

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS – BAURU
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

LAÍS AGUIAR SILVA

**ESTUDO DAS BACTÉRIAS PATOGÊNICAS ENCONTRADAS EM ESTAÇÃO DE
TRATAMENTO DE ESGOTO DOMÉSTICO E SUA RESISTÊNCIA À
ANTIBIÓTICOS**

Bauru
2025

LAÍS AGUIAR SILVA

**ESTUDO DAS BACTÉRIAS PATOGÊNICAS ENCONTRADAS EM REDES DE
ESGOTO MUNICIPAL E SUA RESISTÊNCIA À ANTIBIÓTICOS**

Trabalho de Conclusão do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus Bauru, para obtenção do grau de bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador(a): Prof.^a Dr.^a Caroline Moço Erba Pompei

Bauru
2025

LAÍS AGUIAR SILVA

**ESTUDO DAS BACTÉRIAS PATOGÊNICAS ENCONTRADAS EM REDES DE
ESGOTO MUNICIPAL E SUA RESISTÊNCIA À ANTIBIÓTICOS**

Trabalho de Conclusão do Curso de
Bacharelado em Ciências Biológicas da
Faculdade de Ciências, da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” –
Câmpus Bauru, para obtenção do grau de
bacharel em Ciências Biológicas.

Comissão Examinadora:

Prof.^a Dr.^a. Caroline Moço Erba Pompei
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Bauru/SP

Prof.^o Dr.^o. Gustavo Henrique Ribeiro da Silva
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Bauru/SP

Prof.^o Dr.^o. Aloisio Costa Sampaio
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Bauru/SP

S586e Silva, Laís Aguiar
Estudo das bactérias patogênicas encontradas em redes de esgoto municipal e sua resistência à antibióticos / Laís Aguiar Silva. -- Bauru, 2025
57 p. : il., tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências, Bauru
Orientadora: Caroline Moço Erba Pompei

1. Multirresistência bacteriana. 2. Antibióticos. 3. Esgoto sanitário. 4. Saúde pública. I. Título.

Este trabalho é dedicado aos meus pais e minha irmã por todo apoio, carinho e afeto que me trouxeram até aqui. Obrigada por me ensinarem a voar e acompanharem meu voo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha irmã Vitória, minha mãe Adriana, meu pai William por todo apoio e todo amor que me deram. Obrigada por sempre acreditarem em mim, mesmo quando eu mesma não acreditava. A fé que vocês depositaram em mim foi o que me trouxe até aqui.

A Profa. Dra. Caroline Moço Erba Pompei por confiar esse projeto a mim, por toda orientação que me possibilitou escrever esse tcc, por todo o conhecimento que compartilhou comigo e por toda paciência. Foram longos dias de trabalho, análises e pesquisa e foi um prazer compartilhar eles com você.

Aos meus colegas de laboratório Vitor, Pedro, Julie, Glauco, Gabriela e James que me acompanharam nessa jornada. Os dias de pesquisa foram muito mais leves e divertido com a companhia de vocês.

A minha banca Prof. Dr. Gustavo Henrique Ribeiro da Silva e Prof. Dr. Aloisio Costa Sampaio por aceitarem meu pedido.

Aos meus bioamigos Laura, Leta, Hugo, Paulo, Jake, Gislotti, Luiz Fernando, Katy, Manu e citando novamente, Vitor por serem os melhores amigos que poderia ter, por me acompanharem nesses 4 anos de graduação e dividirem comigo momentos tão bons dos quais carregarei em meu coração por toda minha vida.

Aos demais amigos que mesmo não compartilhando a mesma sala de aula ainda se fizeram presentes em minha vida e me acompanharam durante todo esse processo.

Meus mais sinceros: Obrigada!

RESUMO

As bactérias possuem elevada capacidade adaptativa por meio de mutações, transferência genética e rápida reprodução, o que favorece o desenvolvimento da resistência aos antibióticos. As Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs), embora essenciais no tratamento das esgotos, também podem funcionar como ambientes facilitadores para a troca de genes de resistência entre microrganismos. Isso ocorre devido à presença contínua de antibióticos nos esgotos, oriundos de excreções humanas e descartes incorretos, promovendo pressão seletiva e favorecendo a sobrevivência de cepas resistentes. Diante dessa problemática, o presente estudo teve como objetivo investigar a presença e o perfil de resistência antimicrobiana de bactérias patogênicas ao longo das etapas do tratamento de esgoto na ETE Candeia, localizada em Bauru-SP, sendo elas: coliformes totais, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus* spp. No total foram realizadas 30 coletas entre agosto e setembro de 2024 nos seguintes pontos: pós-gradiente, pós-reator UASB e pós-cloração. A partir das amostras, foram feitas diluições seriadas, semeadas em meios de cultivo seletivos para cada grupo de bactérias supracitado e submetidas ao teste de sensibilidade a 5 diferentes antimicrobianos (penicilina, amoxicilina, azitromicina, ceftriaxona e ciprofloxacino) pelo método de disco-difusão. Os resultados apresentam baixa redução da carga microbiana durante o processo, e persistência de microrganismos após a cloração. Observou-se alta resistência, especialmente à penicilina e à amoxicilina. *Staphylococcus* spp. apresentou 100% de resistência à penicilina e azitromicina; *Enterococcus* spp. foi resistente à azitromicina em >82% das amostras; e coliformes totais apresentaram resistência à ciprofloxacino em >60% dos casos. Sendo a etapa de cloração a etapa em qual ocorreu maior ocorrência de multirresistência. A detecção de microrganismos multirresistentes após o tratamento final indica a importância da pesquisa de novas formas de tratamento de esgotos, como o uso de microalgas.

Palavras-chave: Resistência microbiana; Saúde pública; Esgotos; ETEs.

ABSTRACT

Bacteria have a high adaptive capacity through mutations, genetic transfer, and rapid reproduction, which favors the development of antibiotic resistance. Wastewater Treatment Plants (WWTPs), although essential for sewage treatment, may also act as facilitating environments for the exchange of resistance genes among microorganisms. This occurs due to the continuous presence of antibiotics in wastewater, originating from human excretion and improper disposal, promoting selective pressure and favoring the survival of resistant strains. In view of this issue, the present study aimed to investigate the presence and antimicrobial resistance profile of pathogenic bacteria throughout the stages of wastewater treatment at the Candeia WWTP, located in Bauru, São Paulo, Brazil. The bacteria analyzed were total coliforms, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp., and *Enterococcus* spp. A total of 30 samples were collected between August and September 2024 at the following points: post-screening, post-UASB reactor, and post-chlorination. From the samples, serial dilutions were performed and plated on selective culture media for each of the aforementioned bacterial groups, followed by antimicrobial susceptibility testing against five different antibiotics (penicillin, amoxicillin, azithromycin, ceftriaxone, and ciprofloxacin) using the disk diffusion method. The results showed a low reduction in microbial load throughout the treatment process and the persistence of microorganisms after chlorination. High resistance was observed, especially to penicillin and amoxicillin. *Staphylococcus* spp. showed 100% resistance to penicillin and azithromycin; *Enterococcus* spp. was resistant to azithromycin in more than 82% of the samples; and total coliforms showed resistance to ciprofloxacin in more than 60% of the cases. The chlorination stage was the stage at which the highest occurrence of multidrug resistance was observed. The detection of multidrug-resistant microorganisms after final treatment highlights the importance of researching new wastewater treatment approaches, such as the use of microalgae.

Key-words: Antimicrobial resistance; Public health; Wastewater; Wastewater treatment plants.

Sumário

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	18
2.1	OBJETIVO GERAL	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
3	MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.1	COLETA	19
3.2	ISOLAMENTO DAS BACTÉRIAS	21
3.3	TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS	24
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.1	REMOÇÃO DOS PATÓGENOS.....	25
4.2	TESTE DE SENSIBILIDADE A ANTIBIÓTICOS	31
4.2.1	Coliformes totais.....	31
4.2.2	<i>Escherichia coli</i>	33
4.2.3	<i>Staphylococcus</i> spp.	37
4.2.4	<i>Enterococcus</i> spp.	41
5.	DISCUSSÃO	44
6.	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios das civilizações humanas a gestão dos resíduos humanos e animais tem sido um desafio a ser enfrentado, lidar com essa problemática não é algo exclusivo da atualidade. Evidências arqueológicas indicam que, por volta de 3750 a.C., os babilônios já utilizavam coletores de esgoto na cidade de Nipur. Da mesma forma, os egípcios, em 2750 a.C., empregavam tubulações de cobre no palácio do faraó Chéops para que os dejetos fossem descartados em uma área afastada e, por volta de 2000 a.C., começaram a usar sulfato de alumínio para a purificação da água (REZENDE; HELLER, 2002).

Ao longo do tempo, o crescimento da população e o avanço da urbanização exigiram a adaptação e o desenvolvimento dos sistemas de saneamento básico para atender às novas necessidades da sociedade. Atualmente o tratamento de esgotos (ETE) ocorre em etapas distintas para remoção de impurezas sólidas e líquidas, prometendo a purificação da água antes do descarte. Porém, o saneamento básico não foi o único a evoluir e se modernizar com o passar do tempo. Também houve grandes avanços científicos, como o surgimento de antibióticos.

Segundo Pereira e Pita (2005), em 1928 Alexander Fleming marcou a história da ciência e da medicina ao descobrir a penicilina. O médico e bacteriologista escocês, ao sair de férias, esqueceu algumas placas com micro-organismos em seu laboratório, e quando voltou reparou que uma das culturas tinha sido contaminada por bolor. Analisando melhor as placas ele notou que em volta das colônias do fungo nenhuma colônia de bactéria havia crescido. Graças a esse fatídico acidente, Dr. Fleming e seu colega Dr. Pryce identificaram o fungo *Penicillium notatum*, único capaz de produzir penicilina. Após 12 anos suas propriedades antibióticas foram confirmadas por meio de testes em ratos infectados.

Segundo Lobanovska e Pilla (2017) essa descoberta trouxe benefícios a nível de saúde pública e abriu caminho a novos investimentos científicos na área da antibioterapia, resultando na descoberta de novos antibióticos.

As bactérias são organismos que, como todos os outros, buscam evoluir e se adaptar ao ambiente em que estão inseridas. Esses microrganismos possuem alta capacidade de adaptação pois possuem a vantagem de terem uma grande facilidade para sofrer mutações, de trocar materiais genéticos entre linhagens da mesma espécie ou de espécies diferentes e de se reproduzirem e multiplicarem rapidamente. devido a sua alta capacidade de adaptação elas

desenvolvem resistência, fenômeno no qual as bactérias conseguem resistir à exposição aos antibióticos (PINTO et al., 2014).

Embora essa resposta evolutiva das bactérias à antibióticos seja algo natural, a ação humana pode influenciar esse processo, acelerando e potencializando-o. As Estações de Tratamento de Esgoto foram projetadas com o propósito de depurar as águas residuárias dos municípios, permitindo seu retorno ao meio ambiente com o menor impacto ecológico possível.

No entanto, esses sistemas também podem atuar como biorreatores, favorecendo a troca de material genético entre bactérias, o que contribui para o desenvolvimento da resistência a antibióticos e para sua disseminação no ambiente (AUGUET et al., 2017; RIZZO et al., 2013).

Esses fármacos chegam aos esgotos quando são descartados de maneira incorreta, ou então através da excreção de indivíduos que consumiram esses antimicrobianos, já que entre 50 a 90% de uma dose é excretado pela urina e fezes sem sofrer alteração alguma e persistem no ambiente (UEDA et al., 2009).

As esgotos urbanas contêm, portanto, um grande repertório de resíduos de antibióticos e a presença desses fármacos nas estações de tratamento pode exercer uma pressão seletiva sobre os microrganismos ali presentes, promovendo o desenvolvimento e a proliferação de cepas resistentes (AUGUET et al., 2017).

O uso excessivo e inadequado desses medicamentos desde sua descoberta resultou no acréscimo acentuado de antibióticos no meio ambiente, resultando na disseminação global de bactérias resistentes (PINTO et al., 2014). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), até 2050 haverá mais mortes relacionadas às superbactérias do que ao câncer, tornando elas a principal causa de morte no planeta. Isso porque a população mundial está cada vez mais exposta à água contaminada por antibióticos, segundo relatório divulgado pelo Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (Pnuma), da ONU. Segundo tal documento, 90% dos antibióticos são irradiados ao meio ambiente ainda como substâncias ativas através de esgotos ou defecação a céu aberto. Quanto mais essas bactérias ficam expostas a esses produtos farmacêuticos, maior é a sua capacidade de adaptação e resistência aos mesmos. Toda essa situação foi ampliada ainda mais durante a pandemia do COVID-19, onde parte exuberante da população começou a se automedicar e tomar muitos antibióticos de forma incorreta. Com isso, podemos dizer que toda essa situação pode causar outra pandemia.

Mais especificamente dentro do saneamento básico, e do tratamento de esgoto sanitário, já foram encontradas bactérias multirresistentes, sendo elas: coliformes totais, *E. coli*,

Staphylococcus spp., *Enterococcus* spp., *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Vibrio* spp., *Clostridium* spp., *Shigella* spp., *Aeromonas* spp., *Campylobacter* spp. e *Legionella* spp. em amostras de biofilme de biomassa suspensa em um tanque de aeração de iodo ativado (PERES, 2012).

Segundo Cho, Uehara e Bernhardt (2014) os fármacos penicilina e amoxicilina pertencem à classe dos antibióticos beta-lactâmicos. Esta classe de medicamentos possui um anel beta-lactâmico em sua estrutura, o que lhe confere a capacidade de se ligar a enzimas necessárias para a síntese da parede celular bacteriana e inativando transpeptidases responsáveis pelas ligações cruzadas na etapa final da síntese do peptidoglicano, tornando a bactéria vulnerável à lise osmótica e à morte

A ceftriaxona é um fármaco da classe das cefalosporinas de terceira geração. Segundo Sudharsan et al (2024) as cefalosporinas de terceira geração, exemplificadas pela ceftriaxona, constituem antibióticos de amplo espectro fundamentais no tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Seu efeito bactericida decorre da capacidade de inibir a síntese da parede celular bacteriana, especificamente pela inibição da enzima transpeptidase. Nas bactérias Gram-negativas, essa interferência no processo de síntese da parede celular culmina em lise e consequente morte celular.

De acordo com LIN e KÜCK, (2022) as cefalosporinas constituem uma classe de antibióticos β -lactâmicos amplamente empregada na prática clínica devido à sua elevada eficácia e versatilidade terapêutica. Esses compostos são derivados de um núcleo bicíclico formado por um anel di-hidrotiazínico de seis membros ligado a um anel β -lactâmico. As posições de carbono C3 e C7 do esqueleto molecular permitem a inserção de cadeias laterais variáveis, o que confere às cefalosporinas maior diversidade de ação antibacteriana e resistência aumentada à degradação por β -lactamases. O mecanismo de ação baseia-se na inibição da síntese da parede celular bacteriana, por meio do bloqueio da ligação cruzada das cadeias de peptidoglicano. Essa etapa terminal é catalisada pelas proteínas ligadoras de penicilina (PBPs), as quais são irreversivelmente inativadas pelos antibióticos β -lactâmicos. Embora compartilhem o anel β -lactâmico característico, as cefalosporinas diferenciam-se das penicilinas pela presença de um anel lateral adicional, o que resulta em variações no espectro e na potência antimicrobiana.

A azitromicina é um antibiótico da classe dos macrolídeos, da subclasse azalídeo. Este fármaco inibe a síntese de proteínas bacterianas ao ligar à subunidade 50S do ribossomo, perto do centro de transferência de peptídeos no rRNA 23s interferindo na elongação da cadeia polipeptídica. Dessa forma, esse fármaco impede a liberação da cadeia polipeptídica pelo canal de saída dos ribossomos, prejudicando o crescimento e a multiplicação bacteriana (PARNHAM

et al., 2014).

O ciprofloxacino é um fármaco da classe das quinolonas, da subclasse fluoroquinolonas. São eficazes contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Este antibiótico atua sobre as enzimas topoisomerase II bacterianas, especificamente DNA girase e topoisomerase IV. Tais enzimas são essenciais para processos como replicação, transcrição, recombinação e segregação. Quinolonas se ligam ao complexo enzima-DNA na fase de clivagem, impedindo a religação do DNA, com isso, elas aumentam a concentração de quebras duplas no DNA bacteriano, levando à fragmentação do genoma (ALDRED; KERN; OSHEROFF 2014).

Sendo assim, é de grande importância avaliar a concentração de superbactérias nos esgotos, bem como estudar esta concentração em cada etapa de tratamento, e a quais antibióticos elas estão resistindo para que haja o manejo adequado. Portanto, o objetivo desta pesquisa é investigar a existência de tais bactérias patogênicas (coliformes totais, *E. coli*, *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus* spp.) tanto no esgoto pós gradeamento, como após cada etapa de tratamento, sendo elas pós gradeamento, pós UASB e pós cloração, de uma estação de tratamento de esgoto de uma cidade no interior do estado de São Paulo. Para compreendermos a resistência a antibióticos das bactérias patogênicas citadas acima é preciso analisar seu comportamento ao serem expostas a antibióticos. Para este estudo especificamente, foram selecionados os antibióticos: penicilina, amoxicilina, azitromicina, ceftriaxona e ciprofloxacino.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo central deste estudo foi detectar a presença de bactérias resistentes a múltiplos antibióticos (5) em esgoto sanitário bruto e após cada etapa de tratamento de uma estação de tratamento de esgotos (ETE).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Identificar e quantificar a presença de coliformes totais, *E. coli*, *Staphylococcus* sp. e *Enterococcus* sp. em amostras de esgoto após as diversas etapas de tratamento de uma ETE.
- b) Avaliar, através de características fenotípicas, a resistência bacteriana a cinco tipos distintos de antibióticos (Penicilina, amoxicilina, ceftriaxona, azitromicina e ciprofloxacino) nas amostras previamente mencionadas no item a.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 COLETA

As amostras foram coletadas na ETE Candeia, gerenciada pelo Departamento de Água e Esgoto de Bauru (DAE), localizada no interior de São Paulo, dimensionada para atender

inicialmente 30.000 habitantes, com capacidade final para 50.000 habitantes, e uma vazão inicial de 60 a 100 litros por segundo (L/s).

Na ETE Candeia, o tratamento do esgoto se inicia com o tratamento preliminar, onde primeiro ocorre o gradeamento grosseiro, seguido de gradeamento fino e caixa de areia. Em seguida, ocorre o tratamento secundário de forma anaeróbia, utilizando reatores UASB (reatores anaeróbios de fluxo ascendente), complementados por filtros biológicos aerados submersos, que são preenchidos com material plástico. Esses filtros não estavam em funcionamento devido a manutenção necessária para ajustar os aeradores e o material suporte que deveria ser substituído. Nesta fase, são instalados dispositivos para controle de odores e queimadores de biogás. O tratamento secundário envolve a remoção do lodo resultante do processo biológico por meio de decantadores secundários. Após a desidratação, realizada por centrifugação, o lodo é encaminhado para um aterro sanitário devidamente licenciado pela CETESB. Por fim, ocorre a etapa de cloração, na qual são aplicados produtos químicos à base de cloro para eliminar micro-organismos patogênicos presentes no esgoto sanitário. Na figura 1 esse tratamento está ilustrado.

Entre os meses de agosto e setembro de 2024, foram realizadas 10 coletas em três diferentes pontos do sistema de tratamento, resultando em um total de 30 amostras. Os locais de coleta incluíram o afluente (esgoto pós gradeamento proveniente da rede coletora após gradeamento), o efluente tratado (após a passagem pelo reator UASB) e o efluente clorado (após o processo final de cloração/desinfecção) (Tab.1).

Locais de coleta	
Esgoto pós gradeamento	Ponto 1
Esgoto pós reator UASB	Ponto 2
Esgoto pós cloração	Ponto 3

Tabela 1. Pontos de amostra e seu respectivo local de coleta

Fonte: Autoria própria

As coletas foram feitas sempre no período da manhã. Foi coletado 1L de cada ponto, armazenados em garrafas de plástico estéreis (Fig.2), imediatamente transportadas sob refrigeração ao laboratório de Saneamento da FEB/UNESP e processadas.

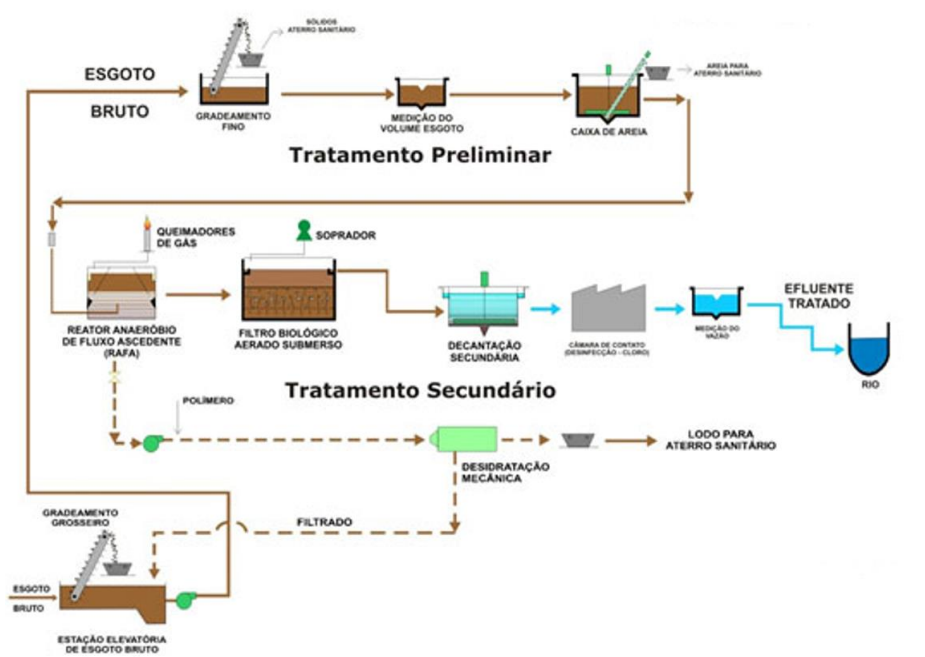


Figura 1. DAE - BAURU. Disponível em:

<<https://www.daebauru.sp.gov.br/empresa.php?item=CT7>>. Acesso em: 12 jun. 2024.



Figura 2. Frasco de plástico esterilizado com coleta de esgoto pós UASB. Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 3. Calha parshal do DAE Bauru – Ponto 1 (coletas feitas na área destacada pelo círculo vermelho). Fonte: Arquivo pessoal.

3.2 ISOLAMENTO DAS BACTÉRIAS

Assim que as amostras de esgoto (pós-gradamento, pós-UASB e pós cloração) chegaram ao laboratório de saneamento da UNESP/FEB foram realizadas diluições em série para tornar viável a avaliação da remoção de tais microrganismos, em decorrência da alta concentração desses patógenos no esgoto. Foram realizadas em média 5 diluições diferentes a fim de encontrar as ideais para semeadura em placas Petri. O método usado para o plaqueamento foi o *Pour plate* (APHA, 2012). Portanto, foram feitas diluições em série (a saber: 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1}) para posterior inoculação em placas Petri (1 mL de cada amostra). Foram usados meio de cultivo seletivo para cada grupo de bactérias a ser avaliado, bem como para avaliação da remoção e subsequente avaliação de remoção dos patógenos e sua resistência antimicrobiana.

Para o isolamento de *E. coli* e coliformes totais foi usado o meio de cultivo seletivo Chromocult (Marca: HiMedia Laboratories Pvt.Ltd; Fabricação: Índia). Este meio de cultivo contém peptona especial e piruvato de sódio, os quais fornecem nutrientes essenciais ao desenvolvimento microbiano. A presença de fosfatos atua como sistema tampão, mantendo a estabilidade do pH. Sua formulação favorece inclusive a recuperação e o crescimento rápido de coliformes submetidos a danos subletais. O lauril sulfato de sódio exerce uma ação seletiva ao inibir o crescimento de bactérias Gram-positivas. Dessa forma, o meio permite o crescimento específico de coliformes totais e *Escherichia coli*, resultando na formação de unidades formadoras de colônias (UFCs). A diferenciação entre esses grupos é possível devido ao fato de a coloração de suas colônias serem distintas: *E. coli* forma colônias de coloração azul-escura

e violeta, enquanto os coliformes totais exibem coloração rosa. Essa distinção cromática ocorre devido à atividade de enzimas específicas: os coliformes produzem β -galactosidase, que hidrolisa um cromóforo, originando colônias com tonalidade vermelho-salmão; já *E. coli*, além de β -galactosidase, sintetiza β -glicuronidase, que cliva o X-glicuronídeo, resultando na coloração característica azul-escura a violeta, segundo o manual do fabricante (HiMedia Laboratories Pvt.Ltd; Índia).

Para o isolamento de *Enterococcus*, o mesmo procedimento foi realizado, entretanto utilizando-se o meio de cultivo seletivo Enterococcus Agar Base (Marca: HiMedia Laboratories Pvt.Ltd; Índia). Este meio de cultura foi especialmente desenvolvido para possibilitar o isolamento e a identificação de bactérias do gênero *Enterococcus*, que possuem significativa importância tanto em contextos clínicos quanto ambientais. O Enterococcus Ágar Base foi o meio seletivo utilizado para a identificação e contagem de *Enterococcus* spp. Para este grupo de microrganismos, também foi empregado o método *pour-plate*. As diluições em série foram nas seguintes proporções: 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} e também sem diluição.

Já para o isolamento de *Staphylococcus*, o meio de cultivo usado foi o Baird Parker Agar Base (Marca: HiMedia Laboratories Pvt.Ltd; Fabricação: Índia). Este meio de cultivo, desenvolvido especialmente para a seleção de *Staphylococcus*, contém telurito de potássio que é o principal agente seletivo e cloreto de lítio. O telurito de potássio apresenta propriedades nocivas para a maioria das bactérias, mas *Staphylococcus aureus* coagulase-positivos conseguem reduzi-lo, formando colônias pretas. O cloreto de lítio atua como um sal tóxico para muitas espécies bacterianas, mas é bem tolerado por *Staphylococcus aureus*, assim ele inibe o crescimento de bactérias gram-negativas e outras espécies gram-positivas indesejadas, segundo informações fornecidas pela DsysLAB. As diluições em série foram nas seguintes proporções para quantificação 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} e sem diluição, e o método de plaqueamento foi também o *Pour plate*.

Após a semeadura, as placas foram incubadas em estufa na temperatura e tempo conforme indicado pelo fabricante de cada meio de cultivo específico, permitindo o crescimento bacteriano e, posteriormente, a contagem. Os resultados obtidos do crescimento microbiano foram expressos em unidades formadoras de colônias (UFCs) por mL, e posteriormente, calculadas para 100 mL nos meios de cultura utilizados.

Para o isolamento de *Enterococcus* spp foi usado o método *pour plate* utilizando diluições em séries nas seguintes proporções para quantificação 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} e sem diluição. As amostras foram semeadas em uma placa de Petri contendo meio de cultura seletivo de *Enterococcus* spp., sendo ele o Enterococcus Agar Base (Marca: HiMedia Laboratories Pvt.Ltd; Fabricação: Índia), previamente preparado. Formam-se colônias com características típicas, sendo identificadas pela coloração branca-leitosa. A densidade de *Enterococcus* spp. é então determinada a partir da contagem dessas unidades formadoras de colônias.

A partir do valor da concentração de cada patógeno avaliado, foi calculada a remoção em porcentagem (%) e em Log de remoção, no Excel 2021.



Figura 4. Placa Petri com colônias isoladas de *E. coli* (pontos azuis) e coliformes totais (pontos rosas). Fonte: Arquivo pessoal.

3.3 TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS

A avaliação da suscetibilidade dos microrganismos isolados foi conduzida por meio do teste de difusão em ágar (disco-difusão), conforme as diretrizes estabelecidas pelo The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST 2024). Para a realização do teste de difusão em ágar, colônias bacterianas foram inicialmente cultivadas em um meio de cultura seletivo específico para cada microrganismo estudado, conforme descrito nos itens 3.1 e 3.2. Posteriormente, uma alçada dessas colônias foi transferida para uma solução salina previamente preparada e esterilizada para que a suspensão resultante foi ajustada de acordo com o padrão de turvação 0,5 da escala de McFarland. Em seguida, a suspensão bacteriana foi inoculada em placas contendo ágar Mueller-Hinton (HiMedia; Índia) (previamente preparada e autoclavada, de acordo com as especificações do fabricante), sobre as quais, após solidificadas, foram aplicados discos de antibióticos próprios para bactérias que foram introduzidos no meio. Os antibióticos usados e sua concentração foram: amoxiciclina (10 µg), ceftriaxona (10 µg), ciprofloxacino (10 µg), azitromicina (10 µg) e penicilina (10 µg).

As placas inoculadas foram incubadas a 35°C por um período de 16 a 18 horas. A avaliação da resistência antimicrobiana foi realizada por meio da mensuração dos halos de inibição do crescimento microbiano ao redor dos discos impregnados com os antimicrobianos, com o uso de um paquímetro digital de mandíbula pontiaguda 150mm (Modelo: Paquímetro-

digital; Marca: LOJANYBC). A interpretação dos resultados foi baseada no diâmetro dos halos de inibição, permitindo a classificação das cepas bacterianas como sensíveis, de resistência intermediária ou resistentes aos antibióticos testados. Os valores obtidos foram comparados com os pontos de corte estabelecidos pelos padrões do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2024) e do EUCAST (2024), visto que os diâmetros das zonas de inibição variam conforme a combinação específica entre o antimicrobiano e o microrganismo avaliado.

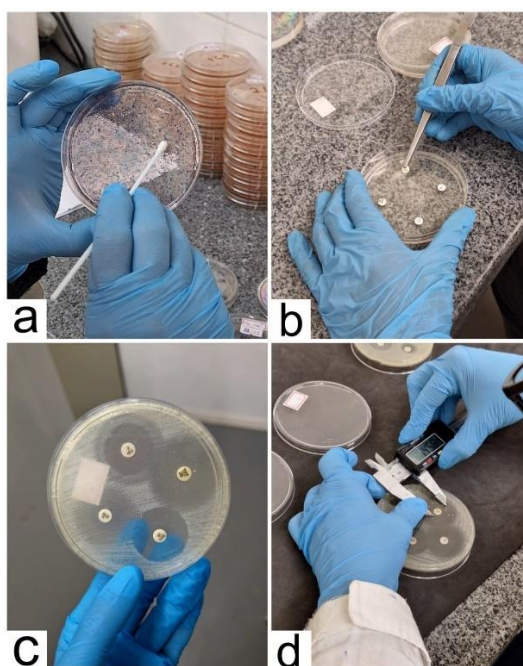


Figura 5. A) Pescagem de *E. coli* e coliformes totais. B) Aplicação dos discos de antibióticos. C) Teste Disco-difusão após 18h na estufa. D) . Medição do diâmetro dos halos,

Fonte: Arquivo pessoal.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 REMOÇÃO DOS PATÓGENOS

Como pode ser visto na figura 6, a concentração de coliformes totais ($6,36 \times 10^7 \pm 3,94 \times 10^7$) e *E. coli* ($2,09 \times 10^7 \pm 1,40 \times 10^7$) eram altas no ponto 1, porém diminui no ponto 2, com *E. coli* apresentando concentração de $5,03 \times 10^6 \pm 8,08 \times 10^6$ e coliformes totais apresentando concentração de $1,81 \times 10^7 \pm 1,05 \times 10^7$. No ponto 3 a concentração de coliformes totais foi de $1,34 \times 10^7 \pm 2,47 \times 10^7$ e a de *E. coli* foi de $3,59 \times 10^6 \pm 8,81 \times 10^6$. Interpretando esses numeros concluímos que a concentração se manteve estável, não houve uma diminuição considerável e por tanto os patógenos não foram removidos totalmente (Esgoto pós cloração apresentou a concentração final média de $1,34 \times 10^7 \pm 2,47 \times 10^7$).

A presença de coliformes totais e *E.coli* no esgoto pós cloração é uma problemática para a saúde pública pois sua presença indica a existência de compostos orgânicos naturais (CONs). De acordo com Andreola et al. (2005) os CONs presentes na última etapa do tratamento por si só já é um grande alarmante e nos faz questionar a qualidade da água residual que está sendo despejada nos rios, porém a situação se mostra ainda mais preocupante devido ao fato que compostos orgânicos naturais, ao serem expostos ao cloro livre presente em abundância na última etapa de tratamento formam compostos orgânicos halogenados, chamados de trihalometanos (TAMs).

De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), há uma associação significativa entre a ocorrência de cânceres de bexiga, cólon e reto e a ingestão de água potável contendo trihalometanos. Esses compostos demonstraram potencial carcinogênico em animais de laboratório quando presentes em determinadas concentrações (SINGER, 1993).

Se tratando de *Enterococcus* spp. no ponto 1 a concentração de unidades formadoras de colônias por 100ml (UFC/100ml) foi de $2,10 \times 10^7 \pm 9,27 \times 10^6$. No ponto 2 a média de concentração foi de $3,91 \times 10^6 \pm 2,93 \times 10^6$ e no ponto 3 a média de concentração foi de $2,32 \times 10^6 \pm 4,98 \times 10^5$ (Figura 6).

As análises feitas referente a concentração de *Staphylococcus* spp. mostraram uma concentração média de $5,36 \times 10^6 \pm 9,87 \times 10^6$ no ponto 1 (esgoto pós-gradamento). No ponto 2 (esgoto pós-UASB) foi constatado uma média de $1,25 \times 10^6 \pm 3,70 \times 10^6$. No ponto 3 (pós-cloração) a média foi de $7,81 \times 10^5 \pm 4,71 \times 10^5$ (Figura 6).

É observado que não houve uma remoção satisfatória desses patógenos presentes no esgoto. A concentração de patógenos da ETE de Bauru está acima do limite permitido pela Resolução CONAMA nº 430/2011 e a NBR 13.969/97. O limite legal de patógenos em águas residuais tratadas é estabelecido por meio do parâmetro microbiológico de coliformes termotolerantes, utilizado como indicador sanitário de contaminação fecal. A NBR 13.969/97 define valores máximos permitidos para lançamento de efluentes em corpos hídricos conforme a classe do corpo receptor, sendo: Classe A: $< 1,0 \times 10^3$ NMP/100 mL; Classe B: $< 1,0 \times 10^3$ NMP/100 mL; Classe C: $< 5,0 \times 10^2$ NMP/100 mL; e Classe D: $< 1,0 \times 10^3$ NMP/100 mL. Em complemento, o CONAMA nº 430/2011 estabelece que o lançamento de efluentes somente é permitido quando não comprometer o atendimento aos padrões de qualidade definidos para a classe do corpo hídrico receptor, garantindo conformidade aos limites microbiológicos indicados pela norma técnica. Dessa forma, o limite de microrganismos indicadores de contaminação em esgoto tratado permanece entre $5,0 \times 10^2$ e $1,0 \times 10^3$ NMP/100 mL, variando de acordo com o nível de restrição aplicável ao uso do corpo d'água, em conformidade com a legislação ambiental vigente. Logo, concluímos que os esgotos que estão sendo lançados na natureza carregam concentrações de microrganismos patogênicos acima do permitido, podendo trazer grandes prejuízos à saúde pública.

Ao comparar os resultados obtidos nesta pesquisa com dados apresentados em estudos

anteriores, observa-se que as concentrações de microrganismos no esgoto bruto e nas diferentes etapas do tratamento apresentaram comportamento semelhante ao relatado na literatura. Segundo Pompei et al. (2025), o esgoto pós-gradeamento (esgoto bruto) apresentou concentrações médias de coliformes totais de $7,8 \times 10^7 \pm 3,9 \times 10^7$ UFC/100 mL (Log 7,9), *Escherichia coli* de $2,1 \times 10^7 \pm 5,6 \times 10^6$ UFC/100 mL (Log 7,3), *Enterococcus* spp. de $2,2 \times 10^7 \pm 1,2 \times 10^7$ UFC/100 mL (Log 7,3) e *Staphylococcus* spp. de $1,5 \times 10^8 \pm 1,3 \times 10^8$ UFC/100 mL (Log 8,2). Esses valores são compatíveis com as concentrações iniciais observadas neste estudo, o que demonstra que a carga microbiana do esgoto bruto analisado se encontra dentro da faixa esperada para sistemas de tratamento semelhantes.

Com base no estudo de Puljko et al. (2021), após o processo de cloração, *Enterococcus* spp., coliformes totais e *E. coli* ainda permaneceram em concentrações consideráveis no esgoto tratado, indicando que a remoção não foi completa. As concentrações médias de *E. coli* variaram entre $(7,02 \pm 1,10) \times 10^2$ e $(3,06 \pm 0,52) \times 10^3$ UFC/mL; para coliformes totais, foram de aproximadamente $(1,88 \pm 0,43) \times 10^3$ UFC/mL; e *Enterococcus* spp. apresentou valores entre $(1,00 \pm 0,28) \times 10^4$ e $(1,00 \pm 0,37) \times 10^5$ CE/100 mL (Células Enterocócicas por 100 mililitros), podendo alcançar $(1,00 \pm 0,62) \times 10^6$ a $1,00 \times 10^7$ CE/100 mL em estações com menor eficiência. Quando comparadas aos resultados obtidos neste estudo, as concentrações de microrganismos no esgoto pós-cloração mostraram-se superiores, evidenciando uma menor eficiência da etapa de desinfecção na estação analisada, possivelmente em razão da alta presença de matéria orgânica residual, que pode reduzir a ação do cloro.

Não foram encontrados estudos que apresentassem dados sobre a concentração de *Staphylococcus* spp. no esgoto e pós-cloração, o que impossibilita uma comparação direta desses resultados.

De modo geral, os resultados obtidos neste trabalho estão em concordância com a literatura quanto às concentrações iniciais de microrganismos no esgoto bruto, apresentando valores semelhantes aos relatados por Pompei et al. (2025). Contudo, ao comparar a etapa final de tratamento, observou-se que a cloração foi menos eficiente do que a relatada por Puljko et al. (2021), uma vez que coliformes totais, *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp. permaneceram em concentrações elevadas no efluente tratado. Essa ineficiência indica a necessidade de revisão do processo de desinfecção, de modo a assegurar a remoção efetiva dos patógenos e garantir a segurança microbiológica dos esgotos lançados no meio ambiente.

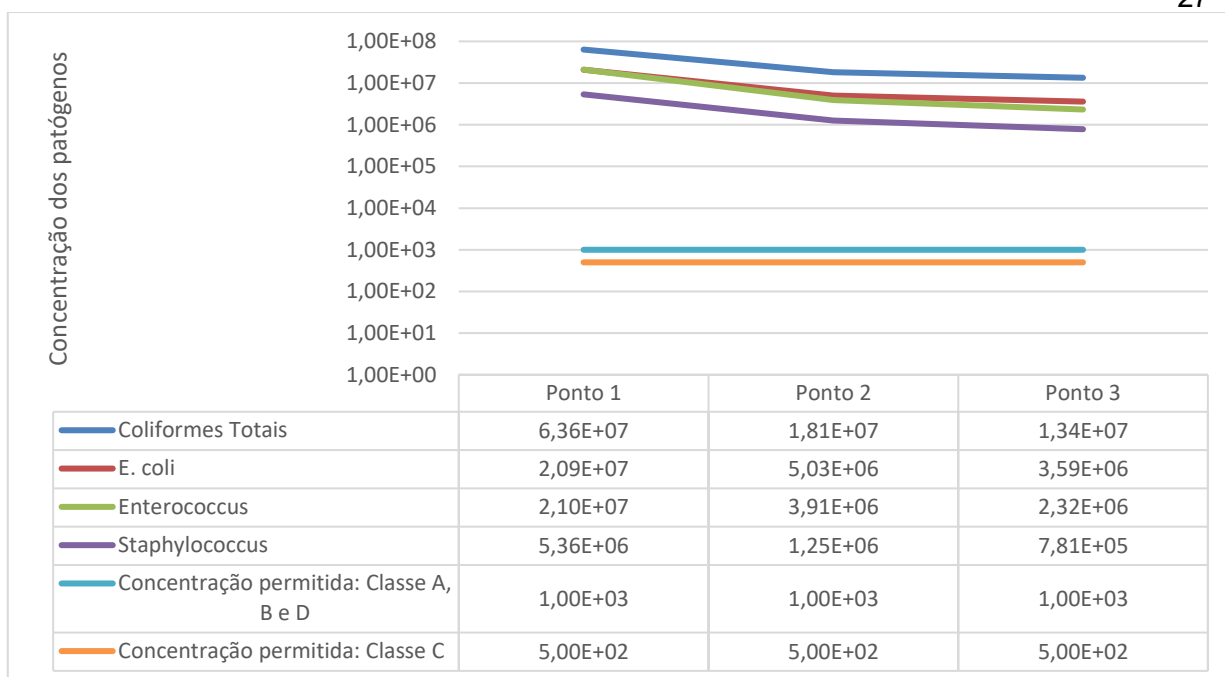


Figura 6. Gráfico da concentração média dos patógenos em UFC/100ml em cada etapa do tratamento de esgotos.

Fonte: Autoria Própria

4.2 TESTE DE SENSIBILIDADE A ANTIBIÓTICOS

4.2.1 Coliformes totais

As análises do perfil de sensibilidade à antibióticos das bactérias presentes nas amostras coletadas do ponto 1 (esgoto pós gradeamento) (Figura 7) mostram que os microrganismos isolados testados apresentaram resistência a penicilina e amoxicilina em todas as coletas realizadas (11). Os coliformes totais isolados que foram testados com azitromicina apresentaram resistência em >45% das análises, e em >54% das análises demonstraram sensibilidade ao fármaco. Os microrganismos isolados que foram testados com ceftriaxona apresentaram resistência em >45% das análises e sensibilidade ao antibiótico em >45% das análises. Das 11 análises, apenas 1 concluiu sensibilidade intermediária. Para coliformes totais testados com ciprofloxacino apresentaram resistência ao antibiótico em >63% das análises, e apresentaram sensibilidade em >27% delas. Das 11 amostras analisadas, em apenas 1 foi registrado sensibilidade intermediária.

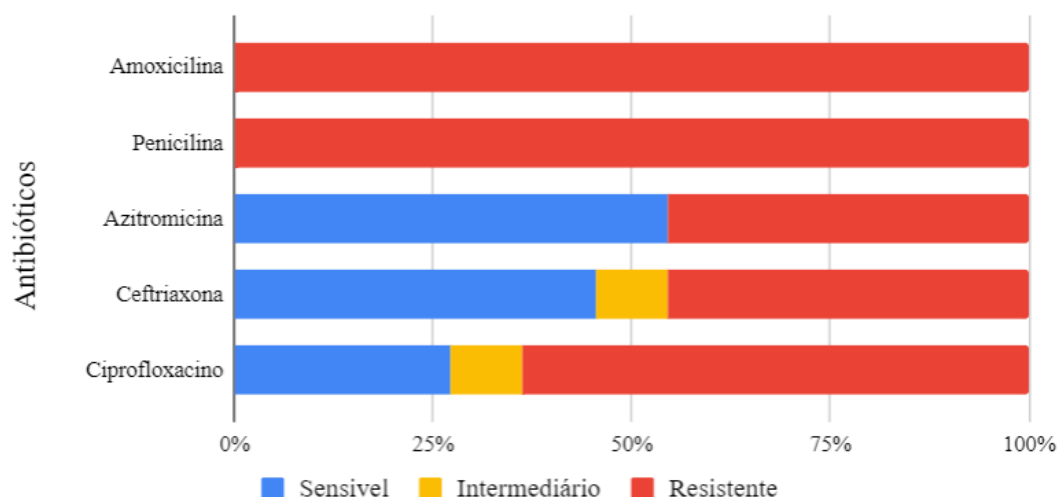


Figura 7. Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de coliformes totais coletados no esgoto pós gradeamento (Ponto 1).

Fonte: Autoria Própria.

A análise do perfil de sensibilidade antimicrobiana das bactérias isoladas das amostras do Ponto 2 evidenciaram que todos os microrganismos apresentaram resistência à penicilina e à amoxicilina, com 100% das 11 amostras analisadas resistentes a esses antibióticos. Nos testes realizados com azitromicina, bactérias do grupo coliformes totais apresentaram resistência em >45% das amostras, enquanto >54% demonstraram sensibilidade ao fármaco. Em relação à ceftriaxona, observou-se resistência em 36% dos isolados e sensibilidade em 46%, sendo ainda verificada sensibilidade intermediária em 18% dos casos. Para o ciprofloxacino, os coliformes totais exibiram resistência em >45% das amostras e sensibilidade em >36%, além de sensibilidade intermediária em 18% das análises, correspondendo a 2 das 11 amostras testadas (Fig 8).

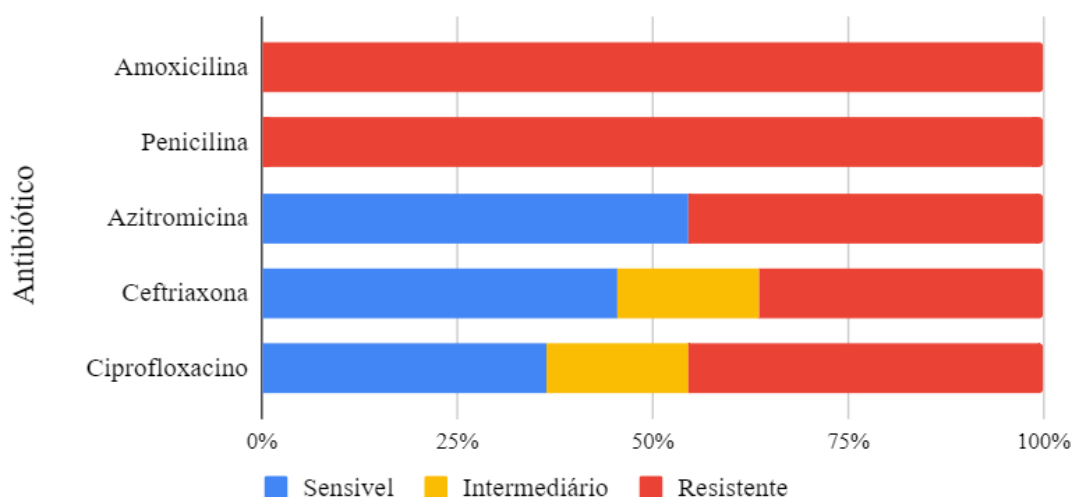


Figura 8. Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de coliformes totais coletados no esgoto pós UASB (Ponto 2).

Fonte: Autoria Própria.

A análise do perfil de sensibilidade antimicrobiana das bactérias isoladas das amostras do ponto 3 revelou (Fig. 9) que todos os microrganismos apresentaram resistência à penicilina e à amoxicilina (100% das 11 análises realizadas). Em relação à azitromicina, os coliformes totais apresentaram resistência em >54% e sensibilidade em >45% dos testes. Para a ceftriaxona, observou-se resistência em >54% das amostras e sensibilidade em >45%. Já no caso do ciprofloxacino, os coliformes totais demonstraram maior índice de resistência, correspondente a >72%, enquanto a sensibilidade foi registrada em >27% das análises. A falta de artigos referentes à análise do perfil de sensibilidade de coliformes totais para com os antibióticos analisados nesse estudo limita uma comparação de dados.

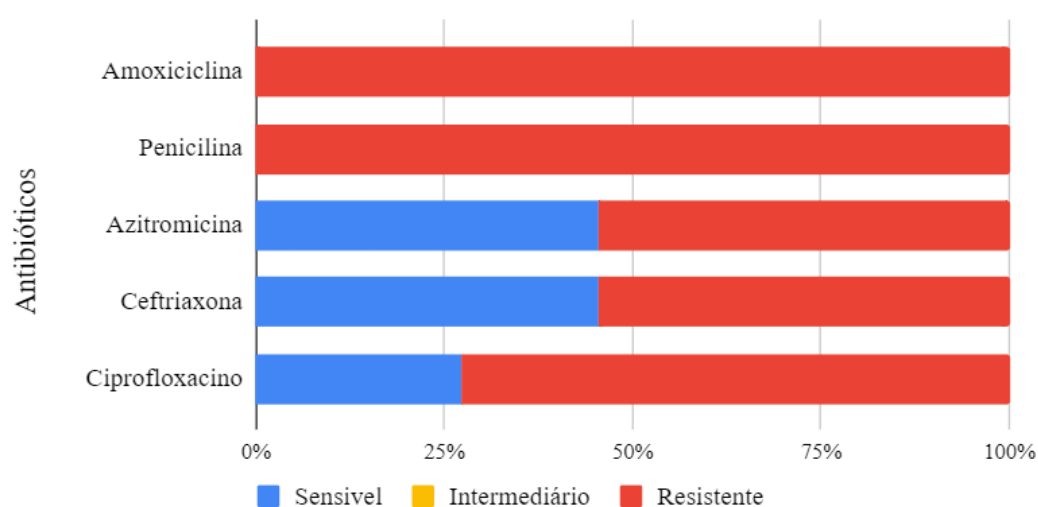


Figura 9. Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de coliformes totais coletados no esgoto pós cloração (Ponto 3).

Fonte: Autoria Própria.

4.2.2 *Escherichia coli*

A avaliação do perfil de sensibilidade antimicrobiana das bactérias isoladas das amostras do ponto 1 revelou que todos os microrganismos apresentaram resistência à penicilina e à amoxicilina, em 100% das 11 análises realizadas. No caso de *E. coli*, testada frente à azitromicina, observou-se resistência em 27% das amostras, enquanto 73% apresentaram sensibilidade ao fármaco. Para a ceftriaxona, a resistência foi de 64% das análises e sensibilidade em 27%, sendo ainda registrada sensibilidade intermediária em apenas uma das 11 amostras avaliadas. Em relação ao ciprofloxacino, os organismos isolados apresentaram resistência em 73% das análises, sensibilidade em 9% e sensibilidade intermediária em duas amostras testadas (Fig. 10).

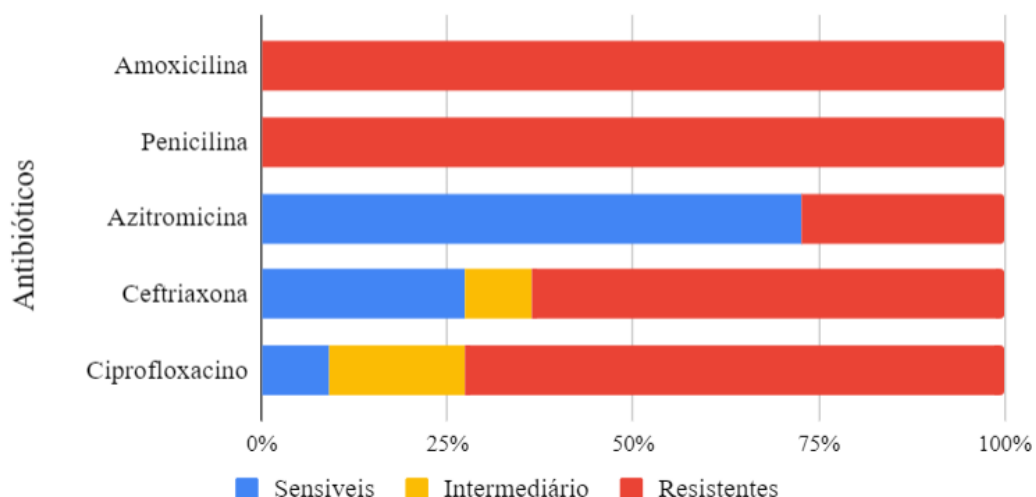


Figura 10. Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de *Escherichia coli* coletados no esgoto pós gradeamento (Ponto 1)

Fonte: Autoria Própria.

A análise do perfil de sensibilidade antimicrobiana das bactérias isoladas das amostras do Ponto 2 (Fig. 11) demonstrou que todos os microrganismos apresentaram resistência à penicilina e à amoxicilina em 100% das 11 amostras avaliadas. No caso de *E. coli* submetida ao teste com azitromicina, observou-se resistência em 18% das análises, enquanto 82% apresentaram sensibilidade ao fármaco. Para a ceftriaxona, os isolados apresentaram resistência em 55% das amostras e sensibilidade em 36%, sendo ainda registrada sensibilidade intermediária em 9% das análises. Com relação ao ciprofloxacino, os microrganismos isolados apresentaram elevados índices de resistência, correspondendo a 82% das amostras, enquanto 18% mostraram sensibilidade ao antibiótico.

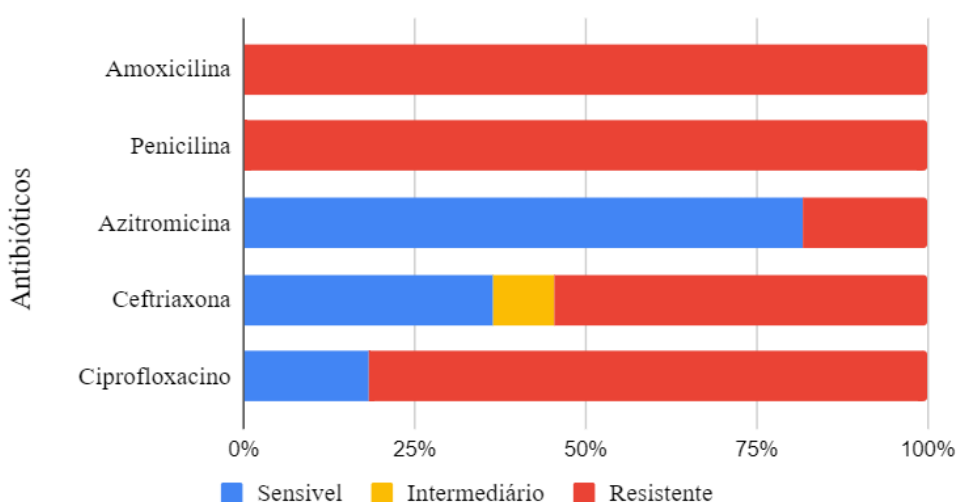


Figura 11. Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de *Escherichia coli* coletados no esgoto pós UASB (Ponto 2).

Fonte: Autoria Própria.

A avaliação do perfil de sensibilidade antimicrobiana das bactérias isoladas das amostras do ponto 3 (Figura 12) evidenciou resistência universal à penicilina e à amoxicilina, com 100% das 11 amostras analisadas apresentando resistência a esses antibióticos. No caso de *E. coli* testada frente à azitromicina, verificou-se resistência em 36% das análises, sensibilidade em 55% e sensibilidade intermediária em 9% das amostras. Em relação à ceftriaxona, os microrganismos isolados apresentaram resistência em 46% das análises, sensibilidade em 36% e sensibilidade intermediária em 9%. Para o ciprofloxacino, os coliformes totais exibiram elevados índices de resistência, correspondendo a 73% das amostras, enquanto 18% apresentaram sensibilidade e 9% demonstraram comportamento intermediário.

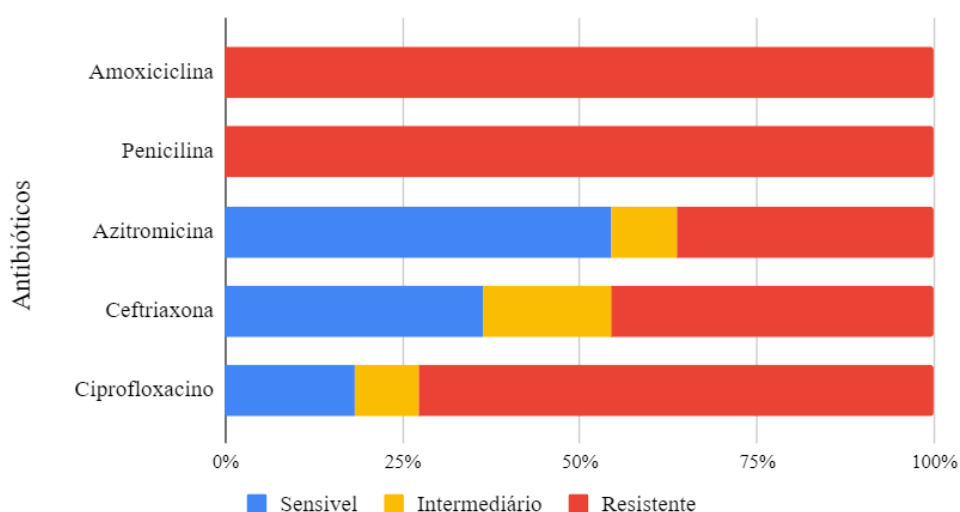


Figura 12. Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de *Escherichia coli* coletados no esgoto pós cloração (Ponto 3).

Fonte: Autoria Própria.

Esses índices de resistência observados são consideravelmente elevados quando comparados a estudos ambientais brasileiros. Silva et al. (2020) encontraram apenas 32,6% de resistência em *Escherichia coli* isoladas de águas superficiais no estado do Ceará, enquanto Vieira et al. (2019) relataram resistência a fluoroquinolonas em águas urbanas do Rio de Janeiro, porém em níveis inferiores aos identificados no presente trabalho. A elevada resistência dos microrganismos analisados demonstra uma intensa pressão seletiva no ambiente da ETE estudada, possivelmente associada à presença de resíduos de antibióticos e ao descarte de esgotos hospitalares. Esses resultados corroboram com as observações de Rizzo et al. (2013), que apontam as Estações de Tratamento de Esgoto (etes) como importantes hotspots para a disseminação de genes de resistência antimicrobiana.

Quando comparados aos achados de Custódio et al. (2025), que analisaram a distribuição global da resistência antimicrobiana em *E. coli* patogênica isolada de bezerros, observa-se um comportamento semelhante ao registrado neste estudo. Os autores identificaram maiores índices de resistência para as penicilinas e fluoroquinolonas, resistência intermediária para as cefalosporinas e menores níveis para os macrolídeos, como a azitromicina. Assim, o perfil obtido na ETE Candeia acompanha a tendência global observada em amostras de origem animal, sugerindo que a pressão seletiva gerada pelo uso constante e muitas vezes inadequado de antibióticos tanto em humanos quanto em animais constitui um fator determinante na disseminação de cepas resistentes.

A semelhança entre os resultados reforça a hipótese de que o esgoto urbano atua como um importante reservatório e via de disseminação de genes de resistência antimicrobiana, contribuindo para o fortalecimento do ciclo de contaminação entre o ambiente, os animais e o ser humano (AUGUET et al., 2017; RIZZO et al., 2013). Tais evidências demonstram a necessidade de aprimorar os processos de desinfecção e de implementar métodos complementares de tratamento, a fim de reduzir a presença e o risco ambiental de bactérias resistentes nos esgotos tratados.

4.2.3 *Staphylococcus* spp.

Nos testes de sensibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus* spp encontrados na amostra do ponto 1 (Figura 13) apresentou resistência a penicilina e azitromicina em 100% das análises. Nos testes de sensibilidade à amoxicilina as bactérias apresentaram resistência em 91% das análises e apresentaram sensibilidade intermediária em 9%. Quando os microrganismos foram testados com ceftriaxona eles apresentaram sensibilidade ao fármaco em 9% das análises e mostraram resistência em 82%. A sensibilidade intermediária foi vista em 9% das análises. Quando expostos ao ciprofloxacino, as bactérias apresentaram sensibilidade ao medicamento em 10% das análises e apresentaram resistência ao mesmo em 70% dos testes. A sensibilidade intermediária foi vista em 20% das análises.

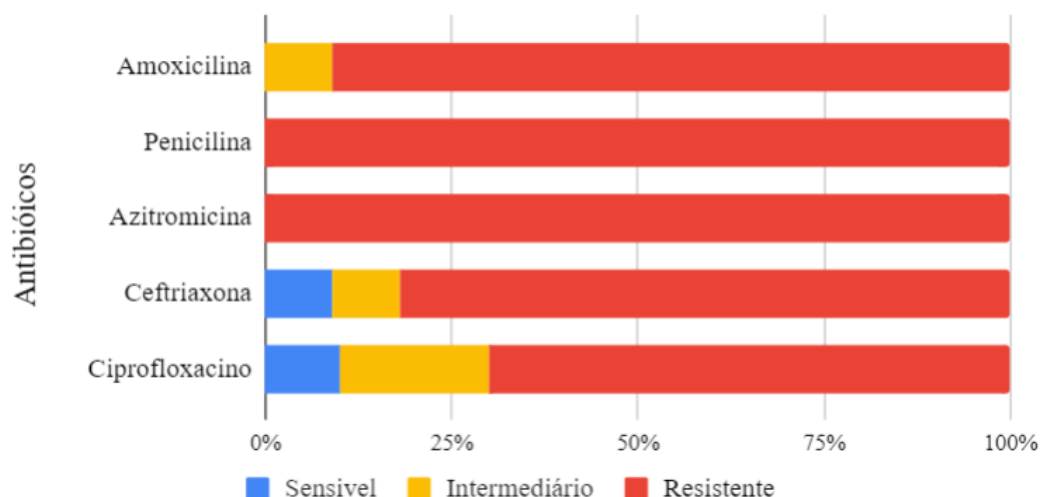


Figura 13. Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de *Staphylococcus* spp coletados no esgoto pós gradeamento (Ponto 1).

Fonte: Autoria Própria.

Nos testes de sensibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus* spp encontrados na amostra do Ponto 2 (Fig. 14) apresentou resistência a penicilina e azitromicina em 100% das análises. Nos testes de sensibilidade à amoxicilina as bactérias apresentaram resistência em 90% das análises e apresentaram sensibilidade em 10%. Quando os microrganismos foram testados com ceftriaxona eles apresentaram sensibilidade ao fármaco em 10% das análises e mostraram resistência em 90%. Quando expostos ao ciprofloxacino, as bactérias apresentaram sensibilidade ao medicamento em 27% das análises e apresentaram resistência ao mesmo em 73% dos testes.

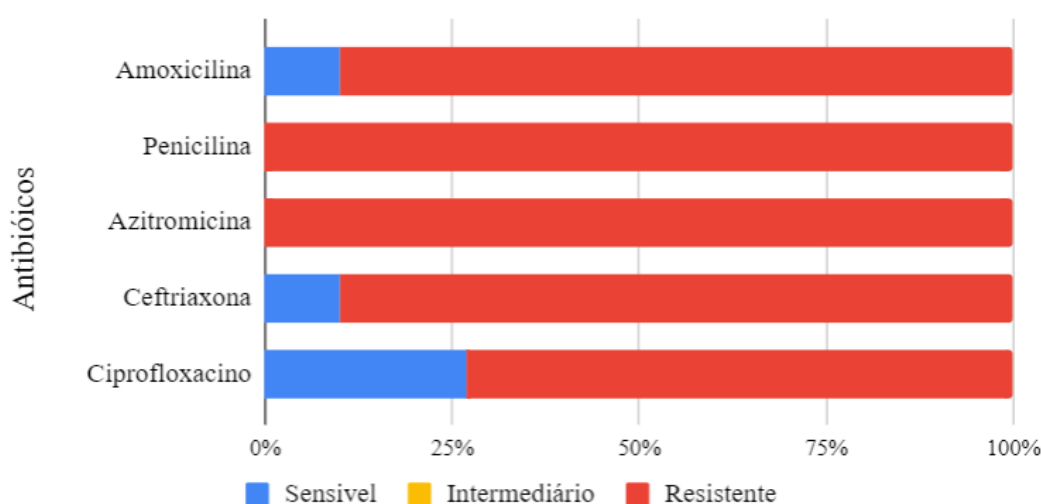


Figura 14. Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de *Staphylococcus* spp coletados no esgoto pós UASB (Ponto 2).

Fonte: Autoria Própria.

Nos testes de sensibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus* spp encontrados na amostra do Ponto 3 (Figura 15) foi apresentado resistência a penicilina, azitromicina e

ceftriaxona em 100% das análises. Nos testes de sensibilidade à amoxicilina as bactérias apresentaram resistência em 80% das análises e apresentaram sensibilidade em 20%. Quando expostos ao ciprofloxacino, as bactérias apresentaram sensibilidade ao medicamento em 20% das análises e apresentaram resistência ao mesmo em 80% dos testes.

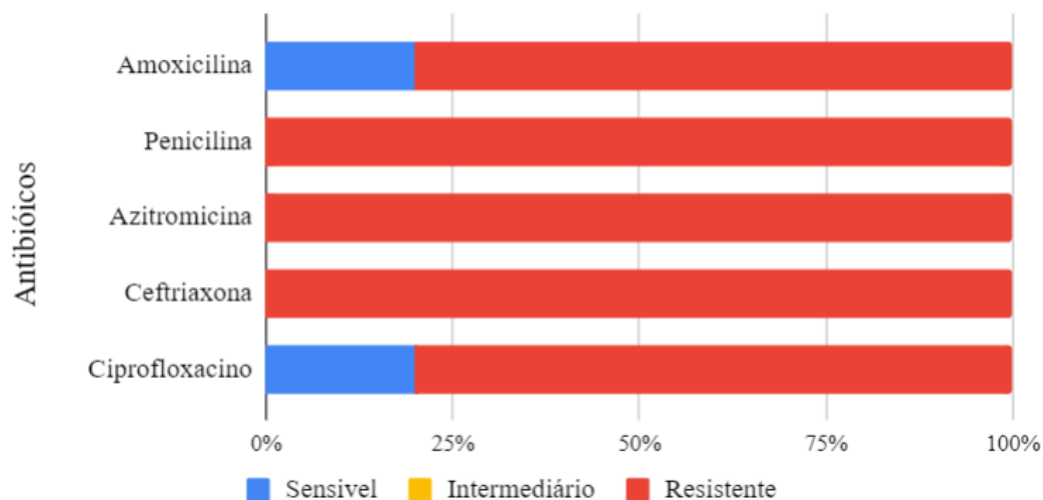


Figura 15. Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de *Staphylococcus*. spp coletados no esgoto pós Cloração (Ponto 3)

Fonte: Autoria Própria.

Quando comparados os resultados obtidos neste estudo com os de Ouédraogo et al. (2022), observa-se que o perfil de resistência de *Staphylococcus* spp. à ceftriaxona e ao ciprofloxacino segue uma tendência semelhante à observada em outros ambientes, embora com índices consideravelmente mais elevados nas amostras analisadas na ETE Candeia. No presente trabalho, as cepas isoladas de *Staphylococcus* spp. apresentaram altos níveis de resistência à ceftriaxona, variando de 82% no esgoto pós gradeamento a 100% no esgoto pós-cloração, enquanto no estudo de Ouédraogo et al. (2022), os isolados clínicos e ambientais de *S. aureus* mostraram apenas 15,21% de resistência à ceftriaxona, evidenciando uma discrepância significativa entre os ambientes estudados. Essa diferença pode ser atribuída ao fato de que os esgotos de esgoto urbano e hospitalar, como os da ETE Candeia, frequentemente acumulam resíduos de antibióticos e microrganismos oriundos de diferentes fontes, o que intensifica a pressão seletiva e, conseqüentemente, a prevalência de cepas resistentes.

No caso do ciprofloxacino, a resistência encontrada no presente estudo também foi mais elevada, variando de 70% a 80%, enquanto Ouédraogo et al. (2022) relataram apenas 15,2% de resistência para o mesmo antibiótico. A discrepância observada pode estar associada ao uso disseminado das fluoroquinolonas tanto na medicina humana quanto veterinária, além da presença de resíduos desses compostos nos esgotos domésticos e hospitalares, o que favorece a seleção e a manutenção de bactérias resistentes no ambiente aquático (RIZZO et al., 2013).

De modo semelhante, ao comparar os resultados do presente estudo com os dados

reportados por Tshokeng et al. (2019), observa-se que o perfil de resistência de *Staphylococcus* spp. aos antibióticos penicilina, amoxicilina e azitromicina também segue um padrão de resistência elevado, compatível com o encontrado em diferentes ambientes, mas com índices ainda mais expressivos nas amostras analisadas na ETE Candeia. As cepas de *Staphylococcus* spp. apresentaram 100% de resistência à penicilina em todas as etapas do tratamento e 80% à amoxicilina após a cloração. A resistência à azitromicina também foi alta, atingindo 90% nas amostras do efluente final. Esses resultados indicam que as etapas de tratamento de esgoto não foram suficientes para eliminar cepas resistentes, sugerindo um processo de seleção bacteriana contínuo ao longo das fases do tratamento.

No estudo conduzido por Tshokeng et al. (2019), que investigou isolados ambientais de *Staphylococcus aureus* na África do Sul, observou-se resistência de 96,7% à penicilina, 86,7% à amoxicilina e 73,3% à azitromicina. Embora os percentuais sejam ligeiramente inferiores aos encontrados neste trabalho, ambos os estudos apontam a penicilina como o antibiótico de menor eficácia frente a *Staphylococcus* spp., evidenciando a disseminação global de cepas produtoras de β -lactamases.

A comparação entre os resultados obtidos neste estudo e os apresentados na literatura demonstra que os antibióticos β -lactâmicos, como penicilina e amoxicilina, vêm apresentando eficácia cada vez menor contra *Staphylococcus* spp. em ambientes contaminados, consequência direta da pressão seletiva gerada pelo uso contínuo e inadequado desses fármacos em humanos e animais. A elevada resistência à azitromicina, um macrolídeo amplamente utilizado em terapias clínicas, também indica a possibilidade de resistência cruzada mediada por genes como *erm* e *msr*, frequentemente relatados em isolados ambientais e clínicos (RIZZO et al., 2013).

De forma geral, os resultados deste estudo reforçam que o esgoto urbano pode atuar como um reservatório crítico de genes de resistência antimicrobiana, especialmente para antibióticos de amplo espectro, como as cefalosporinas, fluoroquinolonas e β -lactâmicos. Tal cenário exige atenção especial quanto à eficiência dos processos de desinfecção e ao monitoramento microbiológico contínuo nas Estações de Tratamento de Esgoto, visando mitigar a disseminação de microrganismos multirresistentes no ambiente (AUGUET et al., 2017; RIZZO et al., 2013).

4.2.4 *Enterococcus* spp.

Ao analisar os resultados do teste de sensibilidade aos antibióticos amoxicilina, penicilina e ceftriaxona em colônias isoladas de *Enterococcus* spp. presentes nas amostras do Ponto 1 foi constatado resistência em 60% das análises e sensibilidade em 40%. Os testes de sensibilidade ao antibiótico azitromicina mostrou resistência em 89% das análises e sensibilidade intermediária em 11%. Quando os microrganismos foram expostos ao antibiótico

ciprofloxacino eles apresentaram resistência em >37% das análises e sensibilidade em >62% (Fig. 16).

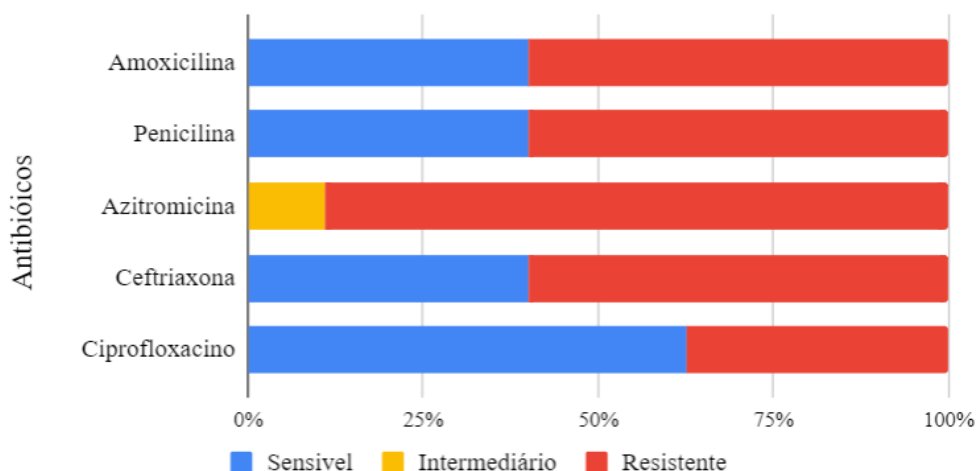


Figura 16. Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de *Enterococcus* spp coletados no esgoto pós gradeamento (Ponto 1).

Fonte: Autoria Própria.

Ao analisar os resultados do teste de sensibilidade aos antibióticos penicilina e ceftriaxona em colônias isoladas de *Enterococcus* spp. presentes nas amostras do Ponto 2 (Fig 21) foi constatado resistência em 60% das análises e sensibilidade em 40%. As análises do perfil de sensibilidade desse microrganismo referente ao antibiótico amoxicilina mostraram resistência em 30% dos casos e sensibilidade em 70%. Os testes de sensibilidade ao antibiótico azitromicina mostrou resistência em 70% das análises e sensibilidade intermediária em 30%. Quando os microrganismos foram expostos ao antibiótico ciprofloxacino eles apresentaram resistência em 27% das análises e sensibilidade em 73% (Fig. 17).

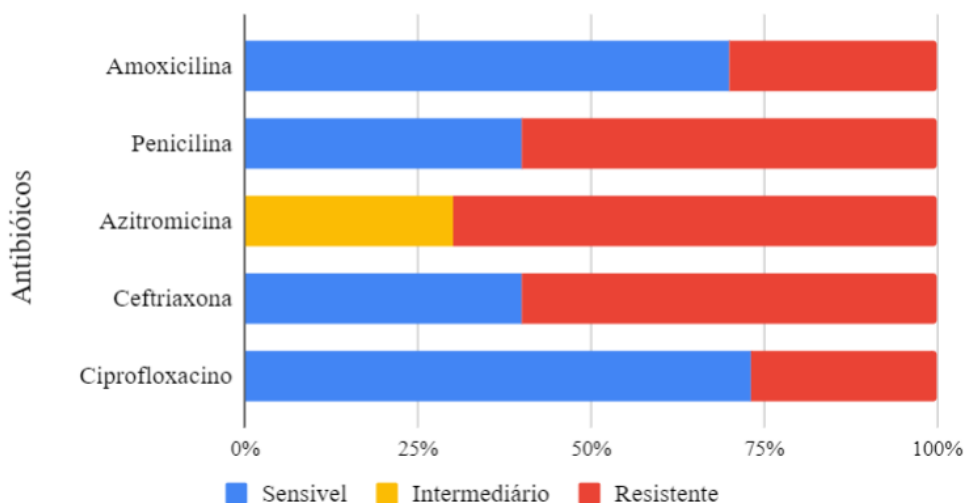


Figura 17. Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de *Enterococcus* spp coletados no esgoto pós UASB (Ponto 2).

Fonte: Autoria Própria.

Ao analisar os resultados do teste de sensibilidade aos antibióticos amoxicilina presentes nas amostras do ponto 3 foi constatado perfil de resistência em 80% das análises e perfil de sensibilidade em 20%. Quando expostos à penicilina, a bactéria apresentou resistência em 100% das análises. Os testes de sensibilidade ao antibiótico azitromicina mostrou resistência em 90% das análises e sensibilidade em 10%. Quando os microrganismos foram expostos ao antibiótico ceftriaxona eles apresentaram resistência em 80% das análises, sensibilidade em 10% e sensibilidade intermediária em 10%. Quando expostos ao ciprofloxacino o perfil de resistência foi visto em 64% das análises e o perfil de sensibilidade foi visto em 36% (Fig. 18).

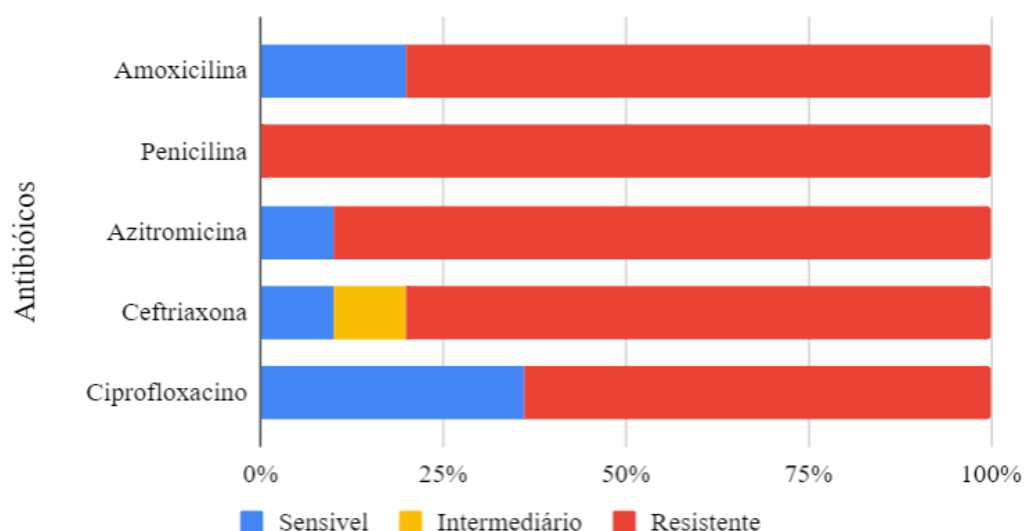


Figura 18. Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de *Enterococcus*. spp coletados no esgoto pós cloração (Ponto 3).

Fonte: Autoria Própria.

Comparando esses achados com os resultados apresentados por Silva et al. (2006), nota-se que ambos os estudos identificaram resistência relevante de *Enterococcus spp.* a antibióticos amplamente utilizados na prática clínica. No artigo, *E. faecalis* e *E. faecium* apresentaram resistência de até 57% à eritromicina (macrolídeo equivalente à azitromicina), 33% ao ciprofloxacino e baixa resistência à amoxicilina. Assim como observado no presente trabalho, o ciprofloxacino apresentou níveis menores de resistência quando comparado aos macrolídeos, enquanto os β -lactâmicos mantiveram eficácia variável. No entanto, o presente estudo demonstrou índices de resistência muito mais elevados para os antibióticos penicilina e amoxicilina, indicando uma pressão seletiva mais intensa no ambiente estudado, possivelmente relacionada à presença contínua desses fármacos nos esgotos domésticos e hospitalares.

Portanto, ao confrontar os resultados, verifica-se que tanto neste estudo quanto no de Silva et al. (2006) as ETEs atuam como ambientes de persistência e disseminação de *Enterococcus spp.* resistentes. Contudo, os valores mais altos encontrados neste trabalho sugerem que as cepas isoladas no município de Bauru apresentam resistência ampliada aos β -

lactâmicos e macrolídeos, o que representa um risco significativo à saúde pública e reforça a necessidade de aprimorar os processos de desinfecção e o monitoramento contínuo da resistência bacteriana nos esgotos tratados.

5. DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram que, o processo de tratamento na ETE não apresentou uma remoção de patógenos significativa. Houve persistência de coliformes totais, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp. E *Enterococcus* spp que apresentaram uma concentração acima do limite permitido pela lei. Mesmo após a cloração. Esse achado evidencia uma limitação importante da etapa de desinfecção e confirma que as estações de tratamento podem atuar como ambientes de seleção, manutenção e disseminação de bactérias resistentes, como já apontado na literatura (AUGUET et al., 2017; RIZZO et al., 2013).

A alta prevalência de resistência antimicrobiana observada em todos os grupos bacterianos analisados, especialmente frente à penicilina e à amoxicilina, corrobora a preocupação crescente com a disseminação de genes de resistência em ambientes associados ao saneamento. Esse fenômeno ocorre porque os esgotos concentram resíduos de antibióticos e microrganismos provenientes do uso humano, exercendo pressão seletiva contínua sobre as comunidades microbianas (SILVA; ESTEVAM; NOGUEIRA, 2024). Assim, a sobrevivência de bactérias resistentes mesmo após a cloração não é inesperada e tem sido observada em diferentes sistemas de tratamento (RIZZO et al., 2013).

No presente estudo, coliformes totais e *E. coli* apresentaram considerável resistência não apenas a β -lactâmicos, mas também à ciprofloxacino e à azitromicina, o que reforça o potencial risco sanitário e de saúde pública, considerando que tais bactérias são amplamente utilizadas como indicadoras de contaminação fecal e estão associadas a gastroenterites de relevância clínica. Os autores AUGUET et al. (2017) demonstram que o esgoto e seus biofilmes atuam como hotspots de resistência bacteriana, favorecendo a troca horizontal de genes — cenário coerente com a detecção, neste trabalho, de microrganismos resistentes mesmo após o tratamento.

A persistência de *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus* spp. resistentes no efluente final também representa um alerta, pois ambas são bactérias associadas a infecções de difícil tratamento e com histórico de multirresistência. PERES (2011) destaca que biofilmes presentes em sistemas de água e esgoto funcionam como reservatórios microbianos, protegendo as células da ação de desinfetantes, o que explica a resiliência observada no sistema analisado.

Outro aspecto relevante é que a cloração apresenta limitações conhecidas: além de ser um tratamento caro e não eliminar integralmente microrganismos, pode reagir com matéria orgânica e formar subprodutos potencialmente tóxicos, como trihalometanos (ANDREOLA et al., 2005). Isso significa que aumentar a dosagem de cloro não é necessariamente uma solução segura ou eficaz, e reforça a importância de tecnologias complementares, como radiação UV, ozonização, filtração por membranas ou sistemas

híbridos — estratégia já sugerida por Rizzo et al. (2013) como caminho promissor para mitigação da resistência.

Dessa forma, os resultados obtidos diaLogam com o conceito de Saúde Única (One Health), no qual a resistência antimicrobiana é entendida como um fenômeno interligado entre ambiente, animais e humanos. A disseminação ambiental de bactérias resistentes a partir de ETEs, como observado neste trabalho, representa um risco concreto de reintrodução desses microrganismos no ciclo humano, seja por contato recreacional, reúso ou contaminação de corpos hídricos (SILVA; ESTEVAM; NOGUEIRA, 2024).

6. CONCLUSÃO

Os dados obtidos demonstram que a ETE avaliada não apresentou uma remoção de patógenos satisfatória, não foi capaz de eliminar completamente microrganismos patogênicos e indicadores, permitindo a liberação de cepas resistentes no efluente final. A alta resistência observada em coliformes totais, *E. coli*, *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus* spp., sobretudo frente a penicilina e amoxicilina, indica que os processos convencionais de tratamento, especialmente a cloração, não são plenamente eficazes diante do avanço da resistência antimicrobiana.

Esse cenário reforça a necessidade de revisão das tecnologias de desinfecção empregadas na estação de tratamento de esgoto (ETE), bem como de monitoramento contínuo de bactérias resistentes nos esgotos, incluindo o acompanhamento do resistoma ambiental. Além disso, os resultados fortalecem a compreensão de que o combate à resistência antimicrobiana precisa integrar ações de vigilância, saneamento e uso racional de antibióticos, em consonância com o paradigma One Health (abordagem colaborativa que reconhece a interconexão entre a saúde humana, animal, vegetal e ambiental).

Por fim, o estudo evidencia que ETEs podem atuar como fontes silenciosas de disseminação de resistência bacteriana, sendo urgente investir em tecnologias avançadas, políticas públicas específicas, educação ambiental e pesquisas aplicadas, de modo a reduzir os riscos ambientais e de saúde pública associados ao lançamento desses esgotos no ambiente.

REFERÊNCIAS

- ALDRED, Katie J.; KERNS, Robert J.; OSHEROFF, Neil. Mechanism of quinolone action and resistance. **Biochemistry**, v. 53, n. 10, p. 1565-1574, 2014.
- ANDREOLA, Ricardo et al. Formação de trialometas em uma estação de tratamento de água. **Acta Scientiarum. TechnoLogy**, v. 27, n. 2, p. 133-141, 2005.
- AUGUET, O., Pijuan, M., Borrego, C. M., Rodriguez-Mozaz, S., Triadó-Margarit, X., Della Giustina, S. V., & Gutierrez, O. (2017). Sewers as potential reservoirs of antibiotic resistance. *Science of the Total Environment*, 605, 1047-1054.
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA)**. Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357/2005. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 16 maio 2011.
- Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST). *Tabelas de pontos de corte clínicos do BrCAST-EUCAST. Versão válida a partir de 01 fev. 2025*. Rio de Janeiro: BrCAST; 2025. Disponível em: <https://brcast.org.br/documentos/documentos-3/>. Acesso em: 21 out. 2025.
- CHO, Hongbaek; UEHARA, Tsuyoshi; BERNHARDT, Thomas G. Beta-lactam antibiotics induce a lethal malfunctioning of the bacterial cell wall synthesis machinery. *Cell*, v. 159, n. 6, p. 1300–1311, 2014.
- CONTI, F., Rada, E., Viotti, P., & Raboni, M. (2021). Removal and Survival of Fecal Indicators in a Constructed Wetland after UASB Pre-Treatment. *Sustainability*. <https://doi.org/10.3390/su13169302>.
- CUSTÓDIO, Dircéia A. C. *et al.* Global distribution of antimicrobial resistance in pathogenic *Escherichia coli* isolated from calves: a systematic review. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 45, e07618, 2025. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-7618.
- DA SILVA, Lillian Oliveira Pereira; ESTEVAM, Letícia Brasil; NOGUEIRA, J. M. R. Disseminação da resistência aos antimicrobianos no contexto de saúde única: uma breve revisão. **RBAC**
- DA SILVA, Luana Carrara; CARDOSO, Alexander; VIEIRA, Jessica Many B. Dias. Dispersão da resistência a antimicrobianos no ambiente sob o conceito de Saúde Única. **Concilium**, v. 22, n. 6, p. 937-948, 2022.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 15.0. Valid from 01 Jan 2025*. Basel: EUCAST; 2025. Disponível em: https://www.eucast.org/clinical_breakpoints. Acesso em: 21 out. 2025.
- LOBANOVSKA, M., & Pilla, G. (2017). Penicillin's discovery and antibiotic resistance: Lessons for the future? *The Yale Journal of BioLogY and Medicine*, 90(1), 135–145.
- LIN, Xuemei; KÜCK, Ulrich. Cephalosporins as key lead generation beta-lactam antibiotics. *Applied microbioLogY and biotechnoLogY*, v. 106, n. 24, p. 8007–8020, 2022.

OUÉDRAOGO, G. A. et al. *Spread and antibiotic resistance profile of pathogens isolated from human and hospital wastewater in Ouagadougou. Microbes and Infectious Diseases*, v. 3, n. 2, p. 318–331, 2022.

PARNHAM, M. J. et al. Azithromycin: mechanisms of action and their relevance for clinical applications. *Pharmacology & therapeutics*, v. 143, n. 2, p. 225–245, 2014.

PEREIRA, Ana Leonor; PITA, João Rui. Alexander Fleming (1881-1955): da descoberta da penicilina (1928) ao Prémio Nobel (1945). *História. Revista da Faculdade de Letras da Universidade do Porto*, III série, v. 6, p. 129-151, 2005.

PERES, Bianca de Miranda. Bactérias indicadoras e patogênicas em biofilmes de sistemas de tratamento de água, sistemas contaminados e esgoto. 2012. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, University of São Paulo, São Paulo, 2012. doi:10.11606/D.42.2012.tde-01082012-110132. Acesso em: 2024-06-05.

PINTO, G. M. F. et al. Estudo do descarte residencial de medicamentos vencidos na região de Paulínia (SP), Brasil. *Engenharia sanitária e ambiental*, v. 19, n. 3, p. 219–224, 2014.

POMPEI, Caroline Moço Erba *et al.* Total coliforms, *E. coli*, *Enterococcus* spp., and *Staphylococcus* spp. removal in vertical tubular photobioreactor with and without support medium. *Environmental pollution (Barking, Essex: 1987)*, v. 367, n. 125605, p. 125605, 2025.

PULJKO, A., Milakovic, M., Križanović, S., Kosić-Vukšić, J., Babić, I., Petrić, I., Maravić, A., Jelić, M., & Udiković-Kolić, N. (2021). Prevalence of enteric opportunistic pathogens and extended-spectrum cephalosporin- and carbapenem-resistant coliforms and genes in wastewater from municipal wastewater treatment plants in Croatia.. *Journal of hazardous materials*, 427, 128155. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.128155>.

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

S. R *et al.* A review on the use of third-generation cephalosporins on gram-positive and gram-negative bacteria based on its spectrum of activity. *Recent Trends in Pharmaceutical Sciences and Research* (e-ISSN: 2583-5718), p. 1–7, 2024.

SILVA, Fernando José Araújo da; LIMA, Maria Gorethe de Sousa; MENDONÇA, Luiz Alberto Ribeiro; MENEZES, Osmar Luiz Moreira P. Fonseca de. *Coliformes (totais, termotolerantes e E. coli) em esgotos de sistemas de tratamento anaeróbio*. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL**, 32., 2023, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: ABES, 2023. p. 1–7.

SILVA, M. F. da et al. *Antibiotic resistance of enterococci and related bacteria in an urban wastewater treatment plant. FEMS Microbiology Ecology*, v. 55, n. 2, p. 322–329, 2006.

SINGER, Phillip C. Formation and characterization of disinfection by-products. *Safety of Water Disinfection: Balancing Chemical & Microbial Risks*, p. 201, 1993.

TSHOKENG, L. M. et al. *Antimicrobial resistance patterns of environmental Staphylococcus aureus isolates from the Eastern Cape Province, South Africa. World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 35, n. 2, p. 1–11, 2019.

VELOSO, B. (1995). Penicilina: a lenda, a história e os acasos. *Medicina Interna*, 2(3), 193-201.