocupação atual em um número crescente de países em todo o mundo. Neste capítulo é apresentado a fundamentação teórica que embasa o funcionamento das estações de tratamento, os parâmetros estabelecidos pela legislação para lançamento de efluentes, a presença de produtos farmacêuticos em águas residuais, a presença de bactérias multirresistentes a antibióticos, os impactos ambientais, na saúde e também na população causados pela presença dos micropoluentes em águas residuais.

2.1. As Estações de Tratamento

O planejamento envolvido nas operações e construção das ETEs, deve ser bem caracterizado, levando em consideração os seguintes aspectos: objetivos do tratamento, nível do tratamento e estudos de impacto ambiental no corpo receptor. O processo para projetar as estações de tratamento, conta com diversas particularidades: (a) necessidade de otimização de desempenho das estações; (b) confiabilidade de processos de tratamento e seleção de parâmetros adequados de projeto; (c) controle de odor; (d) estratégias de controle de processo; (e) expansão da capacidade de tratamento e (f) eficiência energética nos processos de tratamentos de esgotos (BOLZANI et al., 2022).

A implementação de ETE, depende das características do afluente e é feita com base em alguns parâmetros previamente analisados, como custo, viabilidade, eficiência, praticidade, confiabilidade, impacto ambiental, produção de lodo, dificuldade de operação, requisitos do pré-tratamento e formação de subprodutos potencialmente tóxicos, para que seja

feita a escolha da tecnologia adequada para cada tratamento. A remoção dos poluentes é realizada através de processos mecânicos, físicos, químicos e biológicos, nos quais os setores responsáveis empregam metodologias de baixo custo e simples operação por razões econômicas e de praticidade. Não existe um único método capaz de realizar o tratamento de forma eficiente, isso porque os afluentes apresentam elevado grau de complexidade, sendo necessário uma combinação de diferentes métodos para tratá-los (CRINI; LICHTFOUSE, 2019).

A confiabilidade de um sistema de tratamento de esgoto, pode ser definida como a probabilidade de se conseguir um desempenho adequado por um período específico, sob determinadas condições. Em termos de desempenho de uma estação de tratamento, a confiabilidade pode ser entendida como a porcentagem de tempo em que se conseguem as concentrações esperadas no efluente para cumprir com os padrões de lançamento. Assim, as ETEs serão completamente confiáveis se não houver falha no desempenho, ou seja, se não houver violação dos limites preconizados pelo projeto construtivo e pelas legislações ambientais. A falha do processo de tratamento ocorrerá sempre que o padrão de lançamento for excedido (OLIVEIRA; VON SPERLING, 2008).

2.1.1. Legislação Ambiental

As estações de tratamento utilizam as abordagens necessárias no processo de descontaminação e purificação dos efluentes, conforme estabelecido pela legislação. O órgão responsável por estabelecer as diretrizes de lançamento de efluentes em corpos receptores no Brasil é o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), por meio da resolução nº 430 estabelecida em maio de 2011 e nº 357 estabelecida em março de 2005 (CONAMA, 2005, 2011).

O capítulo III “Diretrizes para a gestão de efluentes” do documento que estabelece as normas para lançamento de efluentes, determina as condições e padrões de lançamento de efluentes, sendo fornecido pelo Ministério do Meio Ambiente, por meio do CONAMA, ressaltando a importância do monitoramento e controle dos efluentes gerados por fontes potencialmente poluidoras dos recursos hídricos, estabelecendo a necessidade do acompanhamento periódico das águas residuais lançadas nos corpos receptores com base em amostragem representativa (CONAMA, 2010).

A Tabela 1 complementa os parâmetros físico-químicos permitidos pela legislação ambiental para o lançamento de efluentes.

Tabela 1: Padrões permitidos pelo CONAMA para Lançamento de Efluentes Seção II

Parâmetros	Padrões
pH	≥ 5 e ≤ 9
Temperatura	$< 40^{o}C$ (corpo receptor não deverá exceder 3ºC)
Turbidez	≤ 40 NTU
Materiais sedimentáveis	< 1 mL.L^{-1}
Vazão de lançamento	$\leq 1,5$ vezes a vazão média do agente poluidor
Óleos e graxas	Minerais: ≤ 20 mg.L^{-1} Vegetais e animais: ≤ 50 mg.L^{-1}
Materiais flutuantes	Ausência
Demanda Bioquímica de Oxigênio	Remoção mínima: 60%
Arsênio total	$\leq 0,5$ mg.L^{-1}
Bário total	$\leq 5,0$ mg.L^{-1}
Boro total	$\leq 5,0$ mg.L^{-1}
Cádmio total	$\leq 0,2$ mg.L^{-1}
Chumbo total	$\leq 0,5$ mg.L^{-1}
Cianeto total	$\leq 1,0$ mg.L^{-1}
Cianeto livre	$\leq 0,2$ mg.L^{-1}
Cobre dissolvido	$\leq 1,0$ mg.L^{-1}
Cromo hexavalente	$\leq 0,1$ mg.L^{-1}
Cromo trivalente	$\leq 1,0$ mg.L^{-1}
Estanho total	$\leq 4,0$ mg.L^{-1}
Ferro dissolvido	$\leq 15,0$ mg.L^{-1}
Fluoreto total	$\leq 10,0$ mg.L^{-1}
Manganês dissolvido	$\leq 1,0$ mg.L^{-1}
Mercúrio total	$\leq 0,01$ mg.L^{-1}
Níquel total	$\leq 2,0$ mg.L^{-1}
Nitrogênio amoniacal total	$\leq 20,0$ mg.L^{-1}
Prata total	$\leq 0,1$ mg.L^{-1}
Selênio total	$\leq 0,30$ mg.L^{-1}
Sulfeto	$\leq 1,0$ mg.L^{-1}
Zinco total	$\leq 5,0$ mg.L^{-1}
Benzeno	$\leq 1,2$ mg.L^{-1}
Clorofórmio	$\leq 1,0$ mg.L^{-1}
Dicloroeteno	$\leq 1,0$ mg.L^{-1}
Estireno	$\leq 0,07$ mg.L^{-1}
Etilbenzeno	$\leq 0,84$ mg.L^{-1}
Fenóis totais	$\leq 0,5$ mg.L^{-1}
Tetracloreto de carbono	$\leq 1,0$ mg.L^{-1}
Tricloroeteno	$\leq 1,0$ mg.L^{-1}
Tolueno	$\leq 1,2$ mg.L^{-1}
Xileno	$\leq 1,6$ mg.L^{-1}

Fonte: Adaptado de Resolução CONAMA nº430/2011

2.1.2. Sistemas de Tratamento de Esgoto

De acordo com METCALFY (1991), o processo operacional que compõe as ETEs é composto por operações unitárias que ocorrem concomitantemente e sua integração é responsável pelo tratamento da água residual. Essas operações são estabelecidas da seguinte forma:

a) Operações Físicas: Método de tratamento no qual as forças físicas são predominantes, ou seja, triagem, mistura, floculação, sedimentação, flotação e filtração.
b) Operações Químicas: Parte do tratamento na qual ocorre a remoção ou a conversão dos contaminantes pela adição de produtos químicos ou por meio das reações químicas, como por exemplo, precipitação, adsorção e desinfecção.
c) Operações Biológicas: A remoção dos contaminantes é feita por meio da atividade biológica dos microrganismos, na qual ocorre a remoção da matéria orgânica, carbonácea, nitrificação e desnitrificação.

O processo de descontaminação dos poluentes pode consistir de até quatro etapas principais sucessivas, com início no tratamento preliminar ou pré-tratamento (físico e mecânico), tratamento primário (físico e químico), tratamento secundário ou de purificação (biológico), tratamento terciário ou final (físico e químico). Adicionalmente, existe a disposição final ou o tratamento do lodo formado (derramamento supervisionado, reciclagem ou incineração) (CRINI; LICHTFOUSE, 2019)

2.1.3. Pré Tratamento

Os sistemas de tratamento são constituídos de etapas (operações unitárias), que objetivam a remoção dos poluentes. O objetivo do pré tratamento é a retirada dos sólidos grosseiros, flutuantes e matéria mineral sedimentável, por meio da utilização de grades, desarenadores (caixas de areia), caixas de retenção de óleo e gorduras (GIORDANO, 2004).

2.1.4. Tratamento Primário

O tratamento primário consiste na remoção de sólidos inorgânicos e da matéria orgânica em suspensão. A demanda bioquímica de oxigênio (DBO) é removida parcialmente e os sólidos em suspensão totais (SS) quase totalmente. Os processos de tratamento primário incluem a decantação primária ou simples, flotação, neutralização e precipitação química com baixa eficiência (NUNES,2012).

2.1.5. Tratamento Secundário

O principal objetivo do tratamento secundário é a remoção da matéria orgânica (MO). A MO pode estar presente como DBO na sua forma solúvel, ou seja, quando não temos sua remoção por métodos físicos, sendo sedimentada durante o processo, ou na forma de DBO em suspensão quando há permanência em massas mais finas que não foram removidas no tratamento primário. Além disso, nessa etapa é possível que seja realizado a remoção de sólidos inorgânicos, principalmente nitrogênio e fosforo. É importante citar que esse tratamento é baseado em processos biológicos, no qual reações bioquímicas são realizadas por microrganismos, acelerando o processo de tratamento. Existem diversas metodologias que podem ser aplicadas nessa etapa, como por exemplo, tratamento por lodo ativado, lagoas de estabilização, reatores anaeróbicos com alta eficiência, lagoas aeradas, filtros biológicos, e a precipitação química com alta eficiência (SPERLING, 2007).

2.1.6. Tratamento Terciário

Para se obter um efluente com alta qualidade, é empregado o tratamento terciário, que utiliza uma tecnologia baseada na adsorção de carvão ativado, osmose reversa, eletrodiálise, troca iônica e filtros de areia com objetivo de realizar a remoção de compostos tóxicos e não biodegradáveis, remoção de nutrientes e oxidação química (NUNES,2012). Nesta etapa, ocorre a remoção de organismos patogênicos, geralmente com uso de processos oxidativos, com uso de cloro livre ou ozônio.

A Tabela 2, exemplifica de forma geral a remoção que acontece durante os níveis de tratamento na ETE.

Tabela 2: As diferentes remoções de substâncias em cada nível de tratamento em uma ETE

Nível de Tratamento	Remoção
Preliminar	Sólidos Suspensos (Areia e Materiais grande)
Primário	Sólidos Suspensos Decantáveis
	DBO associada a matéria orgânica dos Sólidos em Suspensão (SS)
Secundário	DBO associada a matéria orgânica particulada e a que não totalmente eliminada no tratamento primário
	DBO solúvel
Terciário	Nutrientes
	Organismos Patogênicos
	Composto não biodegradáveis
	Metais
	Sólidos inorgânicos dissolvidos
	Restante dos sólidos em suspensão

Fonte: Adaptado de (SPERLING, 2007)

Segundo SPERLING (2007), a eficiência de remoção de um parâmetro no tratamento ou em uma etapa do tratamento é dada pela Equação (1)

$$E = \frac{Ca - Ce}{Ca} . 100 \qquad (1)$$

Onde:

E = Eficiência de Remoção (%)

Ca = Concentração do Parâmetro no Afluente Poluente ($mg.L^{-1}$)

Ce = Concentração do Parâmetro no Efluente Poluente ($mg.L^{-1}$)

A condução das estratégias adotadas nas rotinas operacionais das ETEs provém do equilíbrio ou do custo-benefício obtido entre os indicadores de desempenho ambiental, desde que vinculados à qualidade do efluente e aos indicadores econômicos que estão atrelados aos custos operacionais. Dessa forma, a avaliação da eficiência é de extrema relevância, uma vez que as estações de tratamento fazem parte do grupo do saneamento básico e, consequentemente, da sustentabilidade econômica (SOUZA et al., 2021).

2.1.7. Lagoas de Estabilização

Uma das formas mais comuns e usadas para tratamento de efluentes é por meio das lagoas de estabilização. Essas lagoas utilizam uma tecnologia mais barata e simples no sistema operacional, "mimetizando" um processo natural. A maior dificuldade encontrada em lagoas de estabilização é a necessidade de uma grande área para que seja realizado sua construção. Por esse motivo, algumas cidades precisam optar por metodologias compactas, como por exemplo, a utilização do sistema de lodo ativado.

De forma geral, essas lagoas são biorreatores que recebem diariamente águas de baixo fluxo, relativamente rasas, construídas para armazenar resíduos específicos e através de processos biológicos realizam a estabilização da MO. O tratamento biológico pode ocorrer em condições anaeróbias, facultativas ou aeróbias, de acordo com a disponibilidade de oxigênio dissolvido, da atividade biológica predominante, da carga orgânica afluente, das características físicas de cada unidade destinadas a tratar águas residuárias brutas ou efluentes pré tratados, por processos naturais e artificiais (FILHO, 2007).

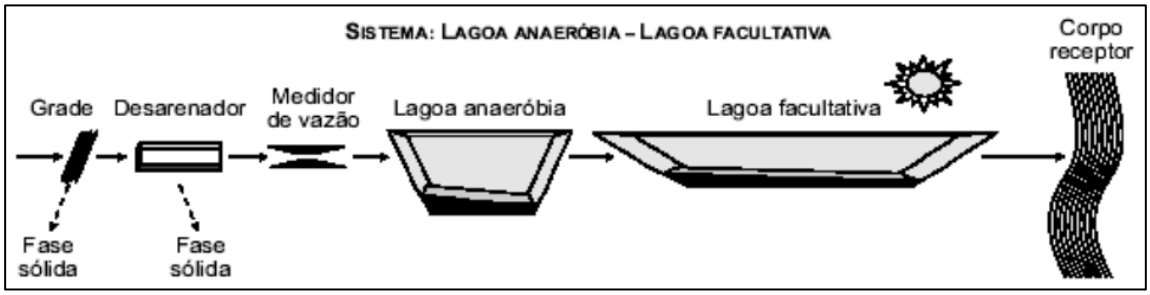
As lagoas anaeróbias têm como principal função a remoção da DBO e dos SS. Estes sólidos são sedimentados no fundo da lagoa, sendo digeridos, posteriormente, pela ação das bactérias anaeróbias. A redução de DBO somente ocorre após a formação de ácidos produzidos

pelos microrganismos acidogênicos, sendo posteriormente, convertidos em metano, dióxido de carbono e água pelos microrganismos metanogênicos. Neste tipo de lagoa, a redução de coliformes não é significante, quando comparadas com as facultativas e de maturação (VON SPERLING, 2002).

As lagoas facultativas, têm como foco principal, a remoção da DBO e de patógenos. O processo de estabilização da matéria orgânica ocorre em três zonas distintas: zonas aeróbia, facultativa e anaeróbia. A presença de oxigênio nessas lagoas é suprida pelas algas, que produzem, por meio da fotossíntese, oxigênio durante o dia e o consomem durante a noite. A zona fótica, parte superior, a MO dissolvida é oxidada pela respiração aeróbia, enquanto na afótica, zona inferior, a MO sedimentada é convertida em dióxido de carbono, água e metano (FILHO, 2007).

A Figura 1 apresenta o sistema ilustrativo de uma lagoa de estabilização, que conta com dois processos, o primeiro é o tratamento realizado pela lagoa anaeróbia e posteriormente pela lagoa facultativa.

Figura 1: Sistema Lagoa Anaeróbia - Lagoa Facultativa



Fonte: Adaptado de SPERLING (2002)

2.1.8. Tratamento por Lodo Ativado

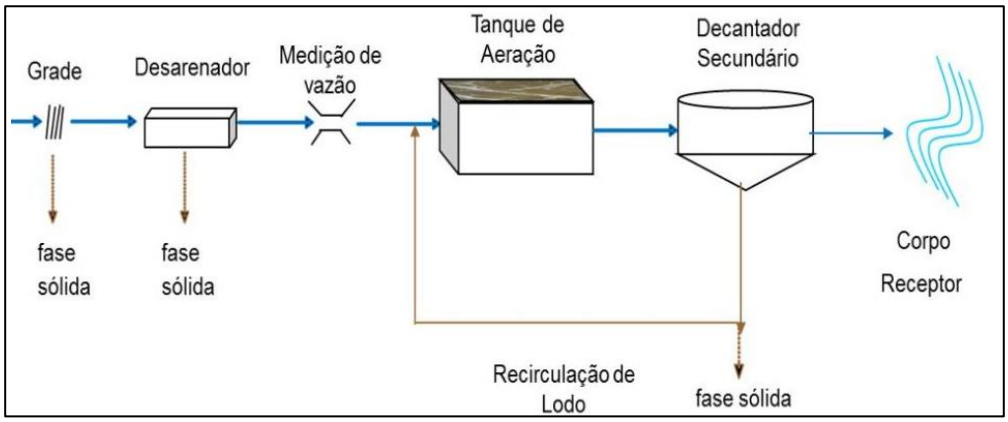
O sistema de lodos ativados é amplamente utilizado, em nível mundial, para o tratamento de despejos domésticos e industriais, em situações em que é necessária elevada qualidade do efluente e reduzidos requisitos de área. No entanto, o sistema de lodos ativados inclui um índice de mecanização superior ao de outros sistemas de tratamento, implicando uma operação mais sofisticada e de maiores consumos de energia elétrica (SPERLING, 2012).

O sistema consiste em um processo de oxidação aerada (oxidação de compostos orgânicos e inorgânicos do afluente). Trata-se de um processo biológico que faz parte de uma rede complexa de associação entre: bactérias, protozoários, fungos e metazoários (BURGESS; QUARMBY; STEPHENSON, 1999). Todo esse processo é denominado como uma comunidade, uma vez que para um bom funcionamento do tratamento e, para geração de

efluente de alta qualidade, é necessário uma cooperação entre os microrganismos presentes dentro do sistema, sendo que cada um tem sua importância. A análise microbiológica do lodo é capaz de fornecer informações sobre o desempenho da ETE, sendo que as mudanças nas condições ambientais provenientes do afluente, ou de um algum processo da operação pode levar a alteração do lodo, influenciando nos processos de biodegradação e nas características do efluente tratado (SANTOS et al., 2009).

A Figura 2 representa o fluxograma típico do sistema de lodos ativados convencionais.

Figura 2: Sistema Convencional de Lodo Ativado



Fonte: Adaptado de SPERLING (2012)

O sistema de lodo ativado compõe uma relação mutualística, uma vez que os microrganismos dependem um do outro para que a água residual seja tratada de forma eficiente. É necessário que as bactérias consumam a MO (destinada para seu metabolismo) para realizar a limpeza do efluente. Todavia, é importante ressaltar que apesar de ser um sistema relativamente simples, ele é cercado de variáveis que podem interferir e afetar todo o sistema de tratamento, como por exemplo, a combinação da microbiota bacteriana, a mudança do afluente recebido, alteração de parâmetros físico-químicos como pH, temperatura, turbidez e condutividade (B. AHANSAZAN, 2014).

2.1.9. Efluentes hospitalares em ETEs

Tal como apresentado, todo o sistema das ETEs é monitorado com o intuito de cumprir os parâmetros estabelecidos pelo órgão regulador para que se possa realizar o despejo de forma ambientalmente correta dos efluentes gerados. Todavia, é importante ressaltar que, a maioria dos sistemas de tratamento é focado no tratamento biológico, não objetivando um grupo

específico, ou seja, os compostos provenientes dos hospitais não recebem um tratamento adequado para seu padrão de lançamento.

Dessa forma, um problema ambiental mundial é o despejo das águas residuais dos hospitais, uma vez que, dentro do complexo de saúde, diversos fármacos, como antibióticos, analgésicos, hormônios, substâncias para tratamento de câncer, entre muitos outros que podem ser lançados na sua forma original ou como metabolito após a absorção no corpo do indivíduo e não recebem um tratamento adequado nas ETEs.

2.2. Efluentes Hospitalares

Os produtos farmacêuticos são um grupo grande e diversificado de compostos projetados para prevenir, curar e tratar doenças e por esse motivo, eles têm sido usados em quantidades significativas em todo o mundo. Seu uso e consumo estão aumentando consistentemente devido às descobertas de novos medicamentos. Após a ingestão, esses compostos sofrem processos metabólicos no organismo. Frações significativas do composto original são excretadas na forma não metabolizada ou como metabólitos em esgoto bruto e sistemas de tratamento de águas residuais. Porém, vale ressaltar que as ETEs não são adequadas o suficiente para atingir altas eficiências de remoção para o espectro de micropoluentes (JELIC et al., 2011; VERLICCHI; AL AUKIDY; ZAMBELLO, 2015).

A pouca ou quase nenhuma regulamentação relativa às águas residuais hospitalares no mundo, ou mesmo que exista, não é conhecida internacionalmente, pois foi publicada no idioma nacional/regional em cada país ou cidade adotado. Mesmo que em alguns lugares exista regulamentação, os efluentes hospitalares (EFH) são caracterizados e tratados no mesmo grupo dos efluentes urbanos (EFU). Porém já foi retratado no trabalho de KHAN e colaboradores (2021) que o conjunto de produtos farmacêuticos em efluentes é maior em estações que estejam conectadas com hospitais.

2.2.1. Contaminantes Emergentes

Segundo AL-QAIM (2014), os produtos farmacêuticos são considerados um grupo de contaminantes emergentes em águas residuais e um dos problemas ambientais em ascensão da atualidade. Sendo assim, o afluente gerado pelos hospitais contém uma multiplicidade de agentes tóxicos ou persistentes, como solventes, detergentes, radionuclídeos, produtos químicos, patógenos, radioisótopos, desreguladores endócrinos, contraste para raios X

substâncias bactericidas, anti-inflamatórios não esteroides, betabloqueadores, antibióticos, antiepilépticos, medicamentos antivirais e antipsicóticos que são lançados nas ETEs (KHAN et al., 2021).

O metabolismo dos fármacos em um organismo inicia-se por diversas reações bioquímicas de hidroxilação, epoxidação, redução, hidrólise e adição de grupos funcionais. Em seguida, moléculas endógenas altamente polares ligam-se aos metabólitos formados nas reações anteriores ou aos próprios fármacos originais não-metabolizados, de forma a torná-los mais solúveis em água, facilitando assim a sua excreção. Ao contrário de outros microcontaminantes, tais como pesticidas e poluentes industriais, cujas concentrações no meio ambiente tenderão a diminuir nos próximos anos devido a restrições legais, é esperada uma ampliação no consumo dos fármacos em decorrência dos seus efeitos benéficos à saúde, podendo, consequentemente, resultar em aumento na sua ocorrência no meio ambiente. Dependendo das características químicos dos fármacos, eles podem ser encontrados no ambiente como seus produtos originais ou metabolitos dentro da faixa de 5 a 90% (QUOC TUC et al., 2017; TAMBOSI et al., 2010).

2.2.2. Impactos Ambientais

O lançamento constante de compostos gerados pelos hospitais nas águas residuais das ETEs traz uma preocupação em relação ao impacto ambiental que eles podem estar causando tanto na alteração de algum parâmetro durante o processo de tratamento, quanto ao efluente que será despejado no corpo receptor. Apresentado no trabalho de PANOUILLÈRES (2007), os EFH são misturas complexas capazes de gerar grandes problemas ambientais, pois são de 5 a 15 vezes mais tóxicos que os EFU clássicos.

O efeito dos produtos farmacêuticos pode variar de espécie para espécie devido à diferença na expressão gênica do mesmo gene entre as espécies ou devido à alteração na solubilidade ou potência dos medicamentos devido à ligação dos produtos farmacêuticos com moléculas orgânicas presentes em locais ambientais (TIWARI et al., 2020).

As alterações que os EFH podem causar tanto na microbiota das ETEs, quanto no ecossistema aquático que recebe o efluente após o tratamento são diversas, e, algumas das consequências são: interferência negativa na reprodução de peixes após contato com compostos estrogênicos e a inibição específica de fotossíntese em algas causado por betabloqueadores e fluoxetina (ESCHER et al., 2011).

Uma preocupação que merece destaque, é a resistência microbiana, isso porque no ambiente hospitalar, há uso excessivo de antimicrobianos, provocando mudanças ambientais

significantes, que traz como consequência, seleção de clones de bactérias e fungos resistentes. De fato, a pressão seletiva favorece a transferência horizontal intra e interespécies de genes de resistência. Além disso, os metais pesados e desinfetantes, com ação bactericida, também podem favorecer a persistência de bactérias resistências a antibióticos (HOCQUET, 2016).

2.2.3. Bactérias Resistentes aos Antibióticos (BRA)

A resistência dos microrganismos aos antibióticos afeta potencialmente as estruturas microbianas e representa um risco para a saúde pública (WANG et al., 2015). As águas residuais fornecem a biomassa microbiana um habitat considerado ideal, uma vez que é composto por uma abundância de nutrientes, se tornando adequado para transferência de genes as bactérias nativas que podem adquirir plasmídeos e outros elementos genéticos que codificam a resistência antimicrobiana de bactérias. Todo o processo estabelecido nas ETEs (mecânicos, físicos, químicos e biológicos) pode afetar o destino dos antibióticos e afetar de diferentes maneiras os microrganismos (MOs) presentes e, consequentemente o desenvolvimento e disseminação de resistência no meio ambiente (RIZZO et al., 2013). Além disso, a presença de MOs patogênicos pode incluir alguns que são multirresistentes a antibióticos, metais pesados, radioisótopos, organohalogênios (proveniente do uso de alvejantes) e resíduos de drogas (PANOUILLÈRES, 2007).

Algumas bactérias merecem atenção especial quando se trata da resistência e permanência nos hospitais. Relatado no trabalho de HOCQUET (2016) a bactéria *Escherichia coli* produtora de β-lactamase de espectro estendido, responsável pela infecção do trato urinário é favorecida em EFH pela grande quantidade de antibióticos e desinfetantes que podem propiciar a elas genes de resistência. A *Pseudomonas aeruginosa* é um patógeno prevalente nas infecções relacionadas a assistência e à saúde. A multirresistência e capacidade de formar biofilmes, é a maior expressão fenotípica, e por consequência as aduas residuais hospitalares constituem um nicho ecológico de importância para expressão destes perfis.

A evolução de microrganismos resistentes é mediada por mutações, transferência horizontal de genes e outros mecanismos genéticos. Acredita-se que a transferência conjugativa via elementos genéticos móveis como plasmídeos, seja comum e tenha o potencial de transferir genes de resistência para bactérias de mesmos filos ou dos não relacionados (HASSOUN-KHEIR et al., 2020).

2.2.4. Os Antibióticos antibacterianos mais usados no Brasil

Entre 2016 e 2018, a Organização Mundial da Saúde (OMS), publicou o relatório referente a vigilância do consumo de antibióticos, com participação de 65 países, incluindo o Brasil. O intuito desse levantamento foi monitorar o consumo de antimicrobianos. De acordo com esse levantamento, para o Brasil, em primeiro lugar de consumo no grupo dos antibióticos aparecem os beta lactâmicos, principalmente as Penicilinas, Carbapenens, Cefalosporinas, Clavulanotas e Monobactâmicos seguido pelo grupo dos macrolídeos, quinolonas, e também as sulfonamidas e trimetoprima.

2.3. Trabalhos Correlatos

Nesta seção são apresentados os trabalhos que abordam temas como: o impacto dos fármacos nas águas residuais e as mudanças na estrutura química, física e biológica dos EFH, assim como suas implicações no meio ambiente e na saúde humana.

2.3.1. As características dos EFH

A geração de efluentes tende a aumentar conforme o desenvolvimento mundial. Isto está associado principalmente ao aumento da população ao decorrer dos anos e a melhora das condições socioeconômicas que são oferecidas para a sociedade. Sendo assim, a produção de efluentes é um dos pontos ambientais e de saneamento que está sofrendo mudanças significativas, quando atrelados aos resíduos hospitalares.

Devido à melhora nas condições de saúde e bem-estar, no desenvolvimento de novos medicamentos, nas técnicas cada vez mais avançadas no tratamento de pacientes, há um aumento na quantidade de resíduos que são gerados pelos hospitais, e consequentemente esses resíduos passam por transformações químicas, físicas e biológicas durante o processo até chegar em uma estação de tratamento. De acordo com VARELA (2013), a complexidade das águas residuais aumentou consideravelmente nas últimas décadas e sua composição varia de acordo com vários fatores, como origem, número de habitantes e o status social e econômico da população. Entre os principais constituintes das águas residuais estão os microrganismos, materiais orgânicos biodegradáveis e não degradáveis (detergentes, pesticidas, gorduras, corantes) e outros compostos (nitrogênio e fosforo) e metais (Hg, Cr, Cd e Cu). Além disso, os contaminantes emergentes, que incluem produtos farmacêuticos como hormônios e antibióticos

são exemplos de contaminantes orgânicos não degradáveis de águas residuais, cuja persistência ao longo do ciclo urbano da água é considerada de grande preocupação.

ZHANG (2020), destaca que, embora a maioria dos produtos farmacêuticos seja encontrado em baixas concentrações no ecossistema, a mistura e interação desses compostos, apresentam maior toxicidade e impactos ambientais graves do que isolados. Assim, os riscos que fármacos podem atribuir as águas residuais, foram divididos em três categorias:

a) Perigos Físicos: Substâncias radioativas utilizadas em terapias e diagnóstico de medicina nuclear.
b) Perigos Químicos: Fármacos que são parcialmente metabolizados e excretados pela urina de pacientes nas ETEs sem qualquer pré–tratamento.
c) Perigos Biológicos: Variedade de microrganismos patogênicos (bactérias, protozoários, helmintos e vírus) que são provenientes das fezes de humanos infectados.

Os EFH contêm uma variedade de composto nocivos ao ambiente, como por exemplo os hormônios, os antibióticos, contrastes utilizados em raio X e alguns patógenos, que são muitas vezes, provenientes do hospital. Os sistemas convencionais utilizados em estações de tratamento não são projetados com o objetivo de tratar essa categoria de afluente. Além disso, está bem documentado que os ME não são completamente removidos pelo processo convencional de tratamento por lodo ativado, que é a técnica mais utilizada em todo o mundo(NOGUERA-OVIEDO; AGA, 2016), o que pode acarretar em um processo de modificação da microbiota do sistema devido ao descarte diário desses compostos, e por consequência favorecer o desenvolvimento de bactérias resistentes a antibióticos.

2.3.2. O ambiente e a saúde

Qualquer produto farmacêutico com fator de excreção superior a dez por cento deve ser considerado importante ao meio ambiente. Foi demonstrado que a descarga de produtos farmacêuticos no ambiente aquático pode levar a uma interferência potente, mesmo em níveis muito baixos de miligramas. Esses resíduos farmacêuticos e vestígios químicos colocam em risco o equilíbrio ecológico e a saúde pública. A liberação desses contaminantes para o meio ambiente, inicialmente poluído nas águas superficiais, subterrâneas e no solo, pode levar a graves surtos de doenças transmissíveis e epidemias (KHAN et al., 2022).

Alguns riscos para a saúde humana e ambiental são comumente associados às águas residuais e seu tratamento. Entre eles estão a liberação de compostos orgânicos voláteis, a

persistência de microrganismos patogênicos e compostos tóxicos ou mutagênicos no efluente final ou, quando há desinfecção, de seus subprodutos (VARELA, 2013).

2.4. Considerações finais

Nessa seção foi apresentado um espectro que relaciona o tratamento realizado nas estações de esgoto com os afluentes que são gerados pelos hospitais. Foi retratado em diversos estudos que os micropoluentes podem interferir nas águas residuais das ETEs. Sendo assim, esse estudo apresenta um panorama comparativo relacionando ao despejo de ME em águas residuais, bem como ressalta a importância deste contexto para áreas geográficas (Barretos), onde a caracterização genotípica e fenotípica ainda não tinham sido abordadas.

3. Descrição experimental do projeto

O estudo foi desenvolvido com o intuito de realizar uma avaliação comparativa, analisando as diferenças e similaridades encontradas em três ETEs sob diferentes pontos de investigação: análise físico-química para correlação entre os microrganismos (1); análise genotípica para identificação do microbioma (2) e análise microbiológica fenotípica sobre suscetibilidade antimicrobiana (3). Os micropoluentes provenientes do Hospital de Câncer de Barretos foram considerados e comparados em águas residuais das estações que recebem o afluente de origem hospitalar + urbana (AFHU) comparando-se com uma estação que não os recebe, sendo seu afluente somente urbano (AFU).

1) Análise Físico – Química: Caracterização do material presente na biomassa das ETEs, por meio da técnica instrumental de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e Análise Elementar (CHN). Os resultados foram complementados pelas análises de rotina de acompanhamento de processo de tratamento de esgoto conforme exigido pela legislação, com o objetivo de realizar comparações e avaliar o funcionamento e eficiência das estações de tratamento de esgoto em relação ao sistema afluente – efluente.
2) Análise Genotípica: Caracterização do microbioma por meio do sequenciamento genético do gene ribossomal 16S, (região V3+V4) presente em bactérias e arqueas com mapeamento de oligonucleotídeos, além da bioinformática para identificação

taxonômica (Filo, Classe, Ordem Família e Gênero), índice de diversidade e sua abundância relativa entre as amostras.

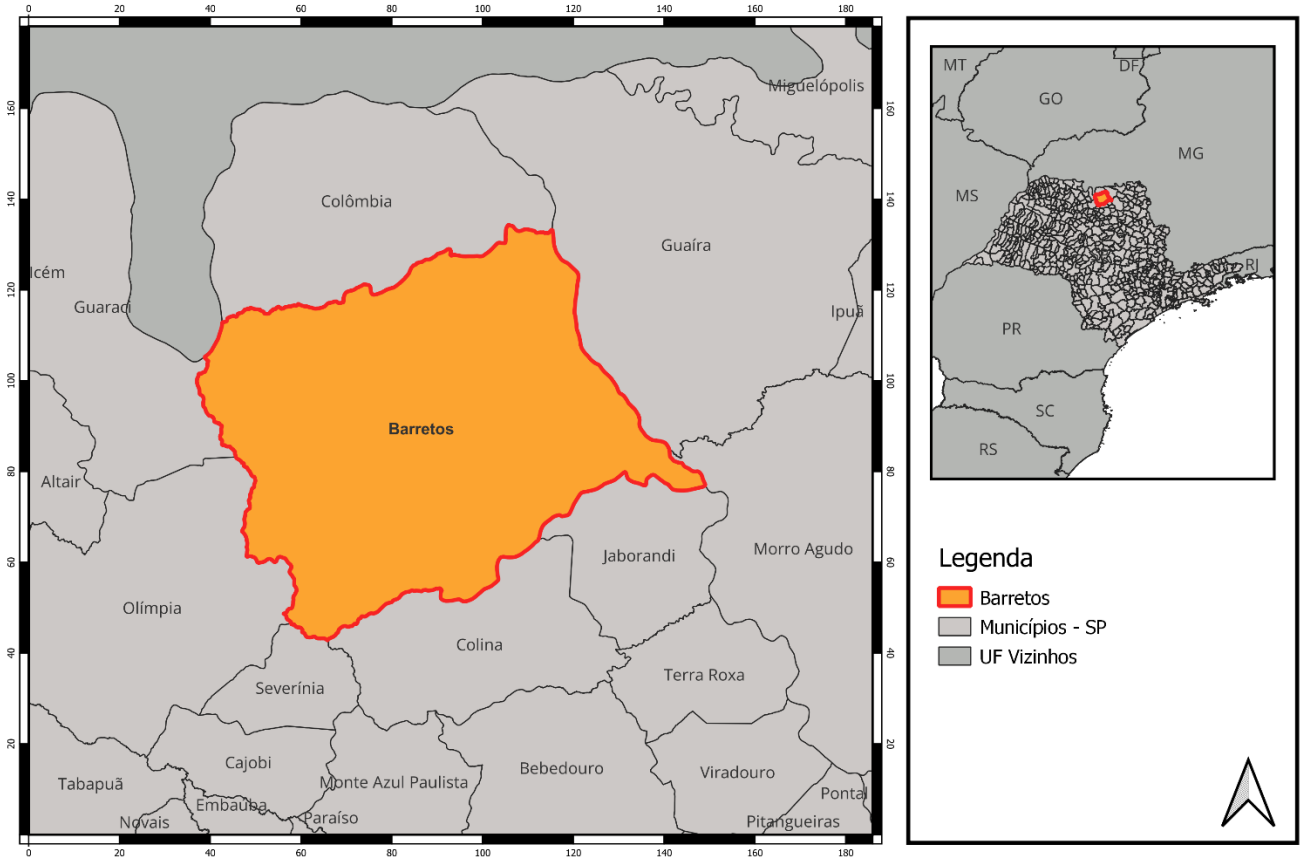
3) Análise Fenotípica: Caracterização fenotípica de suscetibilidade antimicrobiana dos MOs encontrados nas três ETEs. Análise da resistência microbiana dos MOs das estações que recebem os AFHU em comparação com a estação que recebe o AFU, com a identificação bioquímica desses organismos.

3.1. Área de Estudo

3.1.1. Município de Barretos

O Município de Barretos está localizado no Estado de São Paulo, na mesorregião de Ribeirão Preto. Situado a uma latitude 20°33'26" Sul e a uma longitude 48°34'04" Oeste, a uma altitude de 530 metros e ocupa uma área territorial de 1.566,161 km². A população estimada de Barretos em 2022 foi de 122.485 habitantes (IBGE). A Figura 3 apresenta o mapa do Município de Barretos, no estado de São Paulo.

Figura 3: Mapa de Localização do Munícipio de Barretos - SP



Fonte: Autoria Própria. Usando: QGIZ [software GIS]. Versão 3.28.0 QGIZ Geographic Information System. Open-Source Geospatial Foundation Project http://qgis.osgeo.org, 2022.

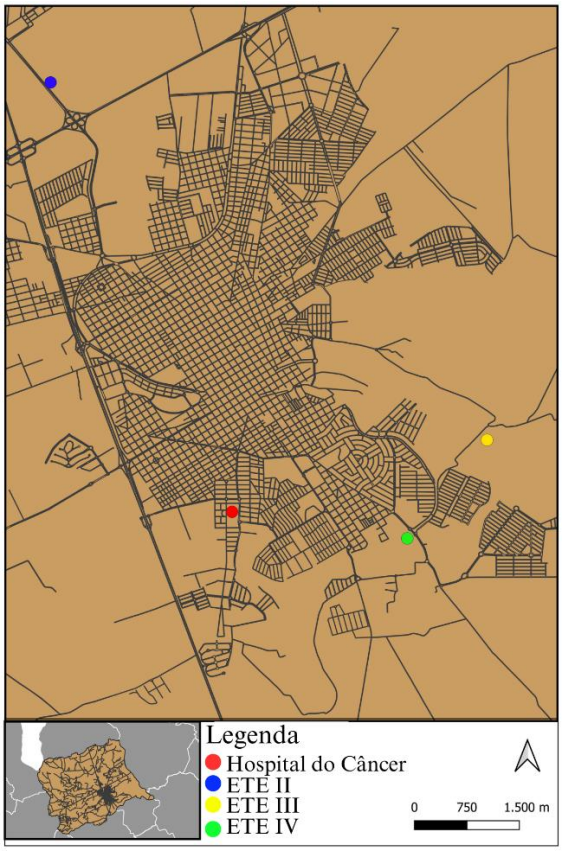
3.1.2. Hospital do Câncer de Barretos

O Hospital do Câncer que é conhecido pelo nome popular de Hospital do Amor (HA), foi fundado em 1962 e é um dos maiores e mais sofisticados centros de tratamento oncológico da América Latina. Atualmente, o hospital realiza cerca de quatro mil atendimentos médicos por dia, com 120 leitos, que recebe uma média diária de 200 pacientes para o tratamento quimioterápico (KLEIN et al., 2021). Além do atendimento médico, o Hospital do Amor, conta com um o instituto ao ensino e pesquisa (IEP), que tem como objetivo a elaboração de relatórios científicos com foco no tratamento oncológico.

3.1.3. Sistema de Tratamento de Efluentes

Barretos conta com um sistema de tratamento de água e esgoto dividido em sete estações. As ETEs recebem os afluentes de Barretos e das cidades vizinhas. Para esse estudo foram selecionadas três estações de tratamento que estão representadas na Figura 4. Além das estações também está representando o Hospital do Câncer, que é o local de origem dos AFHU.

Figura 4: Localização das ETEs e do HA em Barretos – SP



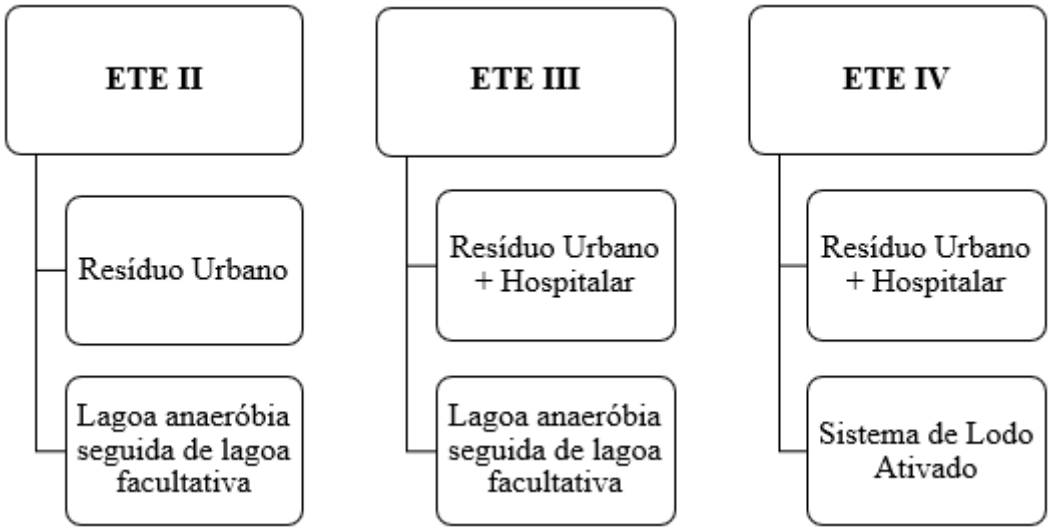
Fonte: Autoria Própria. Usando: QGIZ [software GIS]. Versão 3.28.0 QGIZ Geographic Information System. Open-Source Geospatial Foundation Project http://qgis.osgeo.org, 2022.

A seleção das ETEs seguiu dois requisitos: a origem do afluente (urbano ou hospitalar) e o sistema operacional utilizado (lagoa de estabilização ou sistema de lodo ativado. Essas estações são intituladas como:

a) Estação de Tratamento II (ETE II)
b) Estação de Tratamento III (ETE III)
c) Estação de Tratamento IV (ETE IV)

A Figura 5 esquematiza a divisão das estações conforme seu afluente e o sistema de operação utilizado para o tratamento.

Figura 5: Relação das ETEs com seu afluente e sistema de tratamento



Fonte: Autoria Própria

3.2. Coletas

A pesquisa contou em sua totalidade com quatro coletas realizadas de acordo com as características sazonais dos anos de 2022 (outono, inverno e primavera) e 2023 (verão). A Tabela 3 apresenta o número de coletas, o período, ano e a estação em que foram realizadas.

Tabela 3: Data, Ano e Estação de cada coleta

Coletas	Data	Ano	Estação
Coleta 1	Junho	2022	Outono
Coleta 2	Julho	2022	Inverno
Coleta 3	Novembro	2022	Primavera
Coleta 4	Janeiro	2023	Verão

Fonte: Autoria Própria

Foram selecionados três pontos de coleta (PdC) para cada estação (II, III, IV) a fim de realizar uma amostragem capaz de representar um panorama completo de cada ETE. Cada PdC foi denominado conforme a seguir:

A. ETE II

i. Entrada Esgoto Bruto II (EEB II)

ii. Saída da Lagoa Facultativa II (SLF II)

iii. Saída do Esgoto Tratado II (SET II)

B. ETE III

i. Entrada Esgoto Bruto III (EEB III)

ii. Saída da Lagoa Facultativa III (SLF III)

iii. Saída do Esgoto Tratado III (SET III)

C. ETE IV

i. Entrada Esgoto Bruto IV (EEB IV)

ii. Saída do Taque de Aeração IV (STA IV)

iii. Saída do Esgoto Tratado IV (SET IV)

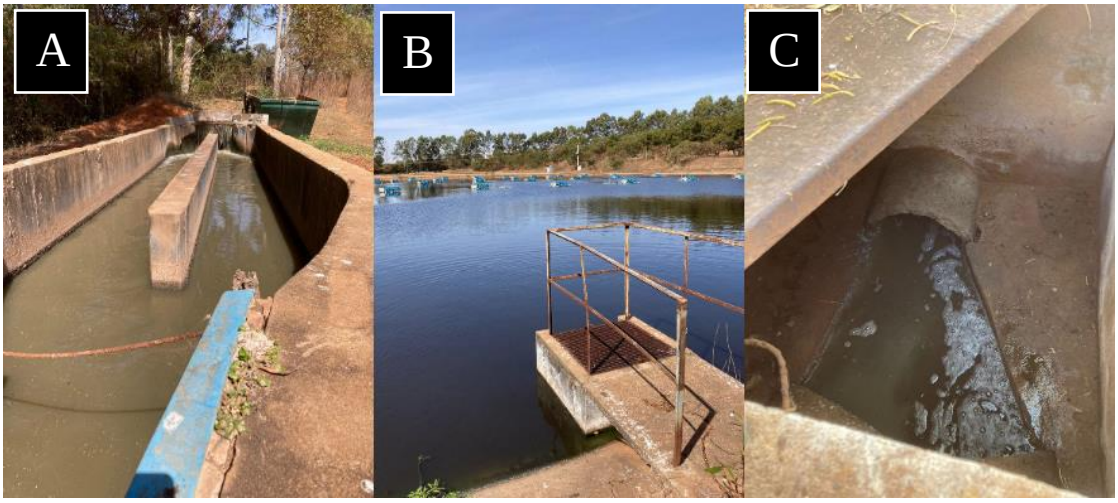
A Figura 6 apresenta o método de coleta individualizada das amostras nas ETEs. Com auxílio de um balde e um funil, cada amostra foi coletada do PdC e transferida para o pote de armazenamento.

Figura 6: Coleta em amostra

Fonte: Autoria Própria

As Figuras 7, 8 e 9 apresentam os pontos onde foram realizadas as coleta das três ETEs, seguindo a ordem horizontal (da esquerda para direita), as EEB; SLF e STA e SET, das estações II, III, IV, respectivamente.

Figura 7: Pontos de coleta da ETE II



Fonte: Autoria Própria

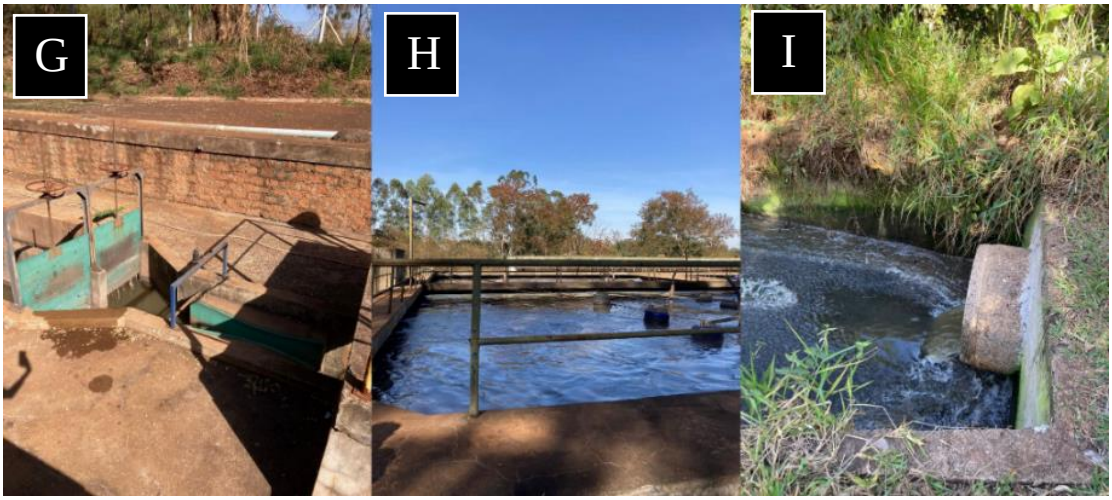
Legenda: A = Entrada Esgoto Bruto II; B = Saída da Lagoa Facultativa II; C = Saída do Esgoto Tratado II

Figura 8: Pontos de coleta da ETE III

Fonte: Autoria Própria

Legenda: D = Entrada Esgoto Bruto III; E = Saída da Lagoa Facultativa III; F = Saída do Esgoto Tratado III

Figura 9: Pontos de coleta da ETE IV



Fonte: Autoria Própria

Legenda: G = Entrada Esgoto Bruto IV; H = Saída do Tanque de Aeração IV; I = Saída do Esgoto Tratado IV

Para cada análise, físico-química, genotípica e fenotípica, foram coletados, 9 garrafas PET (1,5 L), 9 Tubos de Falcon (50 mL), 9 Tubos Falcon (15 mL), respectivamente. O volume de coleta foi adequado de acordo com a quantidade de amostra necessária para cada análise. As análises físico-químicas, necessitaram de um volume maior, devido a quantidade e tipo de análises utilizadas nesse trabalho. Para as análises genotípicas foi necessário biomassa total de 0,5g de cada amostra, utilizando-se tubos falcon de 50mL e as análises fenotípicas utilizou-se 1-2 mL por análise, em tubos de 15 mL. As amostras foram levadas para o laboratório de microbiologia da Faculdade de Medicina de Rio Preto (FAMERP), e foram armazenadas em freezer -20ºC até o momento dos ensaios.

3.3. Análise Físico – Químicas

3.3.1. Liofilizador

Foi utilizado o Liofilizador, marca Thermo Fisher Scientific, modelo SuperModulyo220 Freeze Dryers, submetido a temperatura < 40ºC e vácuo final de 1 torr. As amostras (200mL) foram previamente congeladas em tubos de 500mL em freezer -20ºC, posteriormente passavam por um processo de resfriamento adicional com nitrogênio líquido para serem inseridas no liofilizador.

3.3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Na análise de FTIR, foram preparadas pastilhas de 100 mg (branco e amostras), utilizando KBr (seco em estufa a 120ºC/12h), almofariz de ágata e pastilhador próprio para confecção de pastilhas de infravermelho de 13 mm de diâmetro. O procedimento exige a obtenção de um pó fino e homogêneo, no caso do branco (~100mg de KBr) e para amostras (1mg de amostra / 400mg de KBr) para ser submetido a prensa hidráulica sob pressão de 5 toneladas/cm^2 por 5 minutos. Posteriormente as pastilhas foram retiradas do pastilhador, embrulhadas em papel alumínio e armazenadas em um dessecador. As análises foram realizadas em um espectrofotômetro de infravermelho marca Bruker, modelo Vertex 70, acompanhado por microcomputador com o software Opus v.7.2 em leitura por Absorbância (64 varreduras e resolução espectral de 4 cm^{-1}). Foi realizado a compensação atmosférica, correção de linha de base e *smooth*. Os gráficos foram obtidos e normalizados utilizando o software Originlab para plataforma Windows.

3.3.3. Análise Elementar (CHN)

Foi utilizado método de combustão a seco, com uso do Analisador Elementar, marca Perkins Elmer, modelo 2400, acompanhado do software EA 2400 Data Manager. O padrão analítico de referência foi a acetanilida (*acetanilide*), nas concentrações elementares de C=71,09%; H=6,71%; N=10,36%. Para pesagem das amostras foi utilizado uma balança analítica de 5 casas decimais, com uma quantidade aproximada de (~10mg), pesadas em cápsula de estanho, apropriadas para a análise.

3.3.4. Parâmetros Físico – Químicos

Foi fornecido pelo Laboratório de Serviço Autônomo de Água e Esgoto de Barretos (SAAEB), o resultado dos seguintes parâmetros físico-químicos referentes aos anos de 2022 e 2023: Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Demanda Química de Oxigênio (DQO), pH, Sólidos Suspensos Totais (SS), Sulfato, Sulfeto e a eficiência de remoção em porcentagem (%) de cada estação. Da mesma forma, foi disponibilizado os valores referentes ao tempo de detenção hidráulica de cada ETE do ano de 2022, que estão expressos na Tabela 4.

Tabela 4: Tempo de detenção hidráulica das ETEs do ano de 2022

ETEs	Tempo de Detenção Hidráulica
II	15 dias (vazão média de 202 m³/h)
III	24 dias (vazão média de 509 m³/h)
IV	24 horas (vazão média de 240 m³/h)

Fonte: SAAEB
Abreviação: ETEs = Estações de Tratamento de Esgoto

Além disso, foram analisados três parâmetros em laboratório. O pH foi medido utilizando um pHmetro da marca Simpla EC140, previamente calibrado com tampão de 7 e 4. A Condutividade Elétrica (CE), foi medida utilizando um condutivimetro da marca Simpla EC150 calibrado com solução padrão de condutividade 1413µS cm^{-1}. E por fim, foi analisado a Turbidez, com um turbidímetro da marcas DEL LAB, calibrado com as soluções padrões fornecidas pela empresa, nas concentrações de 0,1/10/100/800 NTU.

3.4. Análise Genotípica

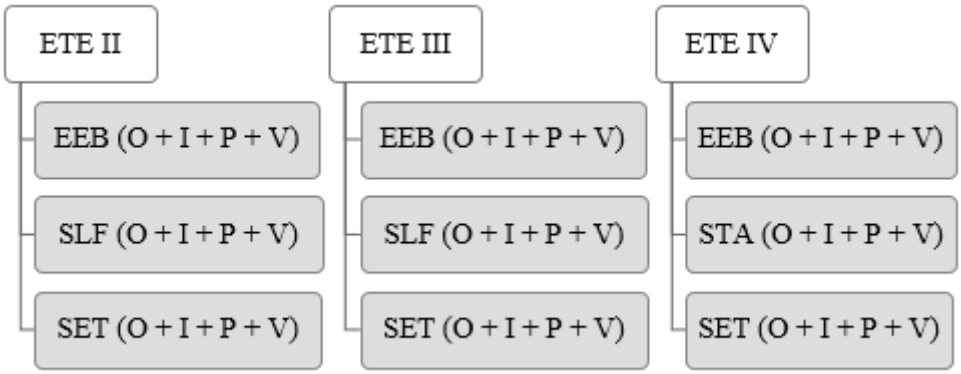
3.4.1. Amostragem

As amostras usadas na caracterização taxonômica foram coletadas em tubos Falcon (50 mL), em seguida centrifugadas a 6000 rpm por 10 minutos, sendo descartado o sobrenadante. Posteriormente, o precipitado é lavado com solução tampão PBS x1 (NaCl 8,2 $g.L^{-1}$, Na_2HPO_4 1,05 $g.L^{-1}$, $NaH_2PO_4 + H_2O$ 0,35 $g.L^{-1}$). Após a centrifugação e descarte do sobrenadante, a biomassa úmida (pellet ≥ 0,5 g) foi armazenada a -20°C.

3.4.2. Biomassa

Para se obter uma biomassa úmida de pellet ≥ 0,5 g, foi necessário realizar a junção de todas as amostras das quatro coletas que totalizaram o estudo. Sendo assim, a Figura 10, apresenta um fluxograma que representa a junção para cada amostra de acordo com suas características especificas. No total foram nove amostras, divididas em três grupos para cada ETE.

Figura 10: Fluxograma das biomassas dos pontos de coleta das ETEs conforme os períodos de 2022/2023



Fonte: Autoria Própria

Abreviações: ETE = Estação de Tratamento de Esgoto; EEB = Entrada Esgoto Bruto; SLF = Saída da Lagoa Facultativa; STA = Saída do Tanque de Aeração; SET = Saída do Esgoto Tratado; O = Outono; I= Inverno; P = Primavera; V= Verão

3.4.3. Extração do DNA

O DNA genômico da comunidade microbiana das amostras, foi extraído usando o DNeasy® PowerSoil® Pro Kit, de acordo com as recomendações do fabricante. A quantificação ($ng.\mu L^{-1}$) e a pureza (relação 260/280nm) do DNA extraído das amostras foi realizado no

Nanodrop 2000 9 Spectrophotometers (ThermoFisher Scientific), e a integridade foi verificada por eletroforese em gel de agarose 0,8%.

3.4.4. Identificação Taxonômica

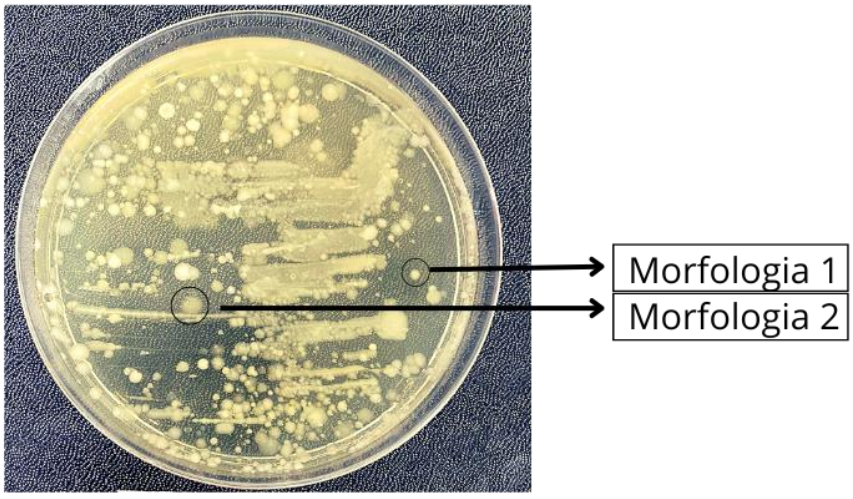
As amostras de DNA foram enviadas a empresa NGS soluções genômicas (Piracicaba, SP - Brasil) para o sequenciamento do gene 16S rRNA (região V3+V4) e a análise de bioinformática básica para identificação taxonômica. A amplificação do gene 16S rRNA foi realizada com set de primers 341F (5`- CCTACGGGNGGCWGCAG-3`) (KLINDWORTH et al., 2013); 806RB (5`- GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3`) (CAPORASO et al., 2011). As amostras estão em processo de deposito no *National Center for Biotechnology Information*.

3.5. Análise Microbiológica Fenotípica

3.5.1. Cultura microbiológica

A cultura microbiana das amostras foi realizada em placas de Petri contendo meio de cultivo Brain Heart Infusion (BHI) Ágar, espalhadas utilizando a alça de inoculação 10µL estéril. As placas inoculadas foram incubadas invertidas em estufa bacteriológicas a 35-37ºC por 24 h. A partir da cultura, foi realizado o isolamento e seleção visual de dois tipos morfológicos diferentes (GOMES, n.d). A Figura 11 apresenta o exemplo de separação dos dois tipos de colônias de MOs para cada amostra das ETEs, que posteriormente foram isoladas em Ágar BHI para semeação da cultura pura. Como mostra a ilustração, aspectos distintos macroscópicos da colônia estão identificados como morfologia 1 e 2.

Figura 11: Separação de colônias de MOs por morfologia



Fonte: Autoria Própria

3.5.2. Técnica de Coloração de Gram

Após o crescimento, as colônias foram submetidas à técnica de Coloração de Gram para identificar o morfotipo e propriedade tintorial. Para a coloração o MO é fixado na lâmina por meio do calor, do bico de Bunsen. Segue-se com a coloração com corante cristal violeta, lugol, descoloração com álcool-acetona e contra corante com fucsina. Os ensaios bioquímicos de identificação microbiana foram conduzidos utilizando meios seletivos para Gram positivos, Gram negativos e métodos de identificação específicos para cada um.

3.5.3. MOs Gram (-)

Os MOs fermentadores foram submetidos a identificação bioquímica utilizando tubos de ensaio contendo EPM-MILi, fornecido pela empresa PROBAC DO BRASIL® Produtos Bacteriológicos (Figura 12). Para essa identificação foram utilizados dois tubos de ensaio, um contendo o meio EPM que é uma modificação do meio de Rugai e Araújo (TOLEDO, et al., 1982) utilizado para avaliar os seguintes parâmetros: produção de gás por fermentação da glicose, produção de H_2S, hidrólise da uréia e desaminação do triptofano. O tubo com o meio MILi é utilizado para avaliar a motilidade, produção de indol e descarboxilação da lisina. Os sete testes, quando considerados com os resultados da reação de fermentação da lactose (MacConkey Ágar) permitem identificar presuntivamente algumas enterobactérias (PROBAC DO BRASIL).

Figura 12: MOs fermentadores utilizando o KIT EPM-MILi

Fonte: Autoria Própria

Os MOs não fermentadores foram identificados utilizando dois kits de identificação: O KIT NF II PROBAC fornecido pela empresa PROBAC DO BRASIL® Produtos Bacteriológicos, que é constituído por 8 tubos de ensaio, contendo: Ágar MacConkey, meios OF glicose com óleo e sem óleo, Maltose, Lactose, Descarboxilases de Moeller

(Controle, Lisina, Arginina), Gelatina e fitas para determinação da Oxidase (PROBAC DO BRASIL, [s.d.]). Também foi utilizado o MINI KIT NF – PROV, fornecido pela empresa NEWPROV® Produtos para laboratório, que é constituído por 10 tubos de ensaio, contendo: meios OF-Glicose, OF-Base, Ágar Cetrimide, Caldo BHI, Gelatina, Nitrato-Motilidade, Xilose, Maltose e Lactose (NEWPROV,2020) (Figura 13). A leitura e a interpretação dos resultados foi realizada seguindo as recomendações dos fabricantes.

Figura 13: MOs não fermentadores no MINI KIT NF – PROV

Fonte: Autoria Própria

3.5.4. MOs Gram (+)

A identificação dos MOs Gram (+) é feita de acordo com sua morfologia. Para os MOs com a morfologia de Bacilo ou Cocobacilo, foram realizados três ensaios bioquímicos: catalase, oxidase e hemólise. Teste adicional para estreptococos, utilizando-se o teste rápido denominado Alere BINAXNOW® possibilitou a identificação de espécie *S. pneumoniae*. Já os MOs pertencentes ao gênero *Staphylococcus*, identificados em Manitol Ágar conforme apresentado na Figura 14.

Figura 14: Determinação de Staphylococcus aureus utilizando Ágar Manitol

Fonte: Autoria Própria

3.5.5. Resistência Microbiana

Os perfis de resistência microbiana são levantados através dos *Antibiotic Susceptibility Testings* (AST), também conhecido como antibiograma. O método de disco-difusão é uma prova *in vitro,* utilizando uma placa de Petri, no qual é aplicado um disco de papel de filtro impregnado com antimicrobiano na superfície do ágar com semeadura prévia do microrganismo na superfície. Um halo de inibição será formado na vigência de cepas sensíveis, e o diâmetro será medido qualificando como Sensível, intermediário. Na ausência de halo, resistência (COSTA, 2016). O protocolo de execução do método de difusão em disco foi seguido segundo o Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (BrCAST). Foram utilizados quatorze diferentes discos de difusão com diferentes tipos de antibióticos, os discos foram fornecidos pela empresa MACROMED® Produtos Hospitalares e Laboratoriais. Os antibióticos usados e suas respectivas concentrações estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5: Disco de difusão com antibióticos utilizados para análise AST e suas respectivas concentrações

Sigla	Antibiótico	µg
s	Estreptomicina	10
p	Penicilina	10
rd	Rifampicina	5
sxt	Sulfametoxazol/trimetoprim	25
e	Eritromicina	15
tec	Teicoplanina	30
va	Vancomicina	30
cro	Ceftriaxona	30
tob	Tobramicina	30*
ox	Oxacilina	1
f	Nitrofurantoína	300
w	Trimetoprima	5
pb	Polimixina B	300
tim	Ticarcilina/ácido clavulânico	85

Fonte: Autoria Própria

Observação: * = As análises de sensibilidade utilizando o disco difusão da tobramicina, se basearam em resultados expressos pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* na concentração de 10µg.

3.6. Análise Estatística

Os dados dos parâmetros: Bário, Boro, Cobre, DBO, Fenol, Ferro Dissolvido, Manganês Dissolvido, SS, pH, Zinco, Fluoreto, Mercúrio, Cianeto, Óleos e Graxas, Sulfeto Total e Sulfato, dos anos de 2019, 2020 e 2021, fornecidos pelo laboratório do SAAEB, foram submetidos à ANOVA paramétrica ou não paramétrica, de acordo com sua condição de homogeneidade de variância, verificada pelo teste de Bartlett. Testes de comparações múltiplas de Duncan ou Kruskal-Wallis também foram utilizados. O software utilizado nas análises foi o R versão 4.1.3.

4. Resultados e discussão

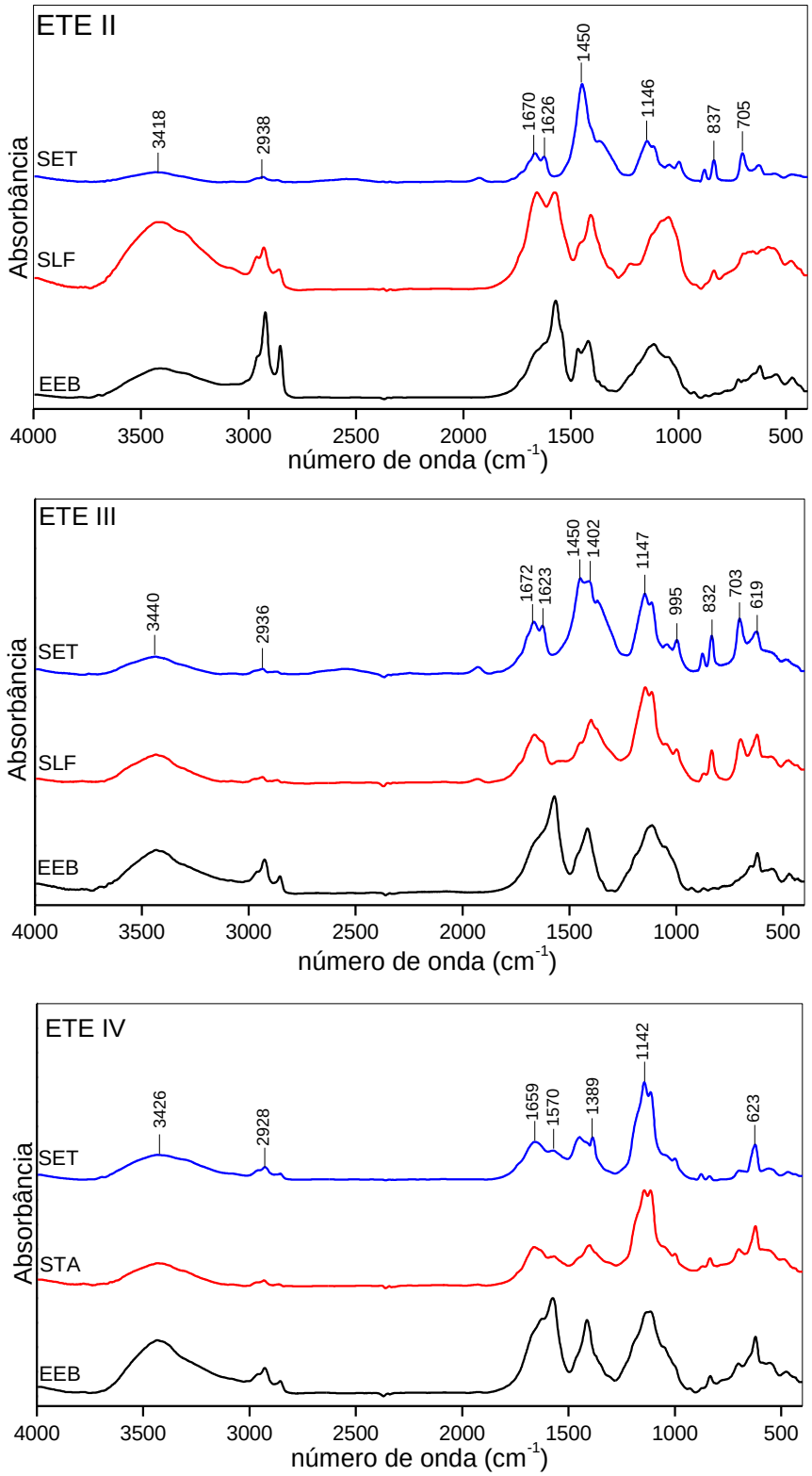
Neste capítulo são descritos os resultados e as discussões obtidas das análises, físico-químicas, genotípicas e fenotípicas das amostras coletadas nas estações do ano de 2022, outono, inverno, primavera e verão de 2023, e estatística dos parâmetros investigados dos anos de 2019, 2020 e 2021. Com esses resultados é possível avaliar qual o impacto que os ME podem causar nas águas residuais das ETEs, assim como, entender as diferenças e similaridades encontradas entre as três estações de tratamento.

4.1. Análises Físico – Químicas

4.1.1. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

As Figuras 15, 16, 17 e 18 apresentam os espectros de absorbância por FTIR das ETEs II, III e IV, dos PdC do outono, inverno, primavera e verão. Além desses espectros, foi feito uma análise comparativa entre a EEB de cada ETE (Figura 19), de acordo com o período sazonal, a fim de entender se o AF que está sendo lançado apresentava diferenças significativas em relação a matéria da biomassa das estações. Para esses resultados, a princípio está apresentado os espectros de absorbância referente as estações do ano, e posteriormente a explicação das principais bandas encontradas, isso porque os espectros se mostraram parecidos, com diferenças sutis, que estão indicadas, para todas as amostras.

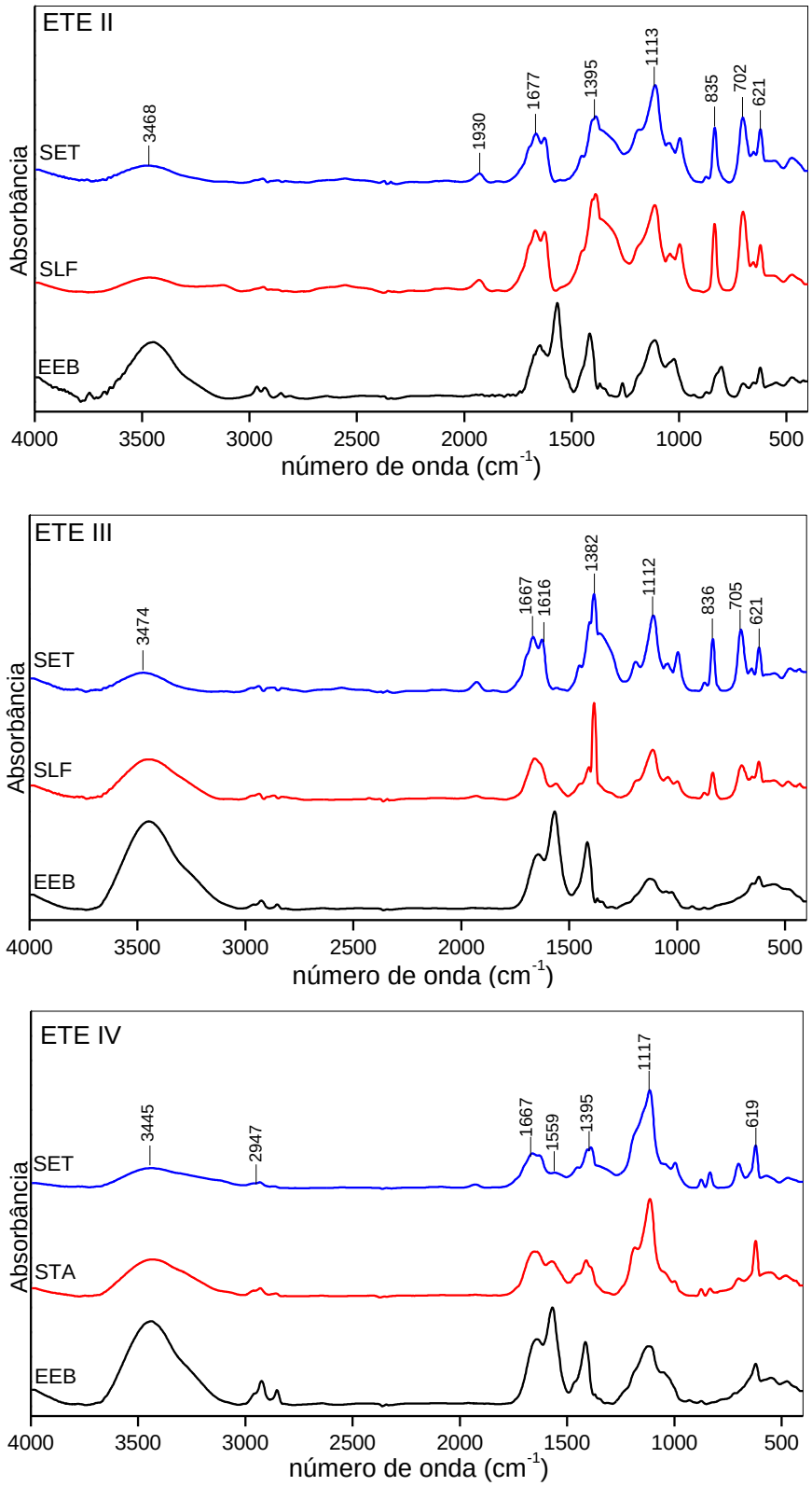
Figura 15: FTIR das amostras liofilizadas, coletadas no Outono de 2022



Fonte: Autoria Própria

Abreviações: EEB = Entrada Esgoto Bruto; SLF = Saída da Lagoa Facultativa; STA = Saída do Tanque de Aeração; SET = Saída do Esgoto Tratado

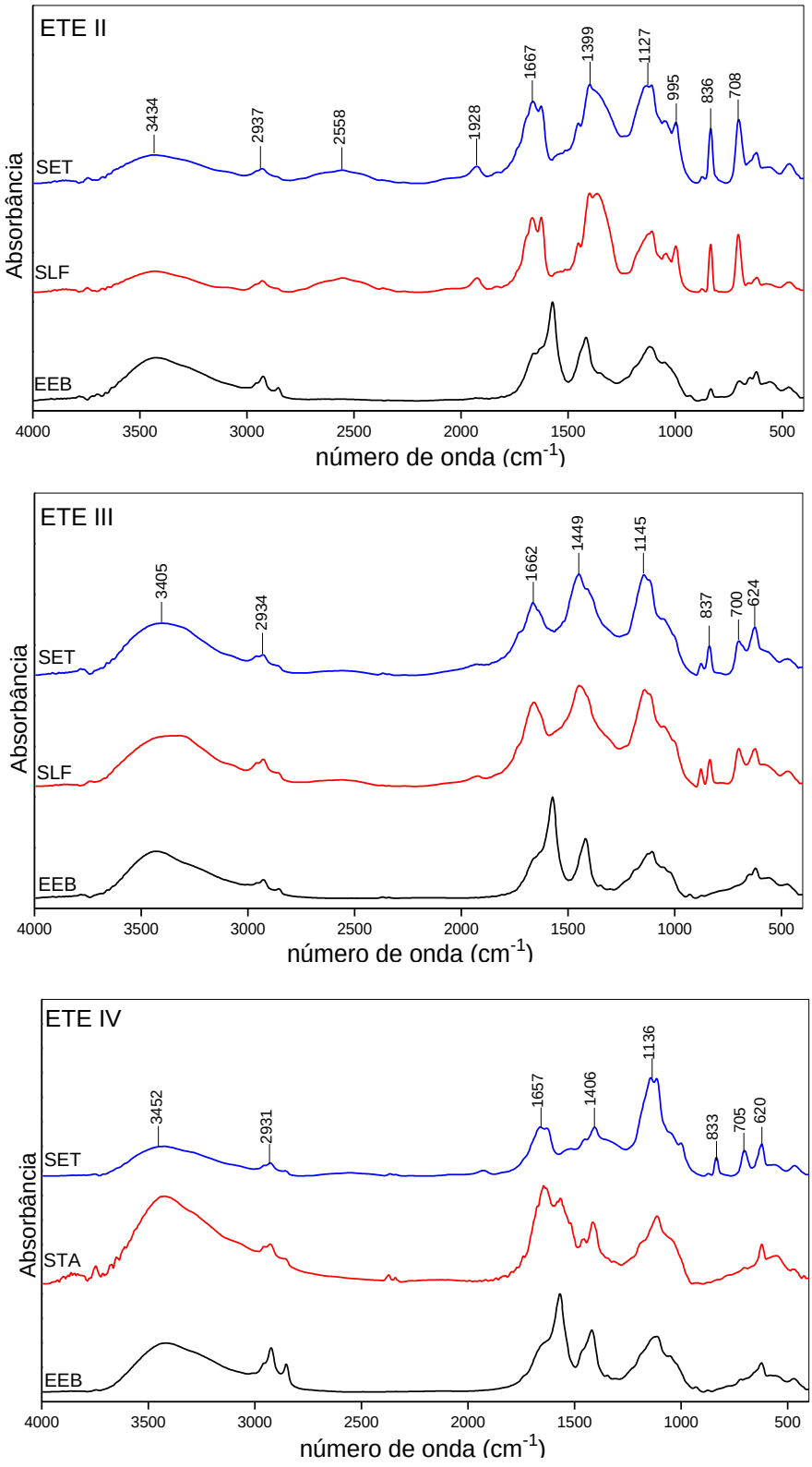
Figura 16: FTIR das amostras liofilizadas, coletadas no Inverno de 2022



Fonte: Autoria Própria

Abreviações: EEB = Entrada Esgoto Bruto; SLF = Saída da Lagoa Facultativa; STA = Saída do Tanque de Aeração; SET = Saída do Esgoto Tratado

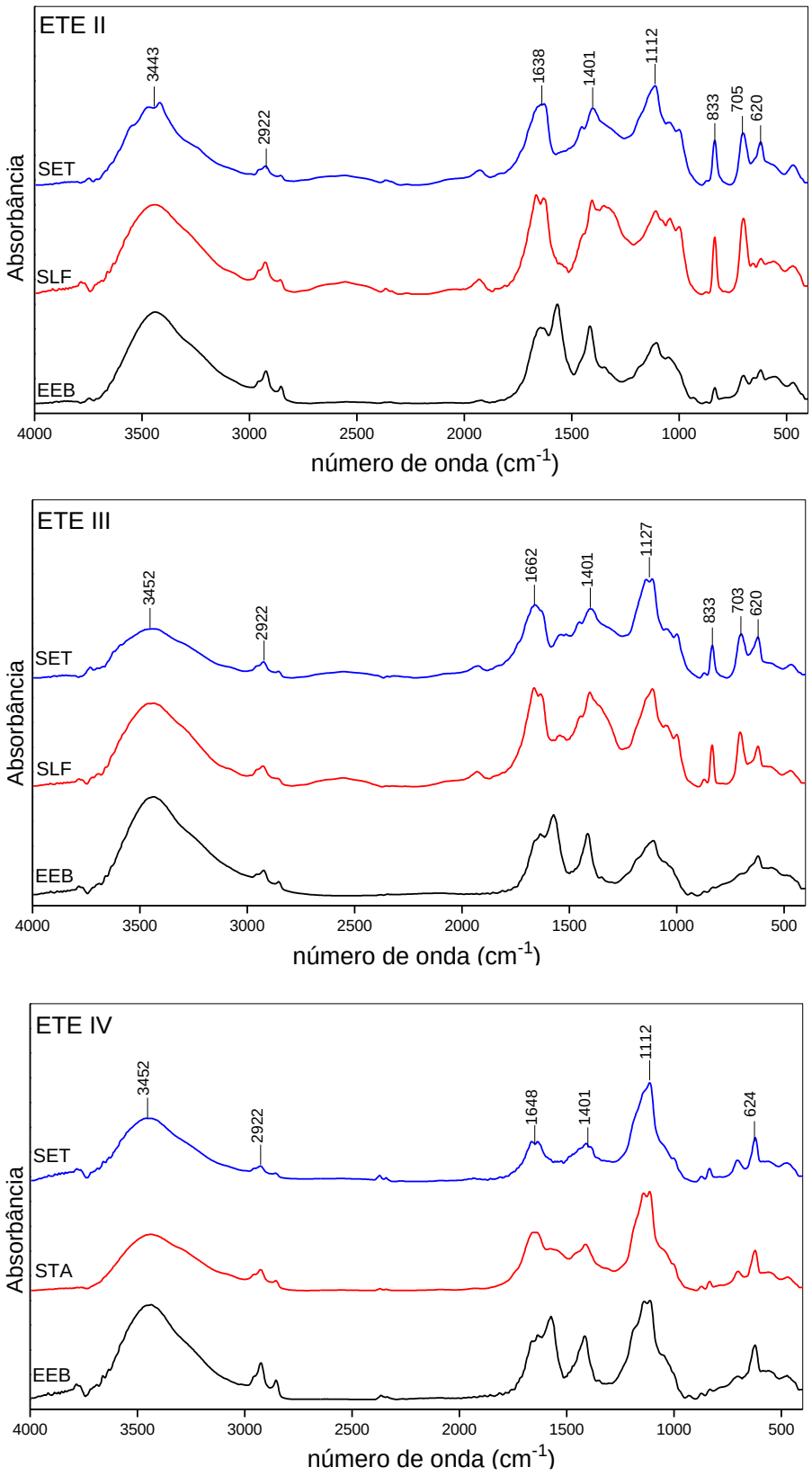
Figura 17: FTIR das amostras liofilizadas, coletadas na Primavera de 2022



Fonte: Autoria Própria

Abreviações: EEB = Entrada Esgoto Bruto; SLF = Saída da Lagoa Facultativa; STA = Saída do Tanque de Aeração; SET = Saída do Esgoto Tratado

Figura 18: FTIR das amostras liofilizadas, coletadas no Verão de 2023



Fonte: Autoria Própria

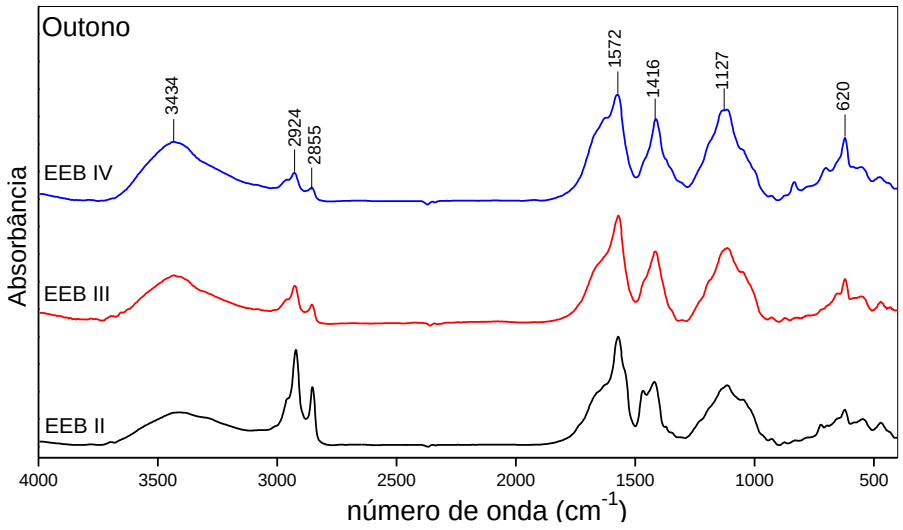
Abreviações: EEB = Entrada Esgoto Bruto; SLF = Saída da Lagoa Facultativa; STA = Saída do Tanque de Aeração; SET = Saída do Esgoto Tratado

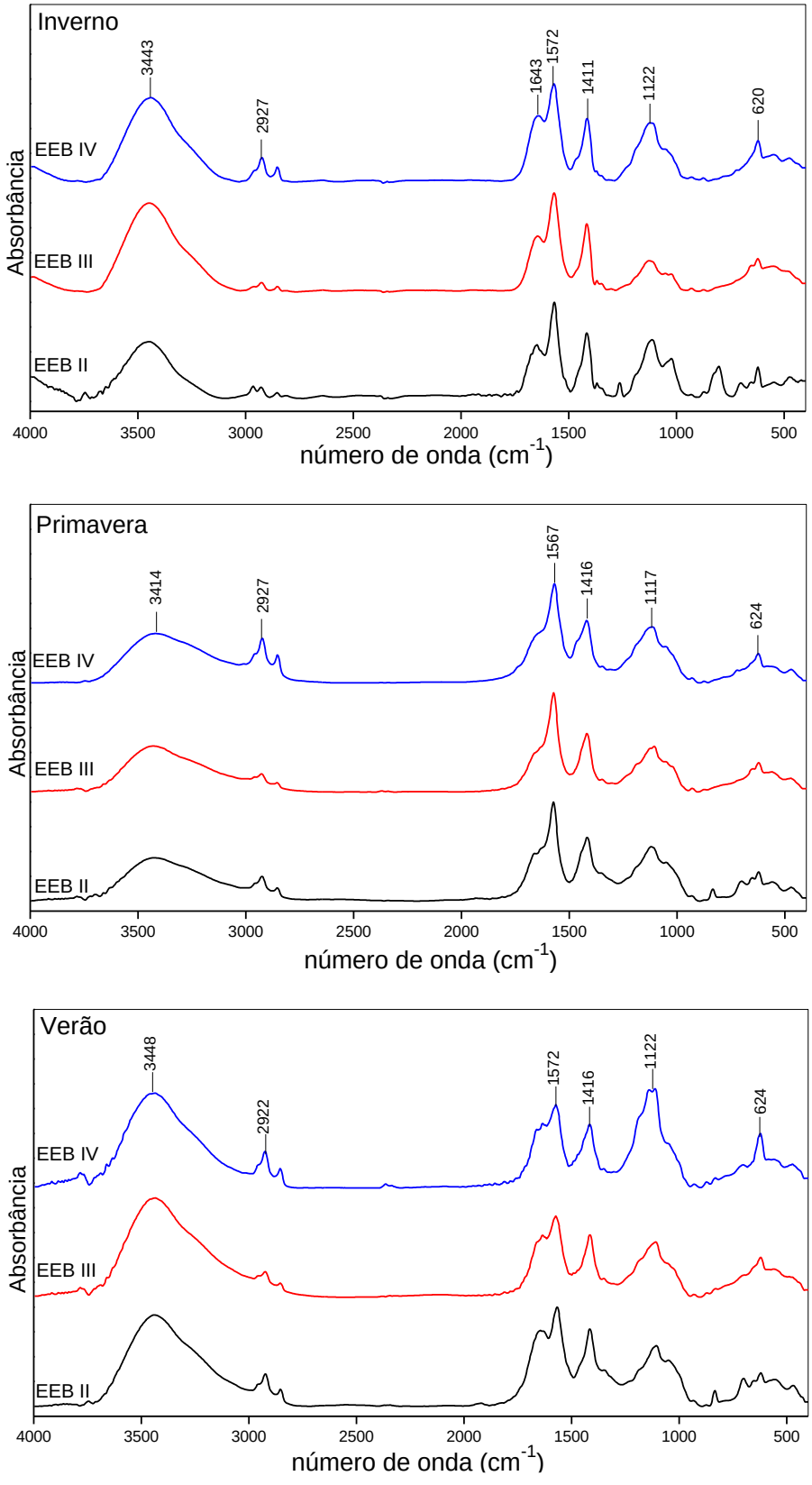
Os espectros foram caracterizados por um número de bandas de absorção exibindo intensidades variáveis. Uma banda por volta de 3400 cm^{-1}, atribuída ao estiramento O-H, uma banda em torno de 2960 - 2850 cm^{-1}, devido ao estiramento assimétrico de C-H alifático; bandas entre 1680 - 1630 cm^{-1} relacionadas a estiramentos C=O de amidas. Bandas entre 1400 cm^{-1}, associada ao estiramento assimétrico de carboxilatos. Duas bandas entre 1200 – 1050 cm^{-1}, que comumente são associadas às vibrações C-O de polissacarídeos, álcoois e fenóis (FERNANDES et al., 2004).A banda próxima de 1000 cm^{-1} também pode representar o estiramento Si-O.

No outono foi observado bandas em 1450 cm^{-1}, relacionadas às vibrações C=C de anéis aromáticos, para ETE II e III, enquanto na ETE IV, uma banda em torno de 1590 - 1550 cm^{-1}, relacionada a NH_2. No inverno a ETE II e III apresentaram bandas em 1390 - 1370 cm^{-1} relacionadas ao dobramento CH_3 característico de grupos metila e a ETE IV banda com deformação axial assimétrica em torno de 1560 cm^{-1}, associada ao NO_2. Na primavera a ETE II apresentou banda em torno de 1400 - 500 cm^{-1} que pode estar relacionada com vibrações entre o carbono e halogênios, enquanto na ETE III e IV, bandas em torno de 1470 – 1420cm^{-1} associadas ao CH_2. No verão bandas entre 1400 - 500 cm^{-1}, relacionadas com as vibrações entre carbono e halogênios (PAVIA, et al., 2015).

A Figura 19, apresenta os espectros das EEB de cada ETE de acordo com o período sazonal.

Figura 19: FTIR da comparação das amostras liofilizadas EEB de acordo com o período sazonal





Fonte: Autoria Própria

Abreviações: EEBII = Entrada Esgoto Bruto II; EEBIII = Entrada Esgoto Bruto III; EEBIV = Entrada Esgoto Bruto IV

Em relação a comparação das EEB das três ETEs nos quatro períodos do ano apresentadas na Figura 19, conforme o período sazonal, percebe-se que não há diferença qualitativa em relação aos espectros obtidos da ETE II, que é a estação que não recebe os resíduos do hospital em comparação com a ETE III e IV, que estão ligadas ao despejo diário dos resíduos hospitalares. Os espectros apresentaram bandas com vibrações em estiramentos: O-H, C-H alifático, NH_2, CH_2 e C-O (de polissacarídeos, álcoois e fenóis).

4.1.2. Analisador Elementar (CHN)

Os resultados obtidos em porcentagem de Carbono (C), Hidrogênio (H) e Nitrogênio (N) estão expressos nas Tabelas 6 e 7. Essa porcentagem é calculada por meio da relação massa/composição da amostra. Também, está representado a quantidade total (C-H-N) e a relação C/N e H/C. Os resultados brutos referentes a essa análise estão apresentados no ANEXO A.

Tabela 6: Resultados obtidos pela Análise Elementar do Outono e Inverno, 2022

Amostra		Outono						Inverno					
		Média			Total	Relação		Média			Total	Relação	
ETE	PdC	C	H	N	C-H-N	C/N	H/C	C	H	N	C-H-N	C/N	H/C
II	EEB	36,4	7,1	2,5	46,0	17,3	2,3	33,8	4,5	2,5	40,8	15,7	1,6
	SLF	13,2	2,0	2,1	17,4	7,4	1,8	31,6	5,8	4,4	41,8	8,3	2,2
	SET	13,7	1,8	1,3	16,8	12,0	1,6	16,7	2,4	2,0	21,1	9,7	1,7
III	EEB	26,4	3,7	2,6	32,7	11,7	1,7	26,3	6,0	2,9	35,2	10,6	2,7
	SLF	20,4	3,1	2,8	26,3	8,5	1,8	17,3	2,6	2,3	22,2	8,7	1,8
	SET	17,4	2,7	2,8	22,8	7,3	1,8	16,4	2,4	2,1	20,9	9,1	1,7
IV	EEB	25,4	3,5	2,7	31,7	10,9	1,7	25,5	4,5	2,5	32,5	11,9	2,1
	STA	25,5	3,4	4,3	33,1	7,0	1,6	21,4	3,4	3,3	28,1	7,7	1,9
	SET	17,6	2,9	3,2	23,6	6,5	1,9	22,7	3,6	3,6	29,9	7,3	1,9

Fonte: Autoria Própria

Abreviações: EEB = Entrada Esgoto Bruto; SLF = Saída da Lagoa Facultativa; STA = Saída do Tanque de Aeração; SET = Saída do Esgoto Tratado

Tabela 7: Resultados obtidos pela Análise Elementar da Primavera de 2022 e Verão de 2023

Amostra		Primavera						Verão					
		Média			Total	Relação		Média			Total	Relação	
ETE	PdC	C	H	N	C-H-N	C/N	H/C	C	H	N	C-H-N	C/N	H/C
II	EEB	25,3	3,4	2,3	31,0	13,1	1,6	21,5	3,6	1,9	27,0	13,3	2,0
	SLF	15,6	2,3	1,5	19,4	12,0	1,8	20,9	3,1	2,6	26,6	9,4	1,8
	SET	15,3	2,3	1,4	19,0	12,5	1,8	14,8	2,2	1,5	18,5	11,4	1,8
III	EEB	23,4	3,4	2,4	29,2	11,5	1,7	20,9	3,7	2,6	27,2	9,4	2,1
	SLF	19,8	3,0	2,9	25,7	7,9	1,8	16,3	2,5	2,1	20,9	9,0	1,8
	SET	19,4	2,9	3,2	25,5	7,2	1,8	16,5	2,5	2,7	21,6	7,1	1,8
IV	EEB	37,6	7,4	1,9	46,9	22,8	2,3	22,5	3,8	1,6	27,9	16,8	2,0
	STA	28,2	3,4	5,4	37,0	6,1	1,5	21,6	3,4	3,9	28,9	6,5	1,9
	SET	17,5	2,8	2,4	22,7	8,5	1,9	14,5	2,2	2,2	18,9	7,7	1,8

Fonte: Autoria Própria

Abreviações: EEB = Entrada Esgoto Bruto; SLF = Saída da Lagoa Facultativa; STA = Saída do Tanque de Aeração; SET = Saída do Esgoto Tratado

Os resultados apresentados mostram uma similaridade entre as relações C/N e H/C. Os valores H/C são maiores para as EEB das três estações (entre 22,8 e 10,6), quando comparado com os outros PdC. Isso pode ser explicado devido a presença de materiais com maiores níveis de insaturação. Após o tratamento, tanto para as SLF/STA quanto para SET os valores apresentaram uma baixa, ficando em torno de 12,5 – 6,1, isso devido aos processos utilizados dentro das ETEs com objetivo de diminuir as insaturações e o nível da MO. Esses processos contam com sistemas que abrangem desde as entradas, contendo caixas de areia, seguido do processo de decantação, processos químicos e biológicos associados a cada tipo de tratamento, nos quais os MOs são os principais responsáveis pelo consumo e mineralização da MO na forma de gases, que terá como consequência uma diminuição do carbono remanescente.

4.1.3. Parâmetros Físico – Químicos (pH, Turbidez e Condutividade Elétrica)

Os resultados obtidos do pH, Condutividade Elétrica µS cm^{-1} (CE) e Turbidez (NTU) para os PdC das ETEs estão expressos nas Tabelas 8 e 9, referente as coletas realizadas no outono/inverno de 2022 e primavera/verão de 2022 e 2023, respectivamente.

Tabela 8: Resultado do pH, Condutividade Elétrica e Turbidez dos PdC das ETEs referente ao Outono e Inverno, 2022

ETE	PdC	Outono pH	Outono CE (µS cm^{-1})	Outono Turbidez (NTU)	Inverno pH	Inverno CE (µS cm^{-1})	Inverno Turbidez (NTU)
II	EEB	7,4 ± 0,1	530,5 ± 3,5	124,0 ± 4,2	7,4 ± 0,1	942,5 ± 2,1	104,5 ± 3,5
	SLF	7,3 ± 0,1	140,4 ± 1,8	114,5 ± 2,1	7,9 ± 0,1	881,0 ± 1,4	17,9 ± 0,5
	SET	7,4 ± 0,1	889,5 ± 6,4	47,7 ± 3,3	7,9 ± 0,1	961,0 ± 8,5	23,2 ± 1,0
III	EEB	7,7 ± 0,1	647,0 ± 2,8	54,9 ± 4,3	7,3 ± 0,1	796,0 ± 1,4	126,0 ± 2,8
	SLF	7,4 ± 0,1	603,0 ± 1,4	59,9 ± 3,3	7,5 ± 0,1	675,5 ± 0,7	81,3 ± 3,0
	SET	7,4 ± 0,1	688,0 ± 5,7	43,3 ± 4,2	7,6 ± 0,1	568,5 ± 2,1	58,5 ± 3,5
IV	EEB	7,4 ± 0,1	576,5 ± 4,9	66,8 ± 1,4	7,4 ± 0,1	724,5 ± 0,7	95,6 ± 2,1
	STA	7,1 ± 0,1	449,0 ± 1,4	64,9 ± 1,6	7,3 ± 0,1	656,5 ± 0,7	67,5 ± 0,7
	SET	7,0 ± 0,1	721,0 ± 1,4	80,7 ± 0,8	7,4 ± 0,1	672,0 ± 1,4	64,0 ± 0,0

Fonte: Autoria Própria

Abreviações: EEB = Entrada do Esgoto Bruto; SLF= Saída da Lagoa Facultativa; STA = Saída do Tanque de Aeração; SET = Saída do Esgoto Tratado.

Tabela 9: Resultado do pH, Condutividade Elétrica e Turbidez dos PdC das ETEs referente a Primavera de 2022 e Verão de 2023

ETE	PdC	Primavera pH	Primavera CE (µS cm^{-1})	Primavera Turbidez (NTU)	Verão pH	Verão CE (µS cm^{-1})	Verão Turbidez (NTU)
II	EEB	7,5 ± 0,1	1066,0 ± 1,4	128,5 ± 2,1	7,4 ± 0,1	957,5 ± 0,7	72,6 ± 3,2
	SLF	7,8 ± 0,1	887,0 ± 1,4	60,7 ± 0,6	7,3 ± 0,1	659,0 ± 2,8	115,5 ± 2,1
	SET	8,2 ± 0,1	869,0 ± 1,4	35,7 ± 0,0	7,1 ± 0,1	599,5 ± 2,1	23,3 ± 0,1
III	EEB	7,5 ± 0,1	988,5 ± 2,1	106,5 ± 0,7	7 ± 0,1	884,0 ± 2,8	72,5 ± 1,8

	SLF	7,5 ± 0,1	705,0 ± 1,4	106,0 ± 1,4	7,2 ± 0,1	578,0 ± 2,8	57,0 ± 0,5
	SET	7,3 ± 0,1	628,0 ± 2,8	75,5 ± 0,1	7,2 ± 0,1	577,5 ± 0,7	42,7 ± 0,0
	EEB	7,1 ± 0,1	745,5 ± 2,1	135,5 ± 3,5	7 ± 0,1	711,0 ± 2,8	115 ± 1,4
IV	STA	7 ± 0,1	754,5 ± 2,1	206,0 ± 1,4	7,2 ± 0,1	625,0 ± 0,0	16,5 ± 1,5
	SET	7,4 ± 0,1	623,5 ± 3,5	66,4 ± 2,9	7,7 ± 0,1	295,0 ± 4,2	18,7 ± 0,4

Fonte: Autoria Própria

Abreviações: EEB = Entrada do Esgoto Bruto; SLF = Saída da Lagoa Facultativa; STA = Saída do Tanque de Aeração; SET = Saída do Esgoto Tratado.

É possível perceber por meio dos resultados das Tabelas 8 e 9 que os parâmetros estão dentro do estabelecido pela legislação, por meio das resoluções nº 430/maio de 2011 e nº 357/março de 2005 (CONAMA, 2005, 2011), que estabelece para o pH faixa entre ≥ 5 e ≤ 9 e para a Turbidez ≤ 40 NTU. Não existe um padrão de condutividade na legislação, porém, de acordo com VON SPERLING (2007), as águas naturais apresentam teores de condutividade na faixa de 10 a 100 μS cm^{-1}, e em ambientes poluídos por esgotos domésticos ou industriais os valores podem chegar até 1000 μS cm^{-1}.

A CE é uma medida que remete a capacidade da água de conduzir corrente elétrica, ou seja, esta está associada com a presença de íons dissolvidos na água. Quanto maior for a quantidade de íons dissolvidos, maior será a CE. É possível perceber que para as três primeiras estações de coleta (outono, inverno e primavera), a condutividade não sofre mudanças bruscas nos valores, diferente da estação do verão que esses valores são menores desde as EEB, sendo reduzida durante o processo. Esse movimento pode estar associado a fatores relacionados ao clima, uma vez que em janeiro de 2023, coleta referente ao verão, foi um período de índices altos de chuvas. A Turbidez é outro parâmetro importante que influencia a qualidade da água, e está relacionado com a quantidade excessiva de partículas em suspensão em uma amostra. A presença dessas partículas afeta a propagação da luz pela água, e provoca a falta de transparência, por isso é esperado que ao chegar na ETE a água residual apresente níveis de Turbidez mais altos, do que no momento de ser despejada no corpo receptor, o que está de acordo com os resultados observados nos dados das coletas.

4.1.4. Parâmetros Físico – Químicos (SAAEB)

Além desses resultados, foi fornecido pelo SAAEB alguns parâmetros, que foram realizados em amostras no mesmo dia de coleta (Tabela 10). Também, foi cedido dados dos trimestres do ano de 2022 das ETEs II, III e IV (Tabela 11). Os parâmetros avaliados foram: pH, SS, Sulfato, Sulfeto, DQO, DBO e a Eficiência das estações.

Tabela 10: Resultado dos parâmetros físico - químicos realizados pelo SAAEB

			EEB					SET						EFICIÊNCIA	
ETE	Período	pH	SS ml. L^{-1}	Sulfato mg. L^{-1}	Sulfeto mg. L^{-1}	DQO mg. L^{-1}	DBO mg. L^{-1}	pH	SS ml. L^{-1}	Sulfato mg. L^{-1}	Sulfeto mg. L^{-1}	DQO mg. L^{-1}	DBO mg. L^{-1}	DQO	DBO
II	Outono	7,5	4,0	45,0	N.R	650,0	382,0	7,8	0,1	27,0	N.R	207,0	75,0	68%	80%
	Inverno	7,5	3,5	44,0	N.R	605,0	362,0	7,9	0,1	40,0	N.R	104,0	45,0	83%	88%
	Primavera	7,3	8,0	39,0	0,3	823,0	422,0	8,1	0,5	41,0	0,0	151,0	N.D	82%	N.R
	Verão	7,5	2,5	40,0	0,3	472,0	322,0	7,8	0,1	31,0	0,1	135,0	70,0	71%	78%
III	Outono	6,8	4,5	37,0	N.R	687,0	422,0	7,6	0,3	26,0	N.R	156,0	50,0	77%	88%
	Inverno	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R
	Primavera	7,0	4,5	38,0	0,3	616,0	362,0	7,6	0,1	29,0	0,2	229,0	45,0	63,0	88,0
	Verão	7,0	4,0	39,0	0,2	458,0	301,0	7,3	0,1	29,0	0,2	162,0	55,0	65,0	82,0
IV	Outono	7,6	5,5	N.R	N.R	648,0	362,0	7,1	2,0	N.R	N.R	307,0	90,0	53%	75%
	Inverno	7,4	4,0	N.R	N.R	560,0	342,0	7,2	1,0	N.R	N.R	220,0	85,0	61%	75%
	Primavera	6,9	4,0	N.R	N.R	1014,0	703,0	7,3	2,0	N.R	N.R	229,0	55,0	77%	92%
	Verão	7,0	4,0	N.R	N.R	573,0	342,0	7,4	4,0	N.R	N.R	126,0	60,0	78%	82%

Fonte: SAAEB

Abreviações: ETE = Estação de Tratamento de Esgoto; EEB = Entrada do Esgoto Bruto; SET = Saída do Esgoto Tratado; SS = Sólidos Suspensos Totais; DQO = Demanda Química de Oxigênio; DBO = Demanda Bioquímica de Oxigênio; N.R = Não realizado; N.D = Não detectável

Tabela 11: Resultado dos parâmetros físico - químicos realizados pelo SAAEB referente ao ano de 2022

			EEB					SET						EFICIÊNCIA	
ETE	Período	pH	SS ml. L^{-1}	Sulfato mg. L^{-1}	Sulfeto mg. L^{-1}	DQO mg. L^{-1}	DBO mg. L^{-1}	pH	SS ml. L^{-1}	Sulfato mg. L^{-1}	Sulfeto mg. L^{-1}	DQO mg. L^{-1}	DBO mg. L^{-1}	DQO	DBO
II	1º TRI	7,4	4,5	41,0	N.R	736,0	389,0	8,6	0,5	24,3	N.R	196,0	95,0	73%	76%
	2º TRI	7,6	4,5	45,5	N.R	677,0	402,0	7,8	0,1	28,0	N.R	215,3	83,0	68%	80%
	3º TRI	7,6	4,0	39,3	0,3	629,0	375,0	7,9	0,1	39,7	0,1	135,1	55,0	78%	86%
	4º TRI	7,5	5,8	45,0	0,9	654,0	402,0	8,0	0,6	40,0	0,2	230,0	90,0	65%	78%
III	1º TRI	6,8	3,8	43,0	N.R	596,0	352,0	8,7	0,1	15,0	N.R	205	48	65%	87%
	2º TRI	6,9	4,7	29,0	N.R	718,0	395,0	7,8	0,2	28,0	N.R	187,0	40,0	74%	90%
	3º TRI	7,3	5,0	29,5	N.R	514,0	332,0	7,7	0,7	31,5	N.R	181,0	40,0	65%	88%
	4º TRI	7,2	24,8	35,7	0,3	559,0	348,0	8,1	0,2	26,7	0,2	242,0	67,0	57%	81%
IV	1º TRI	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R	N.R
	2º TRI	7,2	5,2	N.R	N.R	826	462	7,2	13,0	N.R	N.R	297	80	59%	81%
	3º TRI	7,2	5	N.R	N.R	685	402	7,2	10,3	N.R	N.R	229	82	67%	79%
	4º TRI	7,1	5,3	N.R	N.R	602	452	7,4	22	N.R	N.R	263	81	63%	80%

Fonte: SAAEB

Abreviações: TRI = Trimestre; EEB = Entrada do Esgoto Bruto; SET = Saída do Esgoto Tratado; SS = Sólidos Suspensos Totais; DQO = Demanda Química de Oxigênio; DBO = Demanda Bioquímica de Oxigênio; N.R = Não realizado

Em relação aos dados apresentados nas Tabelas 10 e 11, todos os parâmetros estão dentro da faixa do estabelecido da legislação, por meio da resolução nº 430/maio de 2011 do CONAMA, sendo que para o pH, a faixa é entre ≥ 5 e ≤ 9, a DBO necessita de uma remoção mínima de 60%, materiais sedimentáveis até 1 $mL.L^{-1}$ em teste de 1 hora em cone Imhoff e sulfeto em $\leq$ 1$mg.L^{-1}$. É importante observar a relação da eficiência das ETEs, por meio dos valores

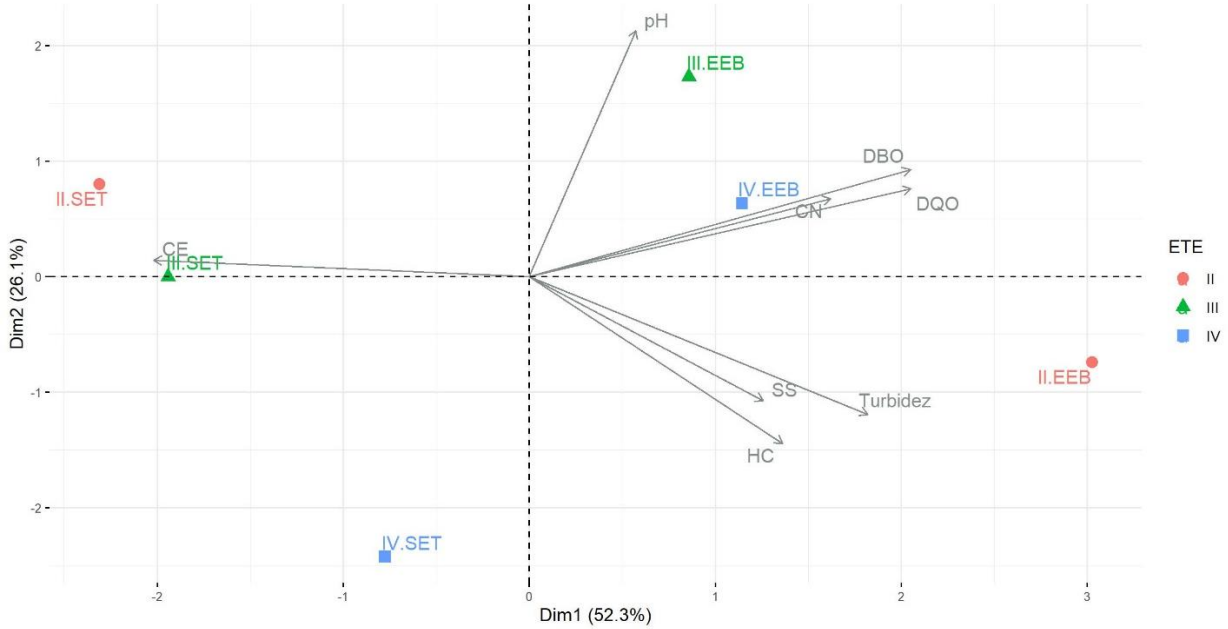
atribuídos na DBO e DQO, nas quais as faixas de porcentagem se apresentam em torno de 53% - 93%. Essas taxas são variáveis de acordo com a sazonalidade e também de acordo com a particularidade de cada sistema.

4.1.5. Análise de Componentes Principais dos Parâmetros Físico – Químicos

Foi realizado uma *Principal Component Analysis* (PCA) utilizando os seguintes parâmetros físico-químico: A DQO, DBO e SS, foram fornecidos pelo SAAEB enquanto o pH, a Turbidez e a CE, foram avaliados no laboratório ambiental da EMBRAPA/Instrumentação. Além desses, foi incluído na análise as relações C/N e H/C, provenientes do Analisador Elementar. Esses dados foram avaliados tanto das EEB, quanto das SET das três ETEs. As Figuras 20, 21, 22 e 23 apresentam as análises da PCA do outono, inverno, primavera e verão.

É importante citar que a primeira componente (Dim1) explica 52,3% e a segunda componente (Dim2) explica 26,1% da variabilidade para o Outono (Figura 20). Para o inverno a (Dim1) explica 60% e a (Dim2) explica 25% (Figura 21). Para a primavera, a (Dim1) explica 52,9% e a (Dim2) explica 24,8% (Figura 22) e por fim para o Verão a (Dim1) explica 69,1% e a (Dim2) explica 16,5% (Figura 23).

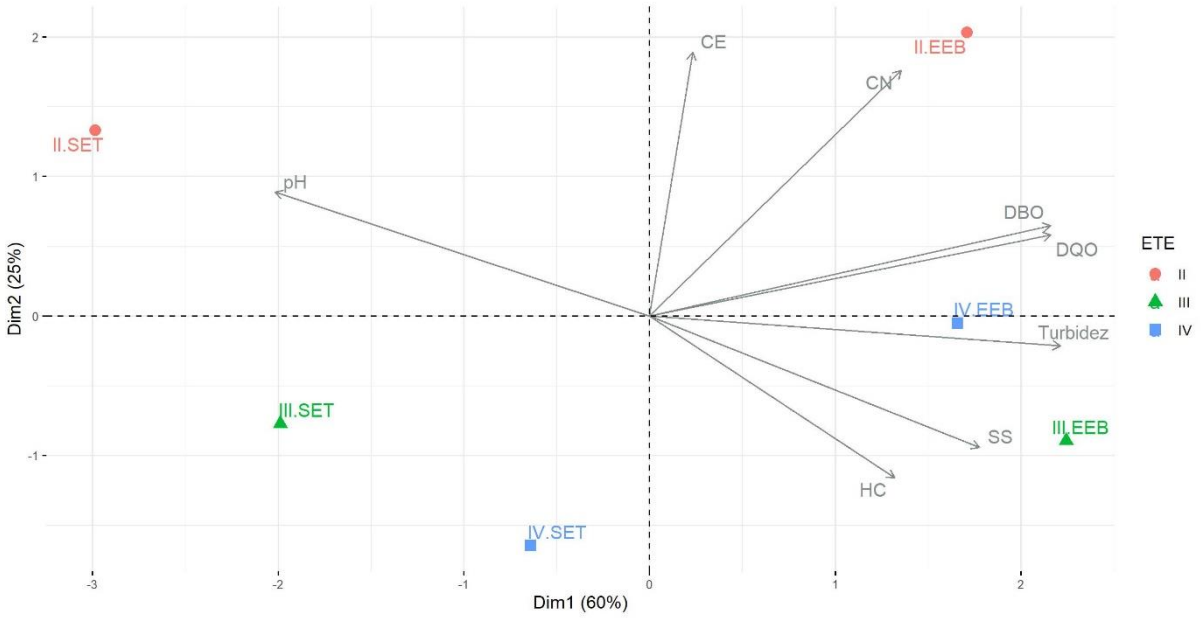
Figura 20: PCA das EEB e das SET referentes ao Outono, 2022



Fonte: Dados fornecidos pelo SAAEB em conjunto com as análises realizadas dentro do Laboratório Ambiental da EMBRAPA Instrumentação

Abreviações: ETE = Estação de Tratamento de Esgoto; IIEEB Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento II; IISET= Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento II; IIIEEB= Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento III;; IIISET= Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento III; IVEEB = Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento IV; IVSET = Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento IV; DQO = Demanda Química de Oxigênio; DBO = Demanda Bioquímica de Oxigênio; CN= Relação Carbono/Nitrogênio; HC = Relação Hidrogênio/Carbono; CE = Condutividade Elétrica; SS = Sólidos Suspensos Totais

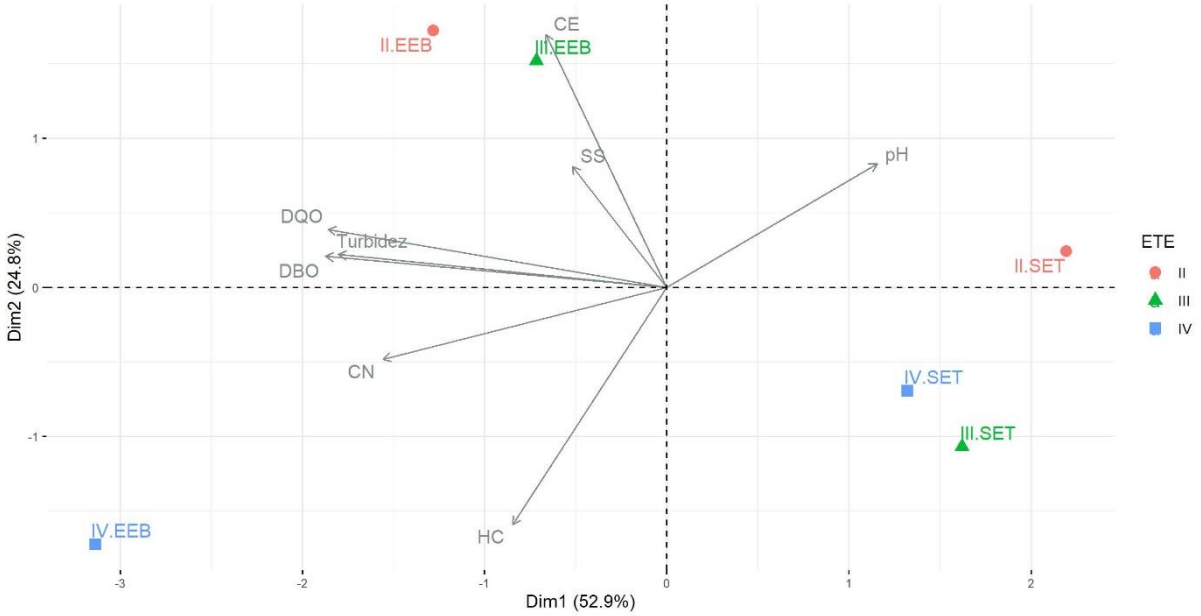
Figura 21: PCA das EEB e das SET referentes ao Inverno, 2022



Fonte: Dados fornecidos pelo SAAEB em conjunto com as análises realizadas dentro do Laboratório Ambiental da EMBRAPA Instrumentação

Abreviações: ETE = Estação de Tratamento de Esgoto; IIEEB Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento II; IISET= Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento II; IIIEEB= Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento III;; IIISET= Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento III; IVEEB = Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento IV; IVSET = Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento IV; DQO = Demanda Química de Oxigênio; DBO = Demanda Bioquímica de Oxigênio; CN= Relação Carbono/Nitrogênio; HC = Relação Hidrogênio/Carbono; CE = Condutividade Elétrica; SS = Sólidos Suspensos Totais

Figura 22: PCA das EEB e das SET referentes a Primavera, 2022

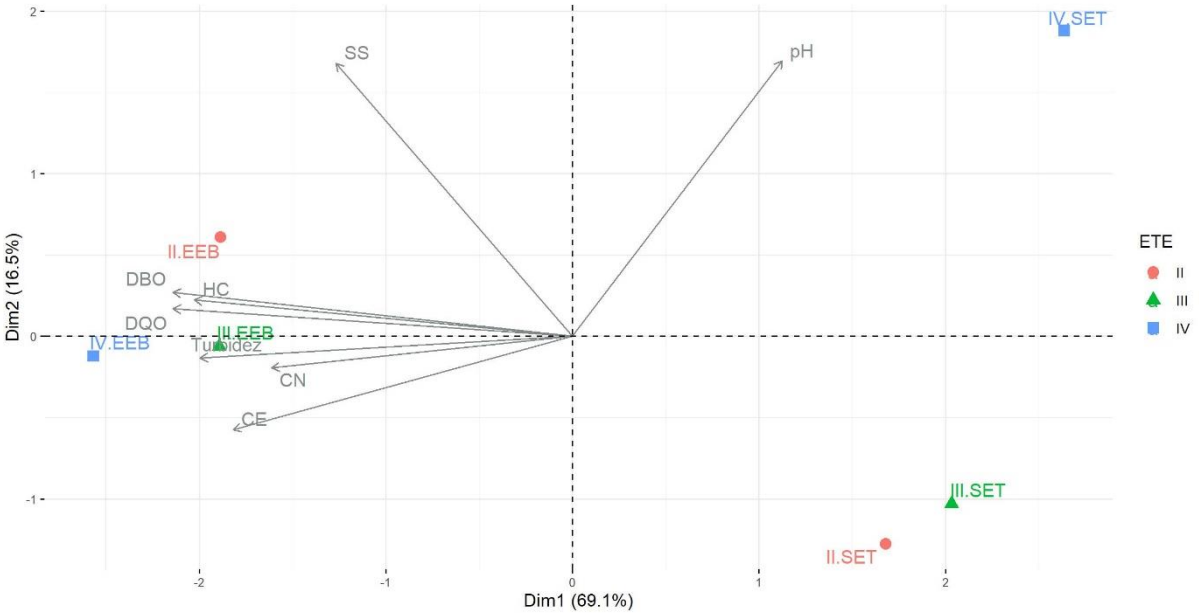


Fonte: Dados fornecidos pelo SAAEB em conjunto com as análises realizadas dentro do Laboratório Ambiental da EMBRAPA Instrumentação

Abreviações: ETE = Estação de Tratamento de Esgoto; IIEEB Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento II; IISET= Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento II; IIIEEB= Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento III;; IIISET= Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento III; IVEEB = Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento IV; IVSET = Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento IV; DQO = Demanda

Química de Oxigênio; DBO = Demanda Bioquímica de Oxigênio; CN= Relação Carbono/Nitrogênio; HC = Relação Hidrogênio/Carbono; CE = Condutividade Elétrica; SS = Sólidos Suspensos Totais

Figura 23: PCA das EEB e das SET referentes ao Verão, 2023



Fonte: Dados fornecidos pelo SAAEB em conjunto com as análises realizadas dentro do Laboratório Ambiental da EMBRAPA Instrumentação

Abreviações: ETE = Estação de Tratamento de Esgoto; IIEEB Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento II; IISET= Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento II; IIIEEB= Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento III;; IIISET= Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento III; IVEEB = Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento IV; IVSET = Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento IV; DQO = Demanda Química de Oxigênio; DBO = Demanda Bioquímica de Oxigênio; CN= Relação Carbono/Nitrogênio; HC = Relação Hidrogênio/Carbono; CE = Condutividade Elétrica; SS = Sólidos Suspensos Totais

A PCA apresentada nas Figuras 20, 21, 22 e 23, foram baseadas em análises físico-químicas do esgoto bruto e do líquido tratado, com o intuito de fornecer de forma quantitativa as características da biomassa das ETEs. Sendo assim, observa-se que as EEB das estações II, III e IV estão próximas, principalmente no outono, inverno e verão, o que indica semelhança em relação aos parâmetros avaliados. Nota-se que na primavera, a EEB IV se distanciou das EEB II e III, enquanto as SET se mantiveram mais próximas.

4.2. Análise Genotípica por Biologia Molecular

4.2.1. Abundância Relativa

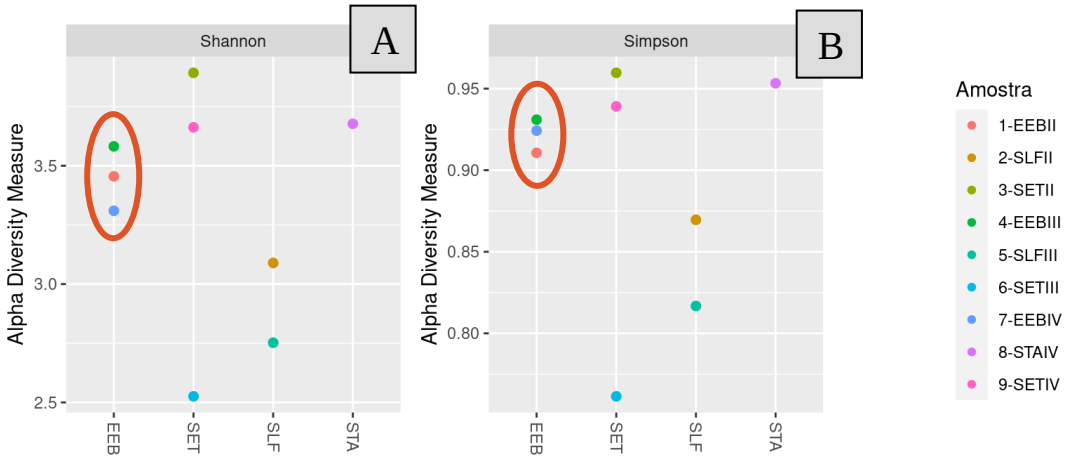
A interferência de táxons foi realizada utilizando a versão 138 do banco de dados apresentando no trabalho de GLÖCKNER et al. (2017). A sequência de bases do DNA ribossômico 16S não é um método preciso para a classificação em nível de espécie. Portanto, as ASVs (Variantes de Sequenciamento de Amplicon) foram classificados a nível de gênero.

Conforme apresentado nos ANEXOS B e C, referentes a taxonomia dos MOs classificados em filo e gênero, respectivamente, percebe-se que em relação as EEB das ETEs II, III e IV, é notável a similaridade entre os filos e gêneros dos MOs encontrados. Sendo assim, estão expostos na ordem decrescente de porcentagem, as bactérias pertencentes aos filos das Proteobactérias, Bacteroidetes, Campibacteretes e Firmicutes. Em relação ao gênero foram encontradas maiores quantidades para *Arcobacter, Tolumonas, Cloacibacterium, Rivicola, Acinetobacter* e *Aeromonas*. Em relação as SLF para ETE II e III e a STA para ETE IV, nota-se uma diferença nas quantidades e distribuição dos MOs encontrados. Nos três PdC, os filos mais abundantes foram as Proteobactérias, representando 80% dos MOs encontrados na SLF da ETE II, seguido do Bacteroidetes, representando 30% do STA da ETE IV. Para a ETE III foi encontrado uma porcentagem de 39,16% do filo das Cianobactérias, se mostrando diferente da ETE II e IV, nas quais esse filo não foi observado. Em relação aos gêneros mais abundantes, a SLF da ETE II apresentou maiores quantidades para *Chromatiaceae* e *Dechlorosoma*, enquanto na SLF da ETE III foi constatado *Planktothrix* e *Rhodozyclaceae*. Para a STA da ETE IV, os filos encontrados em abundância foram os Comamonadaceae e Pleomorphomonadaceae. Por fim, a comparação entre a SET das três ETEs, mostrou que os filos são parecidos, sendo diferenciados na porcentagem, apresentando Proteobactérias e Bacteroidetes. A ETE III apresentou quantidade significativa de Cianobactérias (46%). Em relação aos gêneros da SET da ETE II, apresentou maiores quantidades de *Arcobacter* e *Acinetobacter*. Para a ETE III foi encontrado grande quantidade de *Planktothrix* (47%). Por fim, na ETE IV foram encontradas quantidades maiores de Pleomorphomonadaceae e Comamonadaceae. De acordo com o trabalho de CYDZIK-KWIATKOWSKA (2016) nas ETEs municipais predomina o filo das Proteobactérias, sendo essas as maiores responsáveis pela remoção de orgânicos e nutrientes.

4.2.2. Diversidade Alfa (α)

A diversidade alfa (α), indica a riqueza de espécies no nível de comunidades individuais(THUKRAL et al., 2019). A Figura 24 apresenta duas análises denominadas de Índice de Diversidade de Shannon (A) e a Diversidade de Simpsons (B), utilizadas para avaliar a biodiversidade em ecossistemas. Utiliza-se a Análise de Shannon, para dizer que a comunidade A é mais diversa do que a comunidade B, levando em consideração a riqueza das espécies encontradas em conjunto com a equitabilidade das abundâncias relativas das espécies. Já a Análise de Diversidade de Simpson, foca na dominância das espécies mais abundantes na comunidade (MELO, 2008)

Figura 24: Análise de Diversidade Microbiana - Indice de Diversidade de Shannon e Simpson



Fonte: NGS Soluções Genômicas

Legenda: A – Índice Diversidade de Shannon; B – Diversidade de Simpson

Abreviações: EEBII Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento II ; SLFII = Saída da Lagoa Facultativa da Estação de Tratamento II; SETII= Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento II; EEBIII= Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento III V; SLFIII = Saída da Lagoa Facultativa da Estação de Tratamento III; SETIII = Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento III; EEBIV = Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento IV; STAIV= Saída do Tanque de Aeração da Estação de Tratamento IV; SETIV = Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento IV

Conforme apresentando na Figura 24, é possível perceber uma similaridade de abundância (riqueza e equitabilidade) de espécies microbianas encontradas nas entradas dos esgotos brutas das três estações de tratamento nas duas análises propostas. Isso mostra, que apesar da ETE II não receber os resíduos do hospital, quando é avaliada a água residual sem tratamento, os MOs encontrados são similares. Pode se observar uma semelhança entre as amostras SLF das ETEs II e III e isso pode ser explicado devido a utilização do mesmo sistema de tratamento (lagoa de estabilização), enquanto na STA da ETE IV, o sistema é diferente, sendo realizado por lodo ativado. Por fim, as SET da ETE II com a ETE IV, enquanto a ETE III apresenta diferenças na diversidade dos MOs encontrados.

4.2.3. PCA para Diversidade Microbiana

A PCA é uma técnica de estatística multivariada utilizada para analisar inter-relações entre um grande número de variáveis em termos de suas dimensões inerentes. Na análise de componentes principais, as duas primeiras componentes explicam juntas 86% da variabilidade dos dados dos índices. A primeira componente (Dim1) explica 69% da variabilidade e estão correlacionados (coeficientes acima de 70%) a ela os índices apresentados na Tabela 12.

Tabela 12: Índices relacionados a primeira componente da PCA

Correlação POSITIVA	Correlação NEGATIVA
● *dominance_dbp*	● *diversity_fisher*
● *dominance_dmn*	● *diversity_coverage*
● *dominance_absolute*	● *evenness_pielou*
● *dominance_relative*	● *evenness_simpson*
● *dominance_simpson*	● *evenness_bulla*
● *dominance_gini*	
● *rarity_log_modulo_skewness*	

Fonte: NGS Soluções Genômicas

A segunda componente (Dim2) explica 17% da variabilidade e estão correlacionados (coeficientes acima de 70%) a ela os índices apresentados na Tabela 13.

Tabela 13: Índices relacionados a segunda componente da PCA

Correlação POSITIVA	Correlação NEGATIVA
● *rarity_low_abundance*	● *dominance_core_abundance*
● *rarity_rare_abundance*	
●*faith_phylogenetic_distance*	

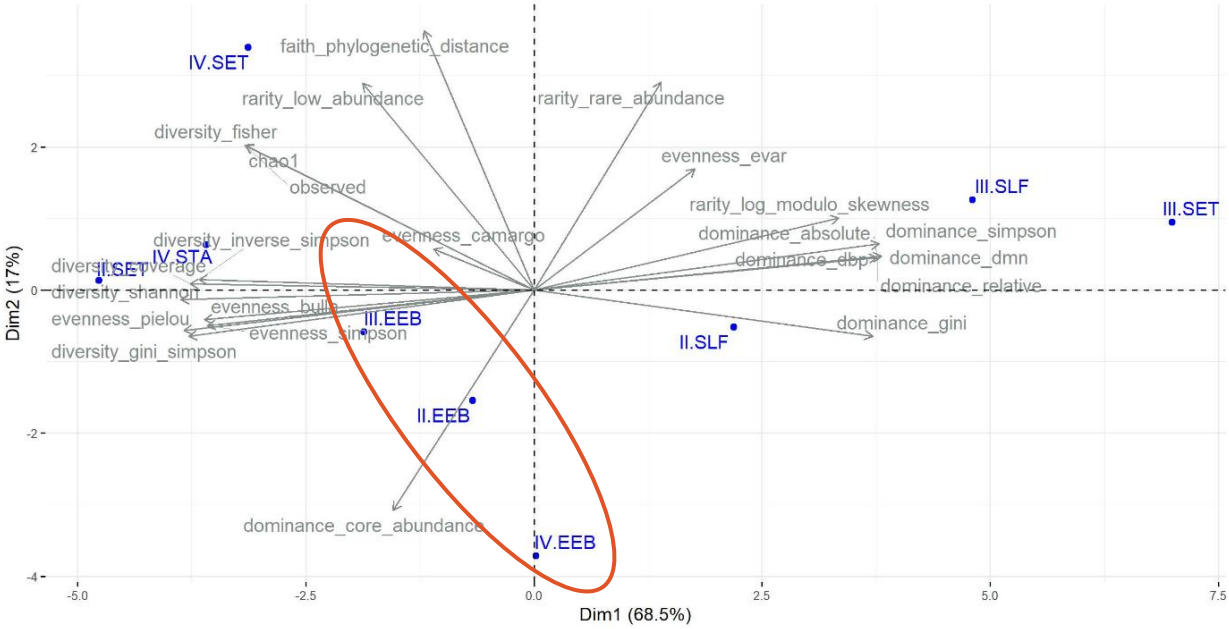
Fonte: NGS Soluções Genômicas

Essa PCA, foi baseada em análises estatísticas referentes a abundância de diversidade dos MOs, com o intuito de fornecer de forma quantitativa as características de uma comunidade. Conforme apresentado na Tabela 12, as correlações positivas, estão descritas como *dominance_absolute* e *dominance_relative*, que representam a abundância absoluta das espécies e a abundância relativa das espécies mais abundantes, respectivamente (MAGURRAN, A. E; MCGILL, B. J, 2011). Além desses também está apresentado, a análise *dominance_dbp*, que considera a maior proporção da espécie com maior número de indivíduos e a *dominance_dmn* que é a soma da abundância relativa dos dois táxons mais abundantes (LOCEY; LENNON, 2016). A *dominance_simpson*, indica a probabilidade de dois indivíduos escolhidos aleatoriamente se associarem à mesma espécie (THUKRAL et al., 2019), enquanto a *dominance_gini*, se baseia na utilização do coeficiente de Gini, uma medida que indica a igualdade ou desigualdade em uma amostra. Para a correlação negativa, está associado a *diversity_fisher*, que é um índice paramétrico de diversidade que assume que a abundância de espécies segue a distribuição logarítmica, que descreve a relação entre o número de espécies e o número de indivíduos nessas espécies (SEABY; HENDERSON, 2007), o *evenness_pielou* exprime a análise da equitabilidade, o qual refere-se ao padrão de distribuição dos indivíduos entre as espécies, com valores variando entre 0 e 1, para um mínimo e máximo de uniformidade,

este índice mede a proporção da diversidade observada em relação à máxima diversidade esperada (BIONDI DANIELA; BOBROWSKI ROGÉRIO, 2014).

No caso da Tabela 13, para a correlação positiva estão expressos algumas análises denominadas: *rarity_low_abundance* e *rarity_rare_abundance*, que estão associadas com a proporção relativa das espécies menos abundantes e a proporção relativa das espécies não essenciais, respectivamente (LOCEY; LENNON, 2016). A *faith_phylogenetic_distance*, representa a soma dos ramos entre as espécies observadas em uma árvore filogenética.

Figura 25: PCA referente a Abundância Relativa dos PdC das ETEs



Fonte: NGS Soluções Genômicas

Abreviações: IIEEB Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento II ; IISLF = Saída da Lagoa Facultativa da Estação de Tratamento II; IISET= Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento II; IIIEEB= Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento III V; IIISLF = Saída da Lagoa Facultativa da Estação de Tratamento III; IIISET= Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento III; IVEEB = Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento IV; IVSTA= Saída do Tanque de Aeração da Estação de Tratamento IV; IVSET = Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento IV

Conforme apresentando na Figura 25, se observa que as EEB das estações II, III e IV estão próximas, o que indica uma maior similaridade na abundância de diversidade dessas amostras, ou seja, esses dados indicam que, independentemente da origem do AF, essas amostras apresentam características parecidas em sua biodiversidade. O mesmo acontece com as SLF das estações II e III, o que pode ser explicado devido as duas ETEs apresentarem a mesma metodologia de tratamento, ficando diferente da STA, que utiliza uma metodologia diferente no sistema de tratamento da água residual. Quanto às amostras da SET, as estações II e IV estão mais próximas e se distanciam da III quanto à dimensão 1.

4.3. Análise Fenotípica de suscetibilidade antimicrobiana

4.3.1. Identificação das Bactérias selecionadas nas ETEs

Conforme apresentado na Tabela 14, foram identificadas setenta e duas bactérias de diferentes gêneros e espécies.

Tabela 14: Identificação das bactérias conforme os PdC das estações do outono, inverno e primavera de 2022 e verão de 2023

ETE	PdC	Identificação das Bactérias			
		Outono	Inverno	Primavera	Verão
II	EEB (1)	*Klebsiella* spp.	*Shigella* spp.	*Enterobacter* spp.	*Staphylococcus aureus*
	EEB (2)	*Bacillus subtilis*	*Kurthia* spp.	*Pseudomonas* spp.	*Bacillus subtilis*
	SLF (1)	*Citrobacter* spp.	*Bacillus subtilis*	*Enterobacter* spp.	*Klebsiella* spp.
	SLF (2)	*Pseudomonas aeruginosa*	*Escherichia coli*	*Staphylococcus* spp.	*Klebsiella* spp.
	SET (1)	*Staphylococcus* spp.	*Klebsiella pneumoniae*	*Corynebacterium* spp.	*Acinetobacter* spp.
	SET (2)	*Acinetobacter* spp.	*Enterobacter aerogenes*	*Streptococcus* spp.	*Pseudomonas putida*
III	EEB (1)	*Klebsiella* spp.	*Citrobacter* spp.	*Rothia* spp.	*Escherichia coli*
	EEB (2)	*Salmonella* spp.	*Streptococcus* spp.	*Streptococcus pneumoniae*	*Streptococcus* spp.
	SLF (1)	*Klebsiella* spp.	*Moraxella* spp.	*Escherichia coli*	*Streptococcus* spp.
	SLF (2)	*Proteus mirabilis*	*Escherichia coli*	*Streptococcus* spp.	*Streptococcus* spp.
	SET (1)	*Staphylococcus* spp.	*Vibrio spp*	*Corynebacterium* spp.	*Pseudomonas* spp.
	SET (2)	*Ochrobactrum anthropi*	*Bacillus subtilis*	*Corynebacterium* spp.	*Streptococcus pneumoniae*
IV	EEB (1)	*Morganella morganii*	*Bacillus subtilis*	*Staphylococcus* spp.	*Enterobacter* spp.
	EEB (2)	*Streptococcus* spp.	*Yersinia enterocolitica*	*Bactéria Filamentosa*	*Staphylococcus* spp.
	STA (1)	*Pseudomonas aeruginosa*	*Lactobacillus* spp.	*Escherichia coli*	*Escherichia coli*
	STA (2)	*Escherichia coli*	*Shigella* spp.	*Klebsiella* spp.	*Pseudomonas stutzeri*
	SET (1)	*Sarcina* spp.	*Escherichia coli*	*Streptococcus pneumoniae*	*Proteus mirabilis*
	SET (2)	*Escherichia coli*	*Salmonella* spp.	*Streptococcus pneumoniae*	*Streptococcus* spp.

Fonte: Autoria Própria

Abreviações: ETE = Estação de Tratamento de Esgoto; EEB = Entrada Esgoto Bruto; SLF = Saída da Lagoa Facultativa; STA = Saída do Tanque de Aeração; SET = Saída do Esgoto Tratado

Entre as MOs identificados, as Enterobactérias foram prevalentes, nas amostras das ETEs. Entre elas, diferentes gêneros como: *Klebsiella* spp, *Citrobacter* spp, *Enterobacter* spp e de importância clínica, as cepas: *Escherichia coli*, *Shigella* spp, *Salmonella* spp e *Yersinia*

enterocolitica. De menor importância, *Ochrobactrum anthropi*, *Morganella morganii*, que podem se apresentar como oportunistas.

Staphylococcus spp, de denominação genérica *Staphylococcus* coagulase negativa e a *Staphylococcus aureus*, foram comuns nas amostras. O *Staphylococcus aureus*, é considerada responsável por grande parcela de multirresistência em microrganismos responsáveis por infecções hospitalares. Destacado no trabalho de FERREIRA (2015), as bactérias do gênero *Staphylococcus* são sensíveis à temperatura alta, bem como à desinfetantes e soluções antissépticas, e podem sobreviver em superfícies secas durante longos períodos de tempo. O *Staphylococcus aureus* é uma das espécies bacterianas mais comuns, e é a mais virulenta do seu gênero. A disseminação endógena desta bactéria é a mais corriqueira, sendo responsável por muitas das infecções adquiridas no hospital. O *Streptococcus spp* e a *Streptococcus pneumoniae*, identificados, também em associação com doenças hospitalares, foram comuns nas amostras.

O gênero *Corynebacterium*, pertencente à família Corynebacteriaceae, representa uma grande parcela da microbiota humana, sendo que algumas espécies podem ser oportunistas, ou espécie patogênica como *Corynebacterium diphtheriae*, causador da Difteria. Foi constatado crescimento do *Vibrio* spp., pertencente à família Vibrionaceae, cujas espécies são clinicamente importantes como patógenos em humanos. O grupo de *Pseudomonas aeruginosa* e outras espécies, *Pseudomonas* spp., pertencentes a família Pseudomonadaceae, foram isoladas e merecem destaque por serem bactérias com elevado grau de patogenicidade, principalmente em centros hospitalares, devido sua resistência a antibióticos e antissépticos. De menor relevância clínica, *Bacillus subtilis, Acinetobacter* spp, *Rothia* spp, *Sarcina* spp e *Lactobacillus* spp foram identificados em algumas amostras (MOLINARO, et al., 2009)

4.3.2. Análise da Resistência antimicrobiana

Seguiu-se o antibiograma, conforme as normativas estabelecidas pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), sendo dividido em três categorias (CLSI, 2022).

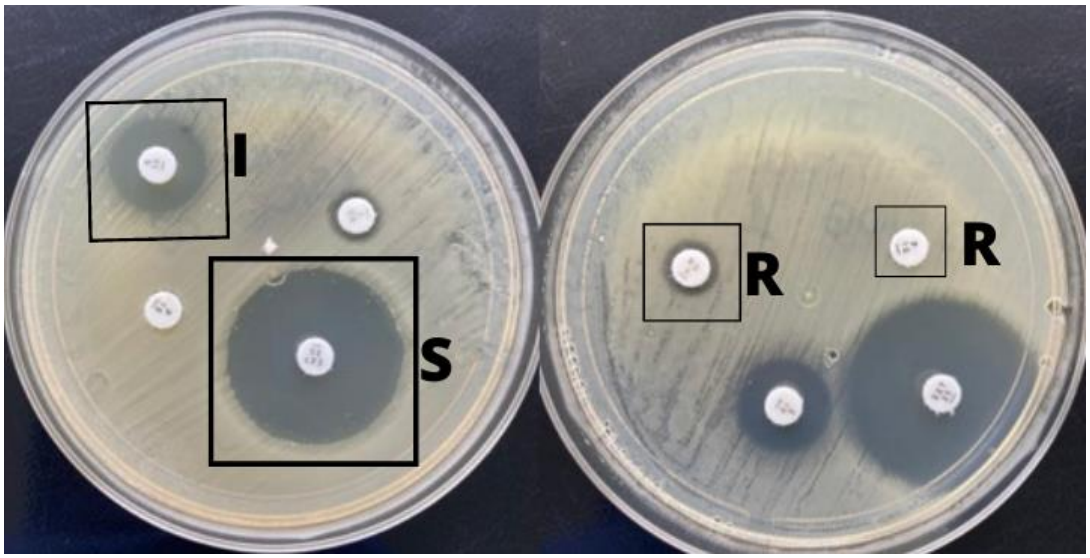
a) Sensível (S): A categoria “sensível” significa que uma infecção por uma determinada cepa pode ser tratada adequadamente com a dose de agente antimicrobiano recomendada para esse tipo de infecção.
b) Intermediária (I): A categoria “intermediária” inclui isolados com concentração inibitória mínima (CIM), que corresponde a mais baixa concentração de um antimicrobiano responsável por limitar o crescimento

de uma bactéria, que se aproximam de níveis sanguíneos e tissulares atingíveis e para os quais as taxas de resposta podem ser inferiores àquelas para isolados sensíveis.

c) Resistente (R): As cepas “resistentes” não são inibidas pelas concentrações sistêmicas dos agentes antimicrobianos geralmente atingíveis nos regimes terapêuticos normais e/ou se inserem na faixa de maior probabilidade de ocorrência de mecanismos específicos de resistência microbiana.

A Figura 26 apresenta um exemplo de antibiograma com o halo de inibição, representando as três categorias propostas da interação do microrganismo com o antibiótico: Resistente; Intermediário e Sensível.

Figura 26: Halo de Inibição avaliado em resistente, intermediário e sensível



Fonte: Autoria Própria
Abreviações: R = Resistente; I = Intermediário; S = Sensível

Os resultados obtidos de acordo com o halo de inibição expresso em mm estão apresentados no ANEXO D. Os valores de referência em relação ao halo de inibição para os antibióticos de acordo com cada MO estão descritos no ANEXO E. O AST avaliado em R, I S estão apresentados na Tabela 15, para o outono, inverno e primavera de 2022 e verão de 2023.

Tabela 15: Avaliação da suscetibilidade antimicrobiana do Outono, Inverno e Primavera de 2022 e Verão de 2023, em seus respectivos PdC

ETE	PdC	Outono														Inverno													
		p	s	rd	sxt	e	tec	va	cro	tob	ox	f	w	pb	tim	p	s	rd	sxt	e	tec	va	cro	tob	ox	f	w	pb	tim
II	EEB (1)	R	S	*	S	*	R	R	S	S	R	S	S	*	S	*	S	*	S	*	R	R	S	S	R	S	S	*	S
	EEB (2)	*	*	*	*	*	*	*	*	*	R	*	R	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	R	*	*	*	*
	SLF (1)	R	S	R	S	R	R	R	S	S	R	S	S	*	S	*	*	*	*	*	*	*	*	R	*	R	*	R	*	*
	SLF (2)	R	*	*	*	*	R	R	S	S	R	*	*	S	S	R	S	*	S	*	R	R	S	S	R	S	S	*	S
	SET (1)	R	*	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	*	S	R	S	*	S	R	R	R	S	S	R	S	S	*	S
	SET (2)	R	*	*	S	R	R	R	S	S	R	*	*	*	S	R	S	*	S	*	R	R	S	S	R	S	S	*	S
III	EEB (1)	R	S	*	S	*	R	R	S	S	R	S	S	*	S	R	S	*	S	R	R	R	S	S	R	R	S	*	S
	EEB (2)	R	R	*	S	*	R	R	R	S	*	R	R	*	R	S	*	*	*	I	*	S	S	*	R	*	*	*	*
	SLF(1)	*	S	*	S	*	R	R	S	S	R	R	R	*	S	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	SLF (2)	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	I	*	S	R	S	*	S	R	R	R	S	S	R	R	S	R	S
	SET (1)	S	*	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	*	S	R	*	*	S	*	R	R	*	*	R	*	*	*	*
	SET (2)	R	R	*	R	R	R	R	*	*	R	*	R	*	R	*	*	*	*	*	*	*	*	*	R	*	R	*	*
IV	EEB (1)	R	R	*	*	*	R	R	R	S	R	S	S	*	R	R	*	*	*	*	*	*	*	*	R	*	R	*	*
	EEB (2)	S	*	*	*	S	*	S	R	*	R	*	*	*	*	R	S	*	S	R	R	R	S	S	R	S	S	*	S
	STA (1)	R	*	R	*	*	R	R	S	S	R	*	*	S	S	*	R	*	*	*	*	*	R	*	R	*	*	*	*
	STA (2)	R	S	*	I	*	R	R	S	S	R	S	R	*	I	R	S	R	S	R	R	R	S	S	R	S	S	*	S
	SET (1)	*	*	*	R	R	*	R	*	*	R	*	R	*	*	R	R	*	S	R	R	R	S	S	R	S	S	*	S
	SET (2)	*	S	*	S	R	R	R	S	S	R	R	I	*	S	R	S	*	S	R	R	R	S	S	R	S	S	*	S

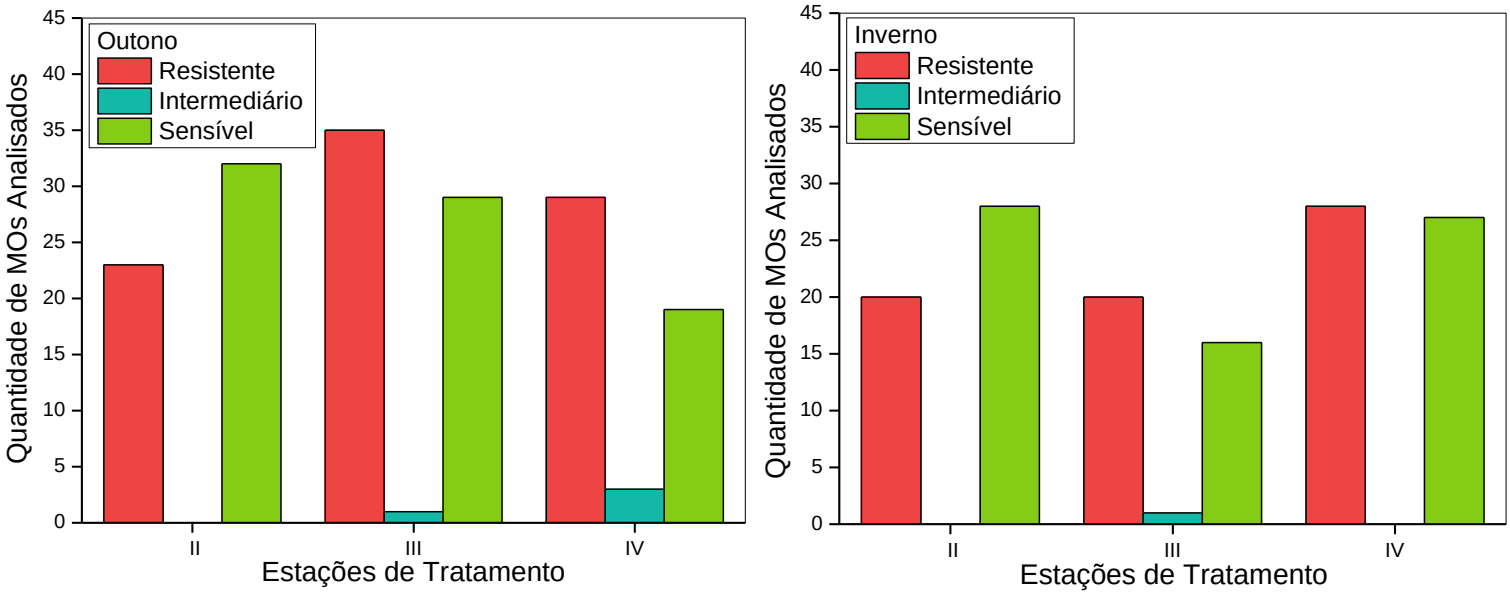
ETE	PdC	Primavera														Verão													
		p	s	rd	sxt	e	tec	va	cro	tob	ox	f	w	pb	tim	p	s	rd	sxt	e	tec	va	cro	tob	ox	f	w	pb	tim
II	EEB (1)	R	S	R	S	*	R	R	S	S	R	I	S	*	S	*	*	*	*	*	*	*	*	*	S	*	*	R	*
	EEB (2)	R	*	*	R	R	R	R	*	*	R	R	R	*	R	*	*	*	*	*	*	*	*	*	R	*	R	*	*
	SLF(1)	R	S	R	S	R	R	R	S	S	R	S	S	*	S	R	R	*	S	*	R	R	S	S	R	S	R	*	R
	SLF (2)	R	*	R	S	R	R	R	R	S	R	S	R	*	S	R	S	*	S	*	R	R	S	S	R	R	S	R	S
	SET (1)	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	R	*	*	S	R	R	R	I	S	R	*	*	*	S
	SET (2)	S	*	R	R	S	*	S	S	*	R	*	R	*	*	*	*	*	R	R	R	*	*	*	*	*	*	*	*
III	EEB (1)	R	*	*	*	*	R	R	*	*	R	*	*	*	*	R	I	*	S	R	R	R	S	S	R	S	S	*	S
	EEB (2)	S	*	S	S	S	*	S	*	*	R	*	*	*	*	R	R	R	R	R	*	S	R	*	R	*	*	R	*
	SLF (1)	R	I	R	S	*	R	R	S	S	R	S	S	*	S	R	*	*	R	R	*	R	R	*	R	*	*	*	*
	SLF (2)	S	R	*	*	R	*	S	R	*	R	*	*	*	*	R	R	*	*	R	*	S	R	R	R	*	*	R	*
	SET (1)	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	R	R	R	*	*	*	R	*	R	*	*
	SET (2)	*	*	*	*	*	*	*	*	*	R	*	*	*	*	S	*	R	R	S	*	S	*	*	R	*	R	*	*
IV	EEB (1)	R	*	S	S	S	R	S	S	S	R	R	I	*	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S	R	I	S	*	S
	EEB (2)	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	R	*	S	S	I	S	S	R	S	R	S	R	*	S
	STA (1)	R	S	R	S	*	R	R	S	S	R	S	S	*	S	R	I	R	S	R	R	R	S	S	R	I	S	*	S
	STA (2)	R	S	*	S	*	R	R	R	S	R	R	I	*	I	*	*	R	*	*	R	R	*	*	R	*	*	*	*
	SET (1)	R	R	I	S	R	R	R	*	*	R	*	*	*	*	R	R	*	R	R	R	R	R	R	R	R	R	*	I
	SET (2)	S	R	S	S	I	*	S	R	*	R	*	*	R	*	S	R	*	*	S	*	S	R	*	R	*	*	R	*

Fonte: Autoria Própria

Abreviações: ETE = Estação de Tratamento de Esgoto; EEB = Entrada Esgoto Bruto; SLF = Saída da Lagoa Facultativa; STA = Saída do Tanque de Aeração; SET = Saída do Esgoto Tratado; p = penicilina; s = estreptomicina; rd = rifampicina; sxt = sulfametoxazol/trimetoprima; e = eritromicina; tec = teicoplanina; va = vancomicina; cro = ceftriaxona; tob = tobramicina; ox = oxacilina; f = nitrofurantoína; w = trimetoprima; pb = polimixina B; tim = ticarcilina/ácido clavulânico, * = Não Realizado.

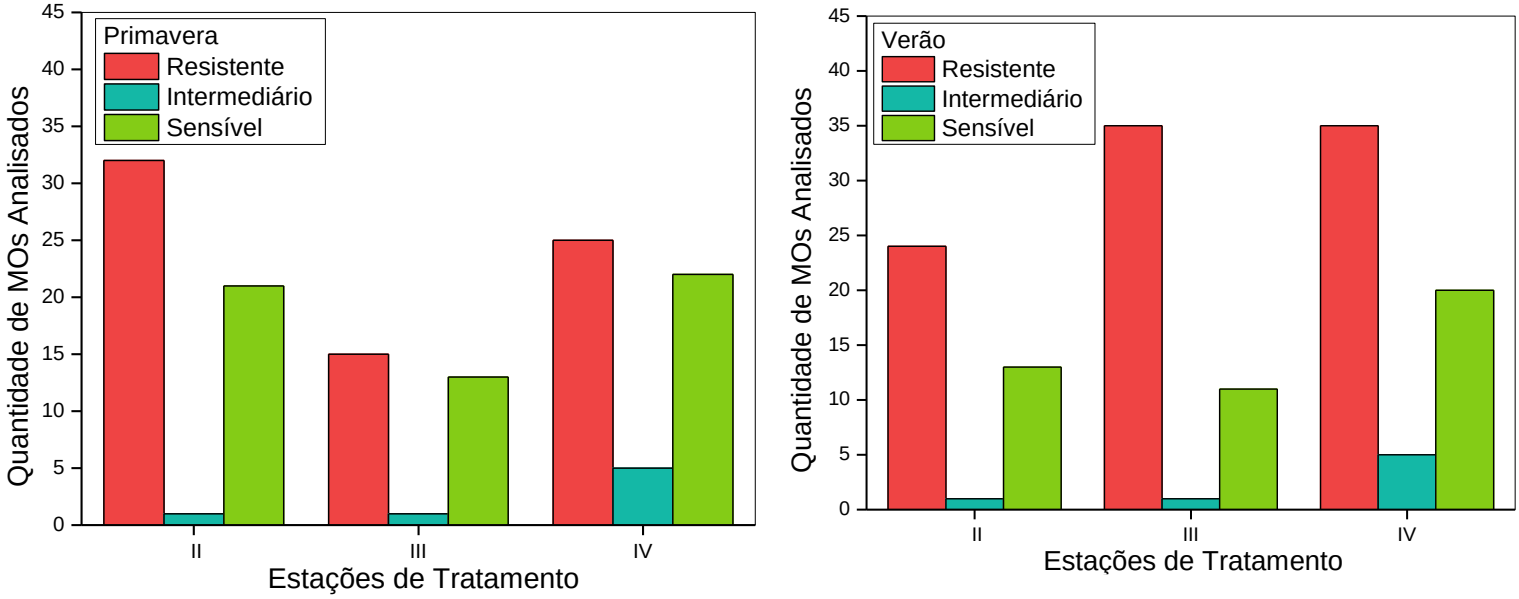
Os resultados apresentados na Tabela 15 da avaliação da suscetibilidade antimicrobiana estão expressos nas Figuras 27 e 28, para as coletas realizadas na estação do Outono e Inverno, de 2022 e Primavera de 2022 e Verão de 2023, respectivamente.

Figura 27: Avaliação da suscetibilidade antimicrobiana da coleta do Outono e Inverno de 2022



Fonte: Autoria Própria

Figura 28: Avaliação da suscetibilidade antimicrobiana da coleta da Primavera de 2022 e Verão de 2023



Fonte: Autoria Própria

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 15 em conjuntos com as Figuras 27 e 28, foi possível notar que para a estação do outono foram realizadas 171 análises

de AST. Dessas, 55, 65 e 51 corresponderam as análises dos antibióticos para ETE II, III e IV, respectivamente. Na ETE II, foram identificados 23 fenótipos resistentes e 32 sensíveis. Para a ETE III, foram detectados 35 fenótipos resistentes, 1 intermediário e 29 sensíveis e na ETE IV foram constatado 29 fenótipos resistentes, 3 intermediários e 19 sensíveis. Foram realizados 112 testes, nas coletas realizadas no inverno, sendo que 48 AST foram testados para a ETE II, 37 para a ETE III e 55 para a ETE IV. Na ETE II, 20 foram identificados como resistentes e 28 sensíveis. Para ETE III, 20 apresentaram fenótipo de resistência, 1 intermediário e 16 sensíveis e para ETE IV, 28 são fenótipos resistentes e 27 sensíveis. A porcentagem de resistência em conjunto com os fenótipos intermediários encontrada nas ETEs que recebem os resíduos hospitalares (III e IV) se mostram maiores, quando são comparadas a ETE II para o outono e o inverno.

Na estação da primavera, foram realizados 135 análises de antibiograma, sendo 54 para a ETE II, 29 para a ETE III e 52 para ETE IV. Para ETE II, foram registrados 32 fenótipos resistentes, 1 intermediário e 21 sensíveis. Já a ETE III, apresentou 15 resistentes, 1 intermediário e 13 sensíveis. E na ETE IV, foi detectado 25 resistentes, 5 intermediários e 22 sensíveis. Diferente dos dados apresentados no outono e no inverno, os resultados em relação a resistência microbiana foi parecida nas três ETEs, todas apresentando taxas de resistência com maior de 50%. Para o verão foram avaliados 145 interações entre os antibióticos com os MOs, sendo 38 da ETE II, no qual se obteve 24 fenótipos resistentes, 1 intermediário e 13 sensíveis. Na ETE III, foram avaliadas 47 interações, nas quais foram detectados 35 fenótipos resistentes, 1 intermediário e 11 sensíveis. E para a ETE IV foram avaliadas 60 interações, sendo 35 fenótipos resistentes, 5 intermediários e 20 sensíveis. Nas coletas do verão, apesar de todas as ETEs apresentarem valores de resistência superior a 60%, as ETEs III e IV apresentaram porcentagens maiores quando comparadas com a ETE II.

Com esses resultados, é possível concluir que as ETEs que estão diretamente ligadas ao recebimento das águas residuárias provenientes do Hospital de Câncer de Barretos apresentam porcentagens maiores para fenótipos resistentes de MOs, em contrapartida com a ETE II, que recebe apenas os AFU. Esses resultados podem ser comparados com os propostos na revisão de HASSOUN-KHEIR , na qual foi apresentada uma comparativa entre a resistência dos MOs provenientes de AFU e AFHU, e foi demonstrado frequências mais altas de resistência em águas residuais hospitalares do que em urbanas.

4.3.3. Avaliação dos Antibióticos

Conforme apresentado na Tabela 16, está apresentado a soma dos MOs resistentes e sensíveis, dividido conforme as estações do ano e as ETEs, com objetivo de avaliar qual(is) foram os antibióticos com maiores níveis de capacidade de resistência e qual(is) apresentaram maior sensibilidade na relação MOs com o medicamento avaliado.

Tabela 16: Avaliação dos Antibióticos em Resistência e Sensibilidade para as estações do Outono, Inverno Primavera de 2022 e Verão de 2023 em relação as ETEs II, III e IV conforme a soma dos MOs

		Resistencia														Sensibilidade											
Estações do Ano	ETE	p	s	rd	sxt	e	tec	va	cro	tob	ox	f	w	pb	tim	p	s	rd	sxt	e	tec	va	cro	tob	ox	f	w	pb	tim
Outono	II	5	0	2	0	2	4	4	0	0	5	0	1	0	0	0	2	0	4	1	1	1	5	5	1	3	3	1	5
	III	4	3	1	2	2	5	5	1	0	4	3	3	0	2	1	2	1	4	1	1	1	4	5	1	2	2	0	4
	IV	3	1	1	1	2	4	5	2	0	6	1	2	0	1	1	2	0	1	1	0	1	3	4	0	2	1	1	2
Inverno	II	3	0	0	0	1	4	4	1	0	6	0	1	0	0	0	4	0	4	0	0	0	4	4	0	4	4	0	4
	III	3	0	0	0	2	3	3	0	0	5	2	1	1	0	1	2	0	3	0	0	1	3	2	0	0	2	0	2
	IV	5	2	1	0	4	4	4	1	0	6	0	1	0	0	0	3	0	4	0	0	0	4	4	0	4	4	0	4
Primavera	II	4	0	4	2	3	4	4	1	0	5	1	3	0	1	1	2	0	3	1	0	1	3	3	0	2	2	0	3
	III	2	1	1	0	1	2	2	1	0	5	0	0	0	0	2	0	1	2	1	0	2	1	1	0	1	1	0	1
	IV	4	2	1	0	1	4	3	2	0	5	2	0	1	0	1	2	2	5	1	0	2	2	3	0	1	1	0	2
Verão	II	3	1	0	1	2	4	3	0	0	4	1	2	2	1	0	0	0	3	0	0	0	2	3	1	1	1	0	2
	III	4	2	2	4	5	2	2	3	1	6	0	2	2	0	1	0	0	1	1	0	3	1	1	0	1	1	0	1
	IV	4	2	3	1	3	4	4	3	1	6	1	2	1	0	1	0	1	3	1	1	2	2	3	0	1	2	0	3

Fonte: Autoria Própria

Abreviações: ETE = Estação de Tratamento de Esgoto; p = penicilina; s = estreptomicina; rd = rifampicina; sxt = sulfametoxazol/trimetoprima; e = eritromicina; tec = teicoplanina; va = vancomicina; cro = ceftriaxona; tob = tobramicina; ox = oxacilina; f = nitrofurantoína; w = trimetoprima; pb = polimixina B; tim = ticarcilina/ácido clavulânico

Os resultados apresentados na Tabela 16, mostram que os antibióticos que apresentaram maiores níveis de resistência na relação MO com o medicamento foram: Penicilina, Oxacilina e Teicoplanina e os que apresentarem maiores níveis de sensibilidade foram: Ceftriaxona, Tobramicina, Sulfametoxazol/ Trimetoprima.

4.4. Estatística

O ANEXO F, apresenta os resultados obtidos por meio da ANOVA com a intenção de realizar uma comparativa entre os anos de 2019,2020 e 2021. O teste utiliza a terminologia “a”, “b” e “c” para indicar as diferenças e similaridades entre as variáveis, ou seja, se uma variável contém três valores estabelecidos em “abb”, por exemplo, significa que um dos

parâmetros difere dos outros dois de uma maneira significativamente maior. Da mesma forma, se o teste apresenta um resultado “aaa”, significa que não há diferença significativa entre as variáveis analisadas.

Sendo assim, analisando todos os parâmetros, foi possível perceber que há uma maior similaridade entre os resultados do que uma diferença, porém uma variável chamou atenção. O Bário aparece em maiores concentrações nas ETEs III e IV do que na estação II nos anos de 2019 (AF) e 2021 (AF e EF), isso pode ser um indicativo a respeito do lançamento de contrastes que utilizam Bário como reagente, e são aplicados diariamente em pacientes em centros hospitalares para a realização de radiografias e tomografias.

Segundo boletim divulgado pelo HA (FUNDAÇÃO PIO XII), em 2019 as radiografias e tomografias totalizaram em torno de 30 mil atendimentos, em 2020 em torno de 25 mil. Devido a pandemia do COVID-19 e a prevenção da sociedade em se manter isolado, em 2020 houve uma queda no número de atendimentos, em torno de 5 mil, o que pode ser um indicativo a respeito da diminuição de contrastes contendo Bário para o sistema de esgoto e que provavelmente voltara a subir devido a volta na normalidade dos atendimento

5. Conclusões

Com o avanço da ciência, principalmente na criação e aplicação de novos medicamentos, atrelados aos fatores sociais e econômicos, a tendência mundial é que haja um aumento no consumo de compostos farmacêuticos em unidades de atendimento de saúde. Com pouca ou quase nenhuma legislação que controle e fiscalize o lançamentos desses compostos nos sistemas de tratamento de esgoto, cresce a preocupação ambiental de como os micropoluentes emergentes podem estar interferindo ao serem despejados nas águas residuais das ETEs. Com os resultados apresentados nesse trabalho, foi observado que existe uma diferença entre as estações de tratamento que recebem os AFHU em contrapartida com a estação que recebe somente os AFU.

Em relação a análise microbiológica fenotípica e genotípica, os MOs se mostraram parecidos para os três pontos de coletas avaliados nas três estações de tratamento, além disso, um ponto extremamente importante para este trabalho, foi observar a similaridade entre as entradas dos esgotos brutos, para as três estações, ou seja, o afluente, sem nenhum pré tratamento apresenta uma diversidade similar de abundancia que foi comprovada por Análise Multivariada e pela identificação bioquímica dos MOs presentes nas amostras. Porém, mesmo que os organismos sejam parecidos, quando se analisa a AST, os indicadores para níveis resistência e intermediários para as ETEs III e IV, são maiores do que quando comparado com a ETE II. Lembrando que as estações III e IV, recebem diariamente o resíduo gerado pelo Hospital do Amor, enquanto a ETE II, recebe apenas o resíduo urbano.

Avaliando os dados físico-químicos, tanto os realizados no Laboratório Ambiental da EMBRAPA, em conjunto com as análises da biomassa pelo FTIR e composição pelo CHN,

quanto os resultados fornecidos pelo SAAEB, todos os parâmetros se mostraram parecidos e de acordo com o proposto para o funcionamento correto de um sistema de esgoto, estabelecido pela legislação ambiental. Merece destaque a PCA realizada desse conjunto de dados, que mostra que em relação as similaridades encontradas quando compara-se os PdC das estações, as entradas se mostram com maiores níveis de semelhança, do que quando comparada com outros pontos.

Finalizando, o resultado conjunto de todas as análises realizadas nessa pesquisa, mostram que apesar do afluente não sofrer alterações significativas tanto em sua composição química, quanto nos tipos de MOs encontrados, existe uma alteração em relação a resistência microbiana, mostrando que quando se tem um despejo de resíduos provenientes de um hospital, existe maiores indicares de organismos resistentes. Isto mostra um problema potencial de saúde pública, que necessita de atenção, uma vez que a utilização de fármacos, tem se tornado maior nos últimos anos, e a falta de legislação em relação ao despejo desses contaminantes ainda é escassa.

Referências

ABBASI, N. A. et al. Ecotoxicological risk assessment of environmental micropollutants. **Environmental Micropollutants: A Volume in Advances in Pollution Research**, p. 331–337, 2022.

AHANSAZAN, B et al. Activated Sludge Process Overview. **International Journal of Environmental Science and Development**, v. 5, p. 81–85, 2014.

AL-QAIM, F et al. Multi-residue analytical methodology-based liquid chromatography-time-of-flight-mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in surface water and effluents from sewage treatment plants and hospitals. **Journal of Chromatography** A, v. 1345, p. 139–153, 2014.

AQUINO, S F et al. 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

BIONDI, D.; BOBROWSKI R. Utilização de índices ecológicos para análise do tratamento paisagístico arbóreo dos parques urbanos de Curitiba – PR. Centro Científico Conhecer, v. 10, p 3017, 2014.

BOILLOT, C et al. Daily physicochemical, microbiological and ecotoxicological fluctuations of a hospital effluent according to technical and care activities. **Science of the Total Environment**, v. 403, n. 1–3, p. 113–129, 2008.

BOLZANI, H. R. et al. The effect of maintenance and operating conditions on the performance of a sewage treatment plant. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 3, p. 18695–18717, 2022.

Brasil. Ministério do Meio Ambiente (MMA). Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução CONAMA Nº 357, de 17/03/2005. 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.

Brasil. Ministério do Meio Ambiente (MMA). Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução CONAMA Nº 430, de 13/05/2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA.

BURGESS, J. E et al. Role of micronutrients in activated sludge-based biotreatment of industrial effluents. **Biotechnology Advances**. v. 17, p. 49-70, 1999.

CAPORASO, J. G et al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. SUPPL. 1, p. 4516–4522, 2011.

CARVALHO, E. V et al. Aspectos legais e toxicológicos do descarte de medicamentos. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 22, n 1-2, p. 1-8, 2009.

CHONOVA, T et al. Separate treatment of hospital and urban wastewaters: A real scale comparison of effluents and their effect on microbial communities. **Science of the Total Environment**, v. 542, p. 965–975, 2016.

CLSI. **Diagnósticos Microbiológicos Especializados**. 2022

COSTA, L. F. R. Sistema de automatização do antibiograma por disco-difusão em aplicação clínica e ambiental, 2016. Tese (Mestrado) – Curso de Engenharia Biomédica, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, 2016.

CRINI, G et al. Advantages and disadvantages of techniques used for wastewater treatment. **Environmental Chemistry Letters**, v. 17, p. 145 – 15, 2018.

CYDZIK-KWIATKOWSKA, A et al. Bacterial communities in full scale wastewater treatment systems. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, p. 1-8, 2016.

ESCHER, B. I et al. Environmental toxicology and risk assessment of pharmaceuticals from hospital wastewater. **Water Research**, v. 45, n. 1, p. 75–92, 2011.

FERNANDES, A.N et al. Estudos da aplicação da turfa para remoção de metais de efluentes contaminado. **Anais: XX ENTMME**, 2004.

FERREIRA, M. et al. Staphylococcus aureus e as infecções hospitalares – Revisão da Literatura. v. 21, n. 1, p. 32–39, 2015.

FILHO, P. A. S. Diagnóstico operacional de lagoas de estabilização. 2007. Tese (Mestrado) – Curso de Engenharia Sanitária, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal 2007.

FUNDAÇÃO PIO XII. Balanço Hospital do Amor 2019, Barretos, 2020.

FUNDAÇÃO PIO XII. Balanço Hospital do Amor 2021, Barretos, 2022.

GIORDANO, E. O. G. Tratamento e controle de efluentes industriais, Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ), 2004.

GLÖCKNER, F, O et al. 25 years of serving the community with ribosomal RNA gene reference databases and tools. **Journal of Biotechnology**, v 261, p 169-176 ,2017.

GOMES, S et al. Isolamento de bactérias produtoras de polihidroxialcanoatosa a partir de amostras de água de Bonito, MS. 73ª Reunião Anual da SBPC Microbiologia Aplicada, 2002.

HASSOUN-KHEIR, N et al. Comparison of antibiotic-resistant bacteria and antibiotic resistance genes abundance in hospital and community wastewater: A systematic review. **Science of the Total Environment**, v. 743, 2020.

HEBERER, T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. **Toxicology Letters**, v. 131, p. 5–17, 2002.

HERRERA, M.L. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. **Revista Médica del Hospital Nacional de Niños**, v. 34, supl. p. 33-41, 1999.

HOCQUET, D et al. What happens in hospitals does not stay in hospitals: antibiotic-resistant bacteria in hospital wastewater systems. **Journal of Hospital Infection,** n.93, p 395 – 402, 2016.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Panorama da cidade de Barretos no estado de São Paulo, 2022.

JELIC, A et al. Occurrence partition, and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment. **Water Research**, v. 45, n. 3, p. 1165–1176, 2011.

KHAN, A. H et al. Impact, disease outbreak and the eco-hazards associated with pharmaceutical residues: a Critical review. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 19, p. 677- 688, 2022.

KHAN, N. A et al. Hospital effluent guidelines and legislation scenario around the globe: A critical review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, 2021.

KLEIN, M. DE O et al. Detection of anti-cancer drugs and metabolites in the effluents from a large Brazilian cancer hospital and an evaluation of ecotoxicology. **Environmental Pollution**, v. 268, 2021.

KLINDWORTH, A et al. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. 1, 2013.

LOCEY, K. J.; LENNON, J. T. Scaling laws predict global microbial diversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 113, n. 21, p. 5970–5975, 2016.

MAGURRAN, A E; MCGILL, B J. Biological diversity: Frontiers in measurement and assessment. Oxford University Press, v 12, 2011.

MELO, A. S. O que ganhamos "confundindo" riqueza de espécies e equabilidade em um índice de diversidade? **Biota Neotrop**. vol. 8, no. 3, 2008.

METCALF & EDDY. Wastewater engineering: treatment, and reuse. New York: McGraw-Hill, v. 4, 1991.

MOLINARO, E. M et al Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde, v. 4. Rio de Janeiro: EPSJV, IOC, 2009.

NEW PROV Produtos para laboratório. Mini Kit NF – PROV, 2020. Disponível em: www.newprov.com.br. Acesso em 25 de agosto de 2023.

NIEMI, L et al. Assessing hospital impact on pharmaceutical levels in a rural 'source-to-sink' water system. **Science of the Total Environment**, v. 737, 2020.

NOGUEIRA, J. M. DA R.; MIGUEL, L. DE F. S. Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde [s.l.: s.n.].

NOGUERA-OVIEDO, K.; AGA, D. S. Lessons learned from more than two decades of research on emerging contaminants in the environment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 316, p. 242 – 251, 2016.

NUNES, J. A. Tratamento físico-químico de águas residuárias industriais. Editora: J. Andrade, 6ª edição, 2012.

OLIVEIRA, S. C et al. Reliability analysis of wastewater treatment plants. **Water Research**, v. 42, n. 4–5, p. 1182–1194, 2008.

PANOUILLÈRES, M. Study of the combined effects of a peracetic acid-based disinfectant and surfactants contained in hospital effluents on *Daphnia magna*. **Ecotoxicology**. p. 1–14, 2007.

PAVIA, L.D et al. Introduction to Spectroscopy. Fifth Edition, Cengage Learning, 2013.

PROBAC DO BRASIL Produtos Bacteriológicos . EPM – MILi [s.d.]. Disponível em: www.probac.com.br. Acesso em 27 de agosto de 2023.

PROBAC DO BRASIL Produtos Bacteriológicos . KIT NF II Revisão 3 [s.d.]. Disponível em: www.probac.com.br. Acesso em 27 de agosto de 2023.

QGIS Development Team, <2022>. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. http://qgiz.osgeo.org

QUOC TUC, D et al. Fate of antibiotics from hospital and domestic sources in a sewage network. **Science of the Total Environment**, v. 575, p. 758–766, 2017.

R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/

R Core Team (2023). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/

RIZZO, L et al. Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. **Science of the Total Environment**, v. 447, p. 345 – 360, 2013

SANTOS, G et al. Microbiologia de sistema de lodos ativados e sua relação com o tratamento de efluentes industriais: A experiência da Cetrel. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 14 n. 2, p. 183 – 192, 2009.

SEABY, R. M. H.; HENDERSON, P. A. SDR-IV Help Measuring and understanding biodiversity. Pisces Conservation, 2007.

SERRA, J. et al. Técnica de coloração de gram. p 1-67, 2001.

SOUZA, B. DE M et al. Operating and maintenance costs of wastewater treatment plant by anaerobic reactor and activated sludge. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 26, n. 3, p. 505–515, 2021.

SPERLING, M. V. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: Lodos Ativados. 3 ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2012.

SPERLING, M. V. Wastewater characteristics, treatment, and disposal. Biological Wastewater treatment series. Editor: IWA v. 1, 2007.

TAMBOSI, J. L et al. Recent research data on the removal of pharmaceuticals from sewage treatment plants (STP). **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 411 – 420, 2010.

THUKRAL, A. K. et al. New indices regarding the dominance and diversity of communities, derived from sample variance and standard deviation. **Heliyon**, v. 5, n. 10, 2019.

TIWARI, B et al. Future impacts and trends in treatment of hospital wastewater. **Developments in Biotechnology and Bioengineering**, p. 599–615, 2020.

TOLEDO, M. R. et al. EPM- Modificação do meio de Rugai e Araújo para a realização simultânea dos testes de produção de gás a partir da glicose, H_2S, urease e triptofano desaminase. **Rev. Microbiol**, p. 309-15, 1982.

VARELA, A. R et al. Human health implications of clinically relevant bacteria in wastewater habitats. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, p. 3550 – 3569, 2013.

VERLICCHI, P et al. Hospital effluent: Investigation of the concentrations and distribution of pharmaceuticals and environmental risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 430, p. 109–118, 2012.

VERLICCHI, P et al. What have we learned from worldwide experiences on the management and treatment of hospital effluent? An overview and a discussion on perspectives. **Science of the Total Environment**, v. 514, p. 467 – 491, 2015.

VERLICCHI, P. Trends, new insights, and perspectives in the treatment of hospital effluents. **Environmental Science and Health**, v. 19, 2021.

VON SPERLING, M. Estudos de modelagem da qualidade da água de rios. Belo Horizonte: UFMG, 2007. Vol. 7. 452 p.

WANG, J et al. Fate and proliferation of typical antibiotic resistance genes in five full-scale pharmaceutical wastewater treatment plants. **Science of the Total Environment**, v. 526, p. 366–373, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Who Report on Surveillance of Antibiotic Consumption. 2016 – 2018 early implementation. 2018

ZHANG, X et al. Physical, chemical, and biological impact (hazard) of hospital wastewater on environment: presence of pharmaceuticals, pathogens, and antibiotic-resistance genes. **Developments in Biotechnology and Bioengineering: Environmental and Health Impact of Hospital Wastewater**, p. 79–102, 2020.

ANEXO A: Valores brutos da análise elementar. Resultado expresso em (%) do C, H e N pelo Analisador Elementar

ETE	PdC	Outono				Inverno				Primavera				Verão			
		Massa (mg)	C	H	N	Massa (mg)	C	H	N	Massa (mg)	C	H	N	Massa (mg)	C	H	N
II	EEB (1)	5,11	36,14	7,03	2,30	11,20	33,66	4,32	2,58	10,31	25,61	3,61	2,29	11,37	20,62	3,52	1,57
	EEB (2)	5,41	36,72	7,17	2,61	11,10	33,96	4,69	2,43	10,73	24,97	3,28	2,21	10,50	22,32	3,76	2,21
	SLF (1)	10,00	13,49	2,11	2,14	5,67	32,17	6,04	4,50	10,51	15,59	2,32	1,50	10,54	21,21	3,15	2,73
	SLF (2)	10,20	12,99	1,97	2,04	4,69	31,04	5,53	4,39	10,76	15,55	2,33	1,52	10,68	20,56	3,13	2,45
	SET (1)	10,20	13,61	1,80	1,28	11,00	16,59	2,50	2,11	10,40	15,18	2,24	1,37	10,85	15,06	2,18	1,49
	SET (2)	10,00	13,8	1,78	1,38	10,30	16,80	2,25	1,92	10,73	15,45	2,30	1,48	11,36	14,63	2,16	1,56
III	EEB (1)	10,00	26,03	3,73	1,38	5,16	25,49	6,03	2,81	10,61	23,69	3,35	2,44	10,26	20,18	3,67	2,62
	EEB (2)	10,10	26,75	3,64	1,38	5,53	27,03	6,00	2,97	10,26	23,16	3,40	2,33	10,22	21,64	3,78	2,57
	SLF (1)	10,20	21,31	3,29	1,38	11,20	17,12	2,62	2,28	10,77	19,75	2,97	2,91	10,29	16,42	2,46	2,15
	SLF (2)	10,20	19,51	2,94	1,38	10,10	17,46	2,51	2,38	10,65	19,79	2,97	2,93	10,63	16,22	2,44	2,09
	SET (1)	10,40	16,92	2,65	1,38	10,50	17,21	2,53	2,26	10,39	20,19	3,05	3,31	11,08	16,25	2,47	2,60
	SET (2)	10,00	17,78	2,66	1,38	10,30	15,53	2,21	1,96	10,89	18,59	2,81	2,99	10,21	16,74	2,44	2,79
IV	EEB (1)	10,90	26,14	3,48	1,38	10,90	25,37	4,71	2,44	5,23	34,68	7,07	1,96	11,20	22,06	3,71	1,59
	EEB (2)	10,50	24,72	3,58	1,38	11,70	25,63	4,35	2,57	5,56	40,57	7,66	1,89	11,16	22,99	3,89	1,54
	STA (1)	11,50	24,82	3,31	1,38	11,00	21,19	3,49	3,24	10,51	28,66	3,48	5,40	10,54	20,63	3,20	3,60
	STA (2)	10,50	26,10	3,49	1,38	11,00	21,65	3,39	3,29	11,08	27,65	3,38	5,33	10,59	22,52	3,59	4,17
	SET (1)	10,50	17,88	2,91	1,38	10,50	21,64	3,43	3,45	10,65	17,51	2,80	2,39	10,53	14,70	2,27	2,40
	SET (2)	10,30	17,38	2,8	1,38	11,20	23,69	3,72	3,84	10,59	17,46	2,79	2,41	11,40	14,35	2,14	2,01

Fonte: Autoria Própria

Abreviações: : ETE = Estação de Tratamento de Esgoto; PdC = Ponto de Coleta; EEB = Entrada Esgoto Bruto; SLF = Saída da Lagoa Facultativa; STA = Saída do Tanque de Aeração; SET = Saída do Esgoto Tratado; C = Carbono; N = Nitrogênio; O = Oxigênio

ANEXO B: Taxonomia em categoria de filo expresso em porcentagem dos MOs encontrados nas ETEs II, III e IV, conforme a Análise de Biologia Molecular

Filo	EEBII	SLFII	SETII	EEBIII	SLFIII	SETIII	EEBIV	STAIV	SETIV
Acidobacteriota	0,35	0,00	0,00	0,32	0,05	0,03	0,11	0,17	0,25
Actinobacteriota	0,61	0,62	2,99	0,47	2,13	2,63	0,41	1,59	4,03
Armatimonadota	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
Bacteroidota	**20,90**	**5,98**	**17,22**	**20,78**	**4,75**	**4,83**	**21,06**	**30,54**	**22,96**
Bdellovibrionota	0,00	0,16	0,09	0,10	0,59	1,03	0,00	0,32	0,20
Caldisericota	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04
Calditrichota	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,18	0,90
Campilobacterota	**30,76**	**1,29**	**13,93**	**24,76**	**0,32**	**0,11**	**22,14**	**0,06**	**0,74**
Chloroflexi	0,00	0,37	0,34	0,00	0,14	0,16	0,00	3,06	1,51
Cyanobacteria	**0,00**	**0,04**	**0,00**	**0,00**	**39,16**	**46,90**	**0,00**	**0,00**	**0,00**
Deferribacterota	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Deinococcota	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
Desulfobacterota	2,56	1,38	1,07	1,82	0,95	0,61	0,84	0,59	0,94
Elusimicrobiota	0,09	0,02	0,02	0,12	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00
Fibrobacterota	0,06	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
Firmicutes	6,62	2,33	1,92	8,05	1,44	0,85	8,11	1,89	1,24
Fusobacteriota	1,83	0,00	0,53	2,69	0,00	0,00	4,02	0,24	0,20
Hydrogenedentes	0,00	0,12	0,03	0,00	0,03	0,12	0,00	0,08	0,04
Modulibacteria	0,10	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,02	0,05	0,00
Myxococcota	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,73	1,23
Patescibacteria	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25	0,86
Planctomycetota	0,00	0,39	0,08	0,00	0,41	0,25	0,00	0,04	0,07
Proteobacteria	**35,06**	**80,76**	**54,31**	**40,13**	**48,89**	**39,75**	**43,07**	**58,20**	**63,09**
Spirochaetota	0,00	0,47	0,08	0,03	0,20	0,02	0,00	0,09	0,00
Synergistota	0,78	4,06	1,41	0,34	0,24	0,04	0,09	0,00	0,00
Verrucomicrobiota	0,25	2,02	5,97	0,21	0,71	2,63	0,10	0,94	1,68

Fonte: NGS Soluções Genômicas

Abreviações: EEBII = Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento II ; SLFII = Saída da Lagoa Facultativa da Estação de Tratamento II; SETII = Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento II; EEBIII = Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento III V; SLFIII = Saída da Lagoa Facultativa da Estação de Tratamento III; SETIII = Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento III; EEBIV = Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento IV; STAIV = Saída do Tanque de Aeração da Estação de Tratamento IV; SETIV = Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento IV

ANEXO C: Taxonomia em categoria de gênero expresso em porcentagem dos MOs encontrados nas ETEs II, III e IV, conforme a Análise de Biologia Molecular

Gênero	EEBII	SLFII	SETII	EEBIII	SLFIII	SETIII	EEBIV	SLFIV	SETIV
Planktothrix_NIVA-CYA_15	0,00	0,00	0,00	0,00	39,16	46,54	0,00	0,00	0,00
Rhodocyclaceae	1,79	1,58	3,25	2,10	13,82	12,56	1,34	2,76	8,39
Novosphingobium	0,00	2,97	1,47	0,00	7,68	4,95	0,00	7,38	5,16
Methylocystis	0,00	2,63	5,80	0,00	4,64	4,93	0,00	0,00	0,00
Alcaligenaceae	0,00	2,65	5,47	0,00	2,19	2,28	0,00	0,12	0,67
Thiolamprovum	0,00	0,00	0,00	0,00	4,33	2,21	0,00	0,00	0,00
Comamonadaceae	1,04	1,81	1,51	1,02	1,70	2,12	0,83	11,01	8,80
Methylococcaceae	0,00	0,04	0,07	0,00	1,91	1,92	0,00	0,00	0,00
Aeromicrobium	0,00	0,00	0,83	0,00	0,95	1,31	0,00	0,00	0,00
Chromatiaceae	0,00	30,48	0,35	0,00	0,69	1,18	0,00	0,00	0,00
Methyloparacoccus	0,00	0,86	1,48	0,00	1,15	1,11	0,00	0,00	0,00
LD29	0,00	1,38	4,33	0,00	0,20	0,97	0,00	0,00	0,00
Bdellovibrio	0,00	0,08	0,03	0,00	0,55	0,91	0,00	0,32	0,16
Rhizobiales_Incertae_Sedis	0,00	0,76	0,40	0,00	0,83	0,80	0,00	1,16	1,46
Luteolibacter	0,00	0,07	1,10	0,00	0,21	0,80	0,00	0,00	0,09
Sediminibacterium	0,00	0,26	2,49	0,00	0,53	0,69	0,00	0,13	0,21
Rhodanobacteraceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	0,55	0,00	0,08	0,05
Methylophilaceae	0,00	0,20	0,38	0,00	0,36	0,52	0,00	0,00	0,00
Rikenellaceae	0,80	1,42	0,73	0,61	0,72	0,50	0,20	0,07	0,06
Hungateiclostridiaceae	0,00	0,00	0,11	0,00	0,70	0,49	0,00	0,00	0,00
Alsobacter	0,00	0,47	0,51	0,00	0,44	0,48	0,00	0,00	0,04
Balneolaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28	0,45	0,00	0,00	0,00
Candidatus_Competibacter	0,00	0,00	0,02	0,02	0,43	0,42	0,00	1,33	0,26
Flavobacterium	0,05	0,02	0,77	0,06	0,18	0,42	0,05	1,16	1,43
Desulfomicrobium	0,53	0,11	0,14	0,32	0,49	0,41	0,24	0,16	0,31
Ramlibacter	0,00	0,00	0,16	0,00	0,20	0,36	0,00	0,06	0,00
Cyanobium_PCC-6307	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,36	0,00	0,00	0,00
hgcI_clade	0,00	0,00	0,60	0,00	0,12	0,34	0,00	0,00	0,12
Mycobacterium	0,04	0,07	0,00	0,06	0,42	0,32	0,00	0,74	3,40
env.OPS_17	0,00	0,03	0,00	0,00	0,10	0,31	0,00	0,02	0,17
Hydrogenophaga	0,00	0,65	0,93	0,00	0,55	0,27	0,00	0,00	0,00
Pedobacter	0,00	0,13	0,38	0,00	0,10	0,26	0,00	0,00	0,34
Lentimicrobium	0,32	0,51	0,30	0,34	0,21	0,25	0,12	0,00	0,00
Acidovorax	1,35	0,69	2,43	3,68	0,30	0,23	2,77	0,86	0,57
Arenimonas	0,00	0,07	0,07	0,00	0,16	0,23	0,00	0,00	0,00
Lentimicrobiaceae	0,00	0,02	0,00	0,00	0,22	0,22	0,00	6,94	7,77
Candidatus_Aquiluna	0,00	0,00	0,21	0,00	0,13	0,22	0,00	0,00	0,00
Acidibacter	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,22	0,00	0,07	0,11
Isosphaeraceae	0,00	0,39	0,08	0,00	0,34	0,22	0,00	0,00	0,04
CL500-29_marine_group	0,00	0,00	0,25	0,00	0,21	0,21	0,00	0,00	0,00
Chitinophagaceae	0,00	0,08	0,42	0,00	0,17	0,21	0,00	0,09	0,21
Roseomonas	0,00	0,41	0,29	0,02	0,20	0,20	0,00	0,12	0,23
Prosthecobacter	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,18	0,00	0,00	0,00
Aeromonas	2,83	0,30	2,41	1,95	0,23	0,15	4,37	0,34	0,43
MWH-UniP1_aquatic_group	0,00	0,08	0,58	0,00	0,20	0,15	0,00	0,00	0,00
Algoriphagus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00

Beijerinckiaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,15	0,00	2,44	1,10
Pedosphaeraceae SH3-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,15	0,00	0,00	0,00
Rhodobacteraceae	0,00	0,12	0,26	0,00	1,23	0,15	0,00	0,00	0,00
67-14	0,00	0,03	0,05	0,00	0,12	0,14	0,00	0,00	0,00
Phenylobacterium	0,00	0,00	0,06	0,00	0,23	0,14	0,00	0,63	0,70
Pedosphaeraceae	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00	0,14	0,00	0,00	0,22
NS11-12_marine_group	0,00	0,19	0,24	0,00	0,04	0,13	0,00	0,00	0,02
Lautropia	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,13	0,00	0,35	0,12
Sphingobacteriaceae	0,00	0,00	0,23	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00
Fluviicola	0,00	0,79	0,46	0,00	0,27	0,13	0,00	0,00	0,00
Thauera	0,21	4,42	1,88	0,19	1,20	0,12	0,18	0,01	0,03
Macromonas	0,10	0,16	0,00	0,21	0,30	0,12	0,09	0,00	0,00
Ignavibacterium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,12	0,00	0,03	0,00
Hydrogenedensaceae	0,00	0,12	0,03	0,00	0,03	0,12	0,00	0,08	0,04
Oxalobacteraceae	0,00	0,10	0,09	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00
Terronas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,12	0,00	0,18	0,31
Lacunisphaera	0,05	0,00	0,03	0,11	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00
Verrucomicrobiaceae	0,00	0,23	0,36	0,00	0,06	0,12	0,00	0,73	0,93
Azospirillaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,11	0,00	0,00	0,00
Cloacibacterium	5,76	0,23	5,42	7,06	0,41	0,11	10,85	3,05	2,30
Aquabacterium	0,28	0,32	0,59	0,28	0,22	0,11	0,17	0,00	0,00
Caldilineaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,11	0,00	0,09	0,00
Desulfocapsaceae	0,00	0,00	0,06	0,00	0,07	0,11	0,00	0,00	0,00
BSV13	0,47	0,05	0,12	0,37	0,06	0,11	0,17	0,34	0,31
Terrimicrobium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00
Caulobacteraceae	0,00	0,77	0,09	0,00	0,16	0,10	0,00	0,96	0,83
Phaeodactylibacter	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,10	0,00	0,00	0,00
Polynucleobacter	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,13
GKS98_freshwater_group	0,00	0,00	0,12	0,00	0,05	0,09	0,00	0,00	0,00
Dechlorosoma	0,00	16,97	0,17	0,00	1,50	0,08	0,00	0,00	0,00
IMCC26207	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00
GWF2-29-10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,08	0,00	0,00	0,00
Paludibacter	1,26	0,20	0,47	1,05	0,21	0,08	0,51	5,70	1,56
Pseudomonas	0,74	3,44	1,28	0,96	0,18	0,08	0,74	0,00	0,17
Peredibacter	0,00	0,09	0,06	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00
Arcobacter	26,81	1,23	12,70	21,63	0,25	0,07	20,01	0,04	0,60
Sporomusaceae	0,09	0,39	0,12	0,00	0,09	0,07	0,00	0,00	0,00
SM2D12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00
Romboutsia	0,11	0,27	0,12	0,06	0,05	0,06	0,08	0,18	0,16
Aquaspirillum	0,86	0,73	0,80	1,24	0,06	0,06	0,52	0,00	0,18
WCHB1-32	0,00	0,04	0,04	0,09	0,05	0,06	0,00	0,00	0,00
Desulfitobacteriales_fa	0,00	0,00	0,06	0,00	0,04	0,06	0,00	0,00	0,00
Fusibacter	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00
Christensenellaceae_R-7_group	0,03	0,39	0,38	0,03	0,05	0,05	0,04	0,08	0,05
Desulfomonile	0,00	0,36	0,47	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00
Micropepsaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00
Dinghuibacter	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00
Aquimonas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00
Synergistaceae	0,75	2,04	1,18	0,34	0,24	0,04	0,09	0,00	0,00
Macellibacteroides	3,47	0,40	1,30	2,94	0,19	0,04	3,12	1,13	0,79
Anaerospora	0,14	0,00	0,00	0,07	0,11	0,04	0,00	0,00	0,00
#N/D	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,18	0,05
Silvanigrellaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00
Desulfobulbus	0,57	0,18	0,16	0,38	0,19	0,04	0,00	0,06	0,11

Sulfurospirillum	1,94	0,00	0,38	1,55	0,07	0,04	1,23	0,02	0,08
Candidatus_Megaira	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,02
Pirellula	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00
Anaerocella	0,07	0,00	0,00	0,05	0,07	0,03	0,00	0,00	0,00
Paludibaculum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,03	0,00	0,06	0,08
Clostridium_sensu_stricto_1	0,00	0,18	0,00	0,15	0,02	0,03	0,13	0,13	0,00
Anaerolinea	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,13	0,00
Bact-08	0,07	0,24	0,07	0,10	0,07	0,02	0,00	0,00	0,00
Fimbriimonadaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
Meiothermus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
Roseiflexaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
M2PB4-65_termite_group	0,00	0,03	0,04	0,00	0,05	0,02	0,00	0,00	0,00
Leptospira	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,02	0,00	0,00	0,00
Moraxellaceae	0,02	0,05	0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,02	0,04
Halomonadaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00
Cyclobacteriaceae	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
Brevifollis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Acinetobacter	2,40	0,22	7,32	3,36	0,25	0,00	4,27	0,60	0,47
Tolumonas	6,18	0,72	1,97	6,76	0,24	0,00	7,65	1,03	0,58
Paludibacteraceae	1,54	0,41	0,26	1,32	0,17	0,00	0,38	0,10	0,00
Microbacteriaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,33
Spirochaetaceae	0,00	0,06	0,00	0,03	0,15	0,00	0,00	0,04	0,00
Desulfovibrio	1,01	0,23	0,23	0,94	0,12	0,00	0,47	0,21	0,21
Rivicola	4,76	0,59	3,63	5,21	0,11	0,00	8,62	0,20	0,78
Curvibacter	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00
Methylotenera	0,00	0,28	0,11	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00
Desulforegula	0,32	0,29	0,01	0,07	0,09	0,00	0,05	0,00	0,10
Reyranella	0,00	0,59	0,12	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00
Phycisphaeraceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00
NK4A214_group	0,00	0,16	0,06	0,08	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00
Escherichia/Shigella	0,20	0,06	0,08	0,26	0,06	0,00	0,36	0,00	0,05
Saprospiraceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	3,64	1,64
FTLpost3	0,00	0,09	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	2,17	0,71
Erysipelatoclostridiaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00
Pseudohongiella	0,00	0,00	0,06	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00
Streptococcus	1,63	0,07	0,23	2,92	0,04	0,00	3,31	1,07	0,53
Barnesiellaceae	0,00	0,00	0,04	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
Chitinophagales	0,00	0,04	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
Bacteroides	3,75	0,25	1,07	2,75	0,04	0,00	2,63	0,14	0,37
Bacteriovorax	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,04
Erysipelothrix	0,00	0,00	0,11	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
Megamonas	0,52	0,16	0,00	0,32	0,03	0,00	0,37	0,03	0,06
Aurantimicrobium	0,00	0,00	0,18	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00
MSB-3C8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,24	0,12
Anaerofilum	0,03	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00
Blautia	0,49	0,00	0,08	0,54	0,03	0,00	0,69	0,08	0,17
Prosthecomicrobium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,02	0,06
Enterobacteriaceae	0,59	0,18	0,53	0,62	0,02	0,00	0,40	0,16	0,10
Eubacteriaceae	0,80	0,42	0,08	0,28	0,02	0,00	0,26	0,13	0,07
Megasphaera	0,35	0,00	0,00	0,27	0,02	0,00	0,40	0,04	0,04
Anaerosinus	0,16	0,00	0,04	0,20	0,02	0,00	0,14	0,00	0,03
Lactococcus	0,00	0,00	0,11	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
Prolixibacteraceae	0,00	0,05	0,05	0,00	0,01	0,00	0,00	1,94	1,70
Orrella	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Zoogloea	2,99	0,12	2,00	3,09	0,00	0,00	1,72	0,05	0,49
Prevotella	1,32	0,00	0,76	1,66	0,00	0,00	1,63	0,23	0,38
Pseudarcobacter	1,60	0,06	0,63	1,49	0,00	0,00	0,90	0,00	0,05
Leptotrichiaceae	0,64	0,00	0,10	1,33	0,00	0,00	1,07	0,12	0,10
Comamonas	0,99	0,16	1,20	1,19	0,00	0,00	1,23	0,29	0,21
Propionivibrio	1,32	0,10	0,37	1,07	0,00	0,00	0,87	0,00	0,00
Acetobacteroides	0,63	0,00	0,28	0,96	0,00	0,00	0,74	0,04	0,00
Dechloromonas	0,35	0,00	0,18	0,90	0,00	0,00	0,43	0,16	0,65
Aeromonadaceae	1,69	0,06	0,69	0,82	0,00	0,00	1,97	0,16	0,09
Hypnocyclicus	0,82	0,00	0,40	0,80	0,00	0,00	2,43	0,00	0,10
Enhydrobacter	0,29	0,00	0,11	0,78	0,00	0,00	0,46	0,23	0,08
Actinobacillus	0,62	0,00	0,32	0,72	0,00	0,00	1,03	0,08	0,00
Leptotrichia	0,30	0,00	0,03	0,47	0,00	0,00	0,44	0,12	0,00
Veillonella	0,10	0,00	0,06	0,45	0,00	0,00	0,21	0,07	0,00
Faecalibacterium	0,24	0,00	0,00	0,41	0,00	0,00	0,50	0,00	0,00
Conchiformibius	0,22	0,00	0,12	0,34	0,00	0,00	0,28	0,11	0,00
Parabacteroides	0,25	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00
Formivibrio	0,33	0,00	0,02	0,30	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00
Burkholderiales	0,14	0,00	0,13	0,30	0,00	0,00	0,20	0,17	0,10
Agathobacter	0,25	0,10	0,00	0,29	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00
Lactobacillus	0,00	0,00	0,00	0,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Neisseriaceae	0,09	0,00	0,00	0,28	0,00	0,00	0,12	0,11	0,07
Enterobacter	0,00	0,00	0,14	0,25	0,00	0,00	0,30	0,00	0,00
Pseudomonadaceae	0,45	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00
Blvii28_wastewater-sludge_group	0,32	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,08	0,12	0,09
Laribacter	0,28	0,02	0,22	0,23	0,00	0,00	0,31	0,04	0,00
Acidaminococcaceae	0,08	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00	0,09	0,00	0,02
Brachymonas	0,03	0,00	0,03	0,20	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00
Pasteurellaceae	0,11	0,00	0,06	0,19	0,00	0,00	0,18	0,02	0,05
Subdoligranulum	0,18	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,17	0,00	0,07
Holophaga	0,35	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Williamwhitmania	0,00	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Dechlorobacter	0,31	0,00	0,11	0,15	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00
Holophagaceae	0,00	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,11	0,07	0,11
Anaerovibrio	0,13	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00
Anaeromusa-Anaeroarcus	0,09	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Azospira	0,10	0,00	0,03	0,14	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00
Dialister	0,15	0,00	0,00	0,14	0,00	0,00	0,22	0,00	0,00
Succinivibrio	0,18	0,00	0,00	0,14	0,00	0,00	0,21	0,00	0,00
Phascolarctobacterium	0,07	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00	0,14	0,00	0,00
Bifidobacterium	0,18	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00	0,16	0,08	0,07
Magnetospirillum	0,19	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Elusimicrobium	0,09	0,00	0,02	0,12	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00
Fusicatenibacter	0,11	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00
Prevotellaceae	0,18	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00
Ruminococcus	0,06	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,06	0,03	0,00
Uliginosibacterium	0,06	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Bacteriovoracaceae	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Opitutaceae	0,11	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00
Marinilabiliaceae	0,03	0,08	0,00	0,10	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00
UCG-002	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00
Collinsella	0,10	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,14	0,00	0,04
Pleomorphomonas	0,10	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00
Acetoanaerobium	0,15	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00

Dysgonomonas	0,06	0,00	0,04	0,09	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00
Fibrobacter	0,06	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Actinomycetaceae	0,14	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,09	0,10	0,00
Holdemanella	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00
Geobacteraceae	0,00	0,13	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,09	0,14
Sulfuricurvum	0,12	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Insolitispirillum	0,06	0,00	0,04	0,08	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00
Thiothrix	0,51	0,00	0,18	0,08	0,00	0,00	0,07	0,16	0,07
Alloprevotella	0,18	0,00	0,03	0,07	0,00	0,00	0,08	0,00	0,02
Xanthomonadaceae	0,04	0,00	0,09	0,07	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00
Sphaerotilus	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,06	0,15
Catenibacterium	0,13	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,12	0,04	0,03
Candidatus_Moduliflexus	0,10	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,02	0,05	0,00
Atopobium	0,06	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Vogesella	0,01	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mitsuokella	0,11	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00
Ottowia	0,03	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,10	2,52	1,83
Moraxella	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00
Muribaculaceae	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Novispirillum	0,03	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00
ST-12K33	0,07	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,08	0,04	0,06
Fusobacterium	0,08	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
KD1-131	0,07	0,00	0,07	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Weeksellaceae	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
dgA-11_gut_group	0,13	0,05	0,00	0,05	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00
Alistipes	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Dorea	0,06	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00
Sebaldella	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00
Rhodospirillaceae	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Actinomyces	0,08	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00
Chryseobacterium	0,02	0,00	0,02	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Oscillospiraceae	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Desulfovibrionaceae	0,00	0,05	0,00	0,02	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00
Monoglobus	0,03	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00
Fibrobacteraceae	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
Roseimarinus	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00
Acidaminococcus	0,01	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Lachnospiraceae_ND3007_group	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sutterella	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Wolinella	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Desulfobulbaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Selenomonas	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00
Klebsiella	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00
Enterococcus	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00
Akkermansia	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00
Diaphorobacter	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00
Rahnella1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00
Lachnospira	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00
Geobacter	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00
Pectinatus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00
Parasutterella	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00
Paenirhodobacter	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00
Plasticicumulans	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00
Pleomorphomonadaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	10,99	18,92

Anaerolineaceae	0,00	0,32	0,34	0,00	0,00	0,00	0,00	2,69	1,26
Hyphomicrobium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,55	1,12
Thermomonas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,33	1,58
Alkanindiges	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	2,06	1,45
Bacteroidetes_vadinHA17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,50	1,42
BD1-7_clade	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,19	1,54
Calditrichaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,18	0,90
Xanthobacteraceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,85	0,78
Niabella	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,78	0,17
Hyphomicrobiaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,52	0,14
Sandaracinaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,51	0,98
Steroidobacteraceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,46	0,38
Dietzia	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	0,07
Piscinibacter	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29	0,31
Saccharimonadaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25	0,86
Tetrasphaera	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25	0,00
SB-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,10
Rhizorhapis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,21
Phaselicystis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,14
Ellin6067	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,08
Taibaiella	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,09
OLB8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,06
Defluviimonas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,11
Sulfuritalea	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,19
Leptolinea	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,18
Sphingomonadaceae	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,06
Marmoricola	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00
Ferruginibacter	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,04
Rhodobacter	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,34
Citrifermentans	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,07
PHOS-HE36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,06
Sphingobium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,02
A4b	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,07
Alicycliphilus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00
Treponema	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00
Alkaliflexus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00
Candidatus_Omnitrophus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,13
Runella	0,00	0,11	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,07
Thermoanaerobaculum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,06
AAP99	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,05
Pirellulaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,02
Lacihabitans	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,10
Anaerostipes	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00
Myxococcaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,03
Luteimonas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00
Nocardioides	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00
Limnobacter	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00
Vicinamibacteraceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00
Rubinisphaeraceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00
Anaeromyxobacter	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00
Erysipelotrichaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Fluviicoccus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29
ADurb.Bin118	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14
Ahniella	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12

Cephaloticoccus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11
Emticicia	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09
Rhizobiaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07
Edaphobaculum	0,00	0,00	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06
Haliangium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06
Caldisericum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04
SR-FBR-L83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03
Aurantisolimonas	0,00	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03
BSV40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
AKYH767	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
BSV26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
Chitinivorax	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
Pajaroellobacter	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
Pedosphaeraceae_Ellin516	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
Spirosomaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Nitrosococcaceae	0,00	2,66	0,56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Syner-01	0,00	1,54	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Pararhodospirillum	0,00	0,59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
RBG-16-49-21	0,00	0,40	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Leucobacter	0,00	0,32	0,86	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Lactivibrio	0,04	0,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Allochromatium	0,00	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Acetobacteraceae	0,00	0,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Candidatus_Xiphinematobacter	0,00	0,18	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Microtrichaceae	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Thermovirga	0,00	0,16	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Microvirga	0,00	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Anaerovoracaceae	0,00	0,13	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Candidatus_Protochlamydia	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Porphyrobacter	0,00	0,08	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Chlorobium	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Flexilinea	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Aminiphilus	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Limnothrix	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ADurb.Bin063-1	0,02	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Dyadobacter	0,00	0,03	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Eubacterium	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
DMER64	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Parapusillimonas	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Syntrophorhabdus	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Endomicrobium	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Streptococcaceae	0,03	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Exiguobacterium	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Arcobacteraceae	0,29	0,00	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Trichlorobacter	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Prevotellaceae_UCG-001	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Beggiatoa	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Anaerosporomusa	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
UBA1819	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Succinispira	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Deferribacteraceae	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Propioniciclava	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Thiomonas	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Erysipelotrichaceae_UCG-003	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Prevotellaceae_UCG-004	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Alishewanella	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Anaerovorax	0,00	0,00	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Blastocatellaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Butyricicoccus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Camelimonas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Desulfarculaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Elizabethkingia	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Fretibacterium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Gallicola	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IMCC26134	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
JGI-0000079-D21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Magnetospirillaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Methylomonadaceae	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Methylomonas	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Paludibacterium	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Pseudarcicella	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rheinheimera	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S50_wastewater-sludge_group	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Selenomonadaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Silanimonas	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Solitalea	0,00	0,00	0,34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sphingoaurantiacus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sporichthyaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Stenotrophomonas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Tabrizicola	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Tannerellaceae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Thiovirga	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Veillonellaceae	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Fonte: NGS Soluções Genômicas

Abreviações: EEBII = Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento II ; SLFII = Saída da Lagoa Facultativa da Estação de Tratamento II; SETII = Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento II; EEBIII = Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento III V; SLFIII = Saída da Lagoa Facultativa da Estação de Tratamento III; SETIII = Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento III; EEBIV = Entrada Esgoto Bruto da Estação de Tratamento IV; STAIV = Saída do Tanque de Aeração da Estação de Tratamento IV; SETIV = Saída do Esgoto Tratado da Estação de Tratamento IV

ANEXO D : Halo de inibição expresso em mm para a ETE II, III e IV de acordo com o PdC, realizadas para o Outono, Inverno e Primavera de 2022 e Verão de 2023

ETE	PdC	Halo de Inibição (mm)																											
		Outono														Inverno													
		p	s	rd	sxt	e	tec	va	cro	tob	ox	f	w	pb	tim	p	s	rd	sxt	e	tec	va	cro	tob	ox	f	w	pb	tim
II	EEB (1)	0	17	7	33	8	0	0	35	29	0	24	34	19	32	10	19	12	34	12	0	0	34	29	0	20	30	18	29
	EEB (2)	13	17	17	18	30	19	18	11	21	0	19	0	0	15	25	30	21	22	40	37	19	30	17	0	8	19	13	34
	SLF (1)	0	17	0	28	0	0	0	33	29	0	23	31	19	33	13	28	17	22	33	21	20	0	27	0	20	0	10	13
	SLF (2)	0	15	8	30	8	0	0	35	27	0	20	30	18	30	0	20	17	32	11	0	0	34	29	0	34	30	18	27
	SET (1)	0	18	0	30	38	23	22	35	23	28	31	36	10	29	0	20	19	34	0	0	0	32	28	0	18	28	14	30
	SET (2)	0	16	6	32	0	0	0	32	23	0	18	27	17	28	0	20	18	35	15	0	0	34	26	0	19	32	16	30
III	EEB (1)	0	15	7	38	11	0	0	34	29	0	19	33	18	30	0	19	6	33	0	0	0	37	27	0	14	27	17	23
	EEB (2)	0	0	11	18	8	0	0	0	39	10	0	0	23	0	30	15	27	20	20	22	30	32	30	0	30	9	17	40
	SLF (1)	12	28	15	33	17	0	0	31	25	0	0	0	18	38	43	18	25	49	40	23	24	23	37	18	24	49	20	50
	SLF (2)	0	0	0	0	0	0	0	30	40	0	0	13	25	38	0	19	15	38	0	0	0	40	29	0	13	33	0	32
	SET (1)	35	25	46	38	40	29	27	36	29	30	22	40	15	40	0	17	20	37	24	0	0	39	24	0	25	30	15	7
	SET (2)	0	0	10	0	0	0	0	13	28	0	0	0	19	0	15	22	18	11	32	21	20	12	21	0	19	0	9	14
IV	EEB (1)	0	0	8	36	10	0	0	17	15	0	32	36	23	0	0	24	17	23	32	21	20	14	22	0	18	0	8	15
	EEB (2)	25	6	40	32	35	31	27	0	28	0	21	40	0	33	0	17	9	34	0	0	0	35	25	0	22	30	11	26
	STA (1)	0	22	0	29	10	0	0	34	24	0	13	32	21	29	30	0	40	35	35	20	22	0	25	0	24	40	10	38
	STA (2)	0	21	9	15	8	0	0	35	28	0	27	0	18	18	0	20	0	38	0	0	0	34	30	0	23	33	23	33
	SET (1)	20	21	20	0	0	7	0	24	38	0	12	0	20	31	0	7	18	36	0	0	0	36	28	0	24	35	20	23
	SET (2)	19	28	18	34	0	0	0	27	37	0	0	14	23	36	0	17	18	30	0	0	0	33	27	0	23	29	17	30

ETE	PdC	Primavera														Verão													
		p	s	rd	sxt	e	tec	va	cro	tob	ox	f	w	pb	tim	p	s	rd	sxt	e	tec	va	cro	tob	ox	f	w	pb	tim
II	EEB (1)	0	18	0	30	8	0	0	33	26	0	17	29	18	33	21	28	23	27	27	18	19	23	33	16	18	28	0	37
	EEB (2)	0	15	10	0	0	0	0	18	32	0	0	0	19	0	10	16	20	28	30	20	20	8	25	0	23	0	8	14
	SLF (1)	0	19	0	31	0	0	0	34	29	0	22	30	18	28	0	9	12	18	12	0	0	40	18	0	27	0	17	9
	SLF (2)	22	23	16	29	0	8	12	22	31	0	18	10	20	35	0	17	11	28	13	0	0	32	29	0	13	25	0	29
	SET (1)	40	28	24	34	26	21	24	30	34	15	19	30	18	40	11	10	8	30	0	0	0	19	32	0	13	9	18	29
	SET (2)	28	12	0	0	34	24	23	30	28	0	27	0	9	36	19	20	18	0	0	0	15	26	27	11	19	10	18	34
III	EEB (1)	0	16	10	30	10	0	0	34	27	0	21	29	17	26	0	15	8	32	0	0	0	33	24	0	18	29	19	29
	EEB (2)	24	14	38	30	26	23	26	26	16	0	18	38	9	34	23	0	0	0	16	22	21	0	10	0	18	27	0	31
	SLF (1)	0	14	0	32	11	0	0	36	26	0	23	29	27	28	16	22	15	0	0	10	9	20	36	0	11	11	19	30
	SLF (2)	29	0	36	24	13	16	24	21	15	0	15	30	0	36	12	0	28	22	12	19	22	0	0	0	12	31	0	23
	SET (1)	36	24	38	37	14	23	26	17	36	9	27	36	20	40	18	9	19	0	0	0	12	28	29	0	21	0	13	35
	SET (2)	23	22	36	38	40	27	28	34	15	0	25	20	15	36	23	12	0	0	30	23	23	28	31	0	23	0	8	31
IV	EEB (1)	24	22	26	33	29	10	16	28	32	0	15	12	21	36	0	18	0	32	0	0	0	31	28	0	16	32	18	28
	EEB (2)	30	20	30	37	33	24	24	10	30	14	27	30	18	35	18	27	37	18	16	16	18	11	42	0	22	0	21	25
	STA (1)	0	17	0	29	9	0	0	33	26	0	22	25	16	30	0	15	0	27	0	0	0	30	23	0	17	23	15	23
	STA (2)	0	17	13	27	13	0	0	17	26	0	0	13	16	19	14	19	0	30	16	0	0	20	31	0	17	15	21	25
	SET (1)	15	0	18	30	0	0	10	23	31	0	11	12	26	24	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	10	0	9	17

SET (2)	22	0	20	31	20	21	20	0	16	0	23	28	0	30	30	0	15	18	30	28	25	0	20	0	22	21	0	37

Fonte: Autoria Própria

Abreviações: ETE = Estação de Tratamento de Esgoto; PdC = Ponto de Coleta; EEB = Entrada Esgoto Bruto; SLF = Saída da Lagoa Facultativa; STA = Saída do Tanque de Aeração; SET = Saída do Esgoto Tratado; p = penicilina; s = estreptomicina; rd = rifampicina; sxt = sulfametoxazol/trimetoprima; e = eritromicina; tec = teicoplanina; va = vancomicina; cro = ceftriaxona; tob = tobramicina; ox = oxacilina; f = nitrofurantoína; w = trimetoprima; pb = polimixina B; tim = ticarcilina/ácido clavulânico

ANEXO E: Valores de referência avaliados em Resistente, Intermediário e Sensível para cada disco de difusão de antibiótico em determinada concentração, de acordo com o microrganismo

Sigla	Antibiótico	Concentração	Classificação do MO	Halo de Inibição (mm)		
				R	I	S
p	Penicilina	10µg	*Acinetobacter* spp.	≤28	–	≥29
			Staphylococcus spp.	≤28	–	≥29
			Enterococcus spp.	≤14	–	≥15
			Streptococcus pneumoniae	≤19	–	≥20
			Streptococcus spp.	≤23	–	≥24
s	Estreptomicina	10µg	*Enterobactérias*	≤11	12 – 14	≥15
rd	Rifampicina	5µg	*Staphylococcus* spp.	≤16	17 – 19	≥20
			Enterococcus spp.	≤16	17 – 19	≥20
			Streptococcus pneumoniae	≤16	17 – 18	≥19
sxt	Sulfametoxazol/ Trimetoprima	25µg	*Enterobactérias*	≤10	11 – 15	≥16
			Acinetobacter spp.	≤10	11 – 15	≥16
			Staphylococcus spp.	≤10	11 – 15	≥16
			Streptococcus pneumoniae	≤15	16 – 18	≥19
			Vibrio cholerae	≤10	11 – 15	≥16
e	Eritromicina	15µg	*Staphylococcus* spp.	≤13	14 – 22	≥23
			Enterococcus spp.	≤13	14 – 22	≥23
			Streptococcus pneumoniae	≤15	16 – 20	≥21
			Streptococcus spp.	≤15	16 – 20	≥21
tec	Teicoplanina	30µg	*Staphylococcus* spp.	≤10	11 – 13	≥14
			Enterococcus spp.	≤10	11 – 13	≥14
va	Vancomicina	30µg	*Staphylococcus* spp.	≤14	–	≥15
			Enterococcus spp.	≤14	15 – 16	≥17
			Streptococcus pneumoniae	≤16	–	≥17
			Streptococcus spp.	≤16	–	≥17
cro	Ceftriaxona	30µg	*Enterobactérias*	≤19	20 – 22	≥23
			Pseudomonas aeruginosa	≤13	14 – 20	≥21
			Acinetobacter spp.	≤13	14 – 20	≥21
			Staphylococcus spp.	≤21	22 – 23	≥24
			Streptococcus spp.	≤24	25 – 26	≥27
tob	Tobramicina	10µg	*Enterobactérias*	≤12	13 – 14	≥15
			Pseudomonas aeruginosa	≤12	13 – 14	≥16
			Acinetobacter spp.	≤12	13 – 14	≥17
			Staphylococcus spp.	≤12	13 – 14	≥18
ox	Oxacilina	1µg	*Staphylococcus* spp.	≤17	–	≥18
			Streptococcus pneumoniae	≤19	–	≥20
			Staphylococcus aureus	≤10	11 – 12	≥13

f	Nitrofurantoína	300µg	*Enterobactérias*	≤14	15 − 16	≥17
			Staphylococcus spp.	≤14	15 − 16	≥17
			Enterococcus spp.	≤14	15 − 16	≥17
w	Trimetoprim	5µg	*Enterobactérias*	≤10	11 − 15	≥16
			Staphylococcus spp.	≤10	11 − 15	≥16
pb	Polimixina B	300µg	*Pseudomonas aeruginosa*	≤11	–	≥12
tim	Ticarcilina/ ácido clavulânico	85µg	*Enterobactérias*	≤14	15 − 19	≥20
			Pseudomonas aeruginosa	≤15	16 − 23	≥24
			Acinetobacter spp.	≤14	15 − 19	≥20
			Staphylococcus spp.	≤22	–	≥23

Fonte: *Clinical and Laboratory Standards Institute*
Abreviações: R = Resistente; I = Intermediário; S = Sensível

ANEXO F: Estatística ANOVA aplicado em parâmetros físico – químicos dos anos de 2019, 2020 e 2021

Variável	Tipo	Ano	Média			DP		
			II	III	IV	II	III	IV
Ba mg.L-1	AF	2019	0,046 c	0,069 b	0,101 a	0,008	0,004	0,006
	AF	2020	0,033 a	0,115 a	0,054 a	0,035	0,151	0,064
	AF	2021	0,025 b	0,056 a	0,063 a	0,002	0,007	0,001
	EF	2019	0,029 a	0,063 a	N.R	0,001	0,033	N.R
	EF	2020	0,026 a	0,109 a	0,046 a	0,025	0,143	0,053
	EF	2021	0,012 b	0,030 a	0,045 a	0,006	0,004	0,006
B mg.L-1	AF	2019	0,038 a	0,026 a	0,024 a	0,006	0,000	0,011
	AF	2020	0,016	0,016	0,016	0,000	0,000	0,000
	AF	2021	0,018 a	0,044 a	0,035 a	0,003	0,002	0,021
	EF	2019	0,045 a	0,033 a	N.R	0,002	0,008	N.R
	EF	2020	0,016	0,016	0,016	0,000	0,000	0,000
	EF	2021	0,018 b	0,034 a	0,018 b	0,002	0,005	0,003
Cu mg.L-1	AF	2019	0,042 a	0,026 a	0,036 a	0,029	0,011	0,008
	AF	2020	0,018 a	0,018 a	0,019 a	0,000	0,000	0,001
	AF	2021	0,018	0,018	0,018	0,000	0,000	0,000
	EF	2019	0,018 a	0,031 a	N.R	0,000	0,023	N.R
	EF	2020	0,018	0,018	0,018	0,000	0,000	0,000
	EF	2021	0,018	0,018	0,018	0,000	0,000	0,000
DBO (5 dias)	AF	2019	622 a	434 a	742 a	384	336	508
	AF	2020	339 a	370 a	431 a	54	19	1
	AF	2021	529 a	491 a	483 a	241	199	81
	EF	2019	78 a	152 a	N.R	34	189	N.R
	EF	2020	121 a	90 a	88 a	57	52	24
	EF	2021	140 a	128 a	108 a	40	8	11
Fenol mg.L-1	AF	2019	0,136 a	0,063 a	0,124 a	0,070	0,020	0,030
	AF	2020	0,011 a	0,003 a	0,012 a	0,006	0,000	0,013
	AF	2021	0,083 a	0,060 a	0,018 a	0,064	0,030	0,021
	EF	2019	0,023 a	0,073 a	N.R	0,028	0,091	N.R
	EF	2020	0,019 a	0,003 a	0,022 a	0,023	0,000	0,027
	EF	2021	0,004 a	0,051 a	0,020 a	0,001	0,031	0,021
Fe Dissolvido mg.L-1	AF	2019	0,149 a	0,286 a	0,242 a	0,012	0,004	0,134
	AF	2020	0,696 a	1,062 a	0,704 a	0,177	0,135	0,162
	AF	2021	1,272 a	0,766 a	0,629 a	1,759	0,151	0,291
	EF	2019	0,070 a	0,138 a	N.R	0,037	0,118	N.R
	EF	2020	0,213 a	0,720 a	0,594 a	0,290	0,084	0,180

Mn Dissolvido mg.L-1	EF	2021	0,540 a	0,238 a	1,256 a	0,685	0,127	1,350
	AF	2019	0,032 a	0,044 a	0,040 a	0,006	0,001	0,014
	AF	2020	0,080 a	0,09 a	0,085 a	0,016	0,024	0,041
	AF	2021	0,067 a	0,043 a	0,044 a	0,034	0,000	0,008
	EF	2019	0,044 a	0,027 a	N.R	0,021	0,010	N.R
	EF	2020	0,068 a	0,112 a	0,084 a	0,045	0,035	0,023
	EF	2021	0,076 a	0,038 a	0,048 a	0,092	0,001	0,038
SS mg.L-1	AF	2019	0,125 a	0,550 a	0,375	0,707	0,212	5,657
	AF	2020	0,167 a	3,750 a	4,750 a	0,707	0,354	2,475
	AF	2021	2,350 a	5,750 a	0,208	2,333	1,061	1,414
	EF	2019	0,550 a	3,067 a	N.R	0,636	2,499	N.R
	EF	2020	0,300 a	0,100 a	3,450 a	0,283	0,000	3,606
	EF	2021	0,250 a	0,200 a	6,250 a	0,212	0,141	6,718
pH	AF	2019	7,1 a	7,0	6,9 a	0,6	0,1	0,1
	AF	2020	7,6 a	6,9 a	7,0 a	0,1	0,0	0,1
	AF	2021	7,8 a	7,0 a	6,9 a	0,5	0,1	0,1
	EF	2019	7,8 a	7,4 a	N.R	1,3	0,9	N.R
	EF	2020	7,9 a	7,8 a	7,2 a	0,4	0,2	0,1
	EF	2021	7,5 a	7,3 a	7,0 a	0,0	0,1	0,4
Zn mg.L-1	AF	2019	0,146 a	0,177 a	0,244 a	0,037	0,011	0,112
	AF	2020	0,142 a	0,166 a	0,170 a	0,064	0,130	0,098
	AF	2021	0,249 a	0,251 a	0,157 a	0,221	0,057	0,015
	EF	2019	0,081 a	0,112 a	N.R	0,021	0,072	N.R
	EF	2020	0,073 a	0,100 a	0,129 a	0,047	0,086	0,022
	EF	2021	0,211 a	0,148 a	0,165 a	0,216	0,018	0,091
Fluoreto mg.L-1	AF	2019	2,4 a	3,4 a	1,5 a	0,1	4,1	0,2
	AF	2020	0,6 b	0,8 a	0,6 ab	0,0	0,0	0,0
	AF	2021	1,8 a	0,6 b	0,5 b	0,1	0,2	0,3
	EF	2019	0,9 a	1,7 a	N.R	0,3	0,9	N.R
	EF	2020	0,9 a	0,7 b	0,6 b	0,0	0,1	0,1
	EF	2021	1,0 a	0,8 a	0,7 a	0,1	0,1	0,1
Hg Total µg/L	AF	2019	0,01 a	0,01 a	0,02 a	0,00	0,00	0,02
	AF	2020	0,01 a	0,01 a	0,01 a	0,00	0,00	0,00
	AF	2021	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00
	EF	2019	0,01 a	0,01 a	N.R	0,00	0,02	N.R
	EF	2020	0,02 a	0,01 a	0,01 a	0,02	0,01	0,00
	EF	2021	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00
Cianeto mg.L-1	AF	2019	0,005	0,005	0,005	0,000	0,000	0,000
	AF	2020	0,008 a	0,008 a	0,007 a	0,004	0,004	0,002
	AF	2021	0,005	0,005	0,005	0,000	0,000	0,000
	EF	2019	0,005	0,005	N.R	0,000	0,000	N.R
	EF	2020	0,007 a	0,007 a	0,009 a	0,002	0,002	0,005
	EF	2021	0,005	0,005	0,005	0,000	0,000	0,000
Óleos e Graxas Totais mg.L-1	AF	2019	33,0 a	32,0 a	138,5 a	19,8	8,5	169,0

	AF	2020	64,5 a	92,0 a	102,0 a	70,0	9,9	2,8
	AF	2021	47,5 a	51,0 a	60,0 a	46,0	31,1	49,5
	EF	2019	14,5 a	12,3 a	N.R	6,4	4,0	N.R
	EF	2020	17,5 a	10,0	15,5 a	10,6	0,0	7,8
	EF	2021	10,0	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0
Sulfeto Total mg.L-1	AF	2019	6,245 a	0,347 a	3,767 a	7,715	0,341	3,794
	AF	2020	0,025 a	0,023 a	0,021 a	0,002	0,025	0,018
	AF	2021	0,014 a	0,004 a	0,039 a	0,018	0,001	0,036
	EF	2019	0,444 a	0,007 b	N.R	0,593	0,010	N.R
	EF	2020	0,027 a	0,031 a	0,021 a	0,018	0,020	0,011
	EF	2021	0,02 a	0,007 a	0,009 a	0,026	0,001	0,008
	AF	2019	102,03 a	351,80 a	54,25 a	85,17	468,53	15,63
	AF	2020	8,23 a	22,90 a	30,03 a	7,46	0,49	17,64
	AF	2021	24,67 a	25,81 a	36,31 a	4,99	4,23	15,91
Sulfato mg.L-1	EF	2019	26,45 a	67,32 a	N.R	6,58	65,59	N.R
	EF	2020	16,69 a	19,67 a	26,00 a	1,39	10,84	29,70
	EF	2021	29,76 a	24,17 a	60,28 a	20,41	2,80	4,19

Fonte: SAAEB

Abreviações: B = Bário; B = Boro; Cu = Cobre; DBO = Demanda Bioquímica de Oxigênio; Fe = Ferro; Mn = Manganês; SS = Sólidos Suspensos Totais; Zn = Zinco; Hg = Mercúrio; AF = Afluente; EF = Efluente; DP = Desvio Padrão.