

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

VITOR LEANDRO BARBOSA

**IDENTIFICAÇÃO E REMOÇÃO DE MULTIRRESISTÊNCIA BACTERIANA EM
ESGOTO SANITÁRIO TRATADO POR UM REATOR DE MICROALGAS**

BAURU

2025

VITOR LEANDRO BARBOSA

**IDENTIFICAÇÃO E REMOÇÃO DE MULTIRRESISTÊNCIA BACTERIANA EM
ESGOTO SANITÁRIO TRATADO POR UM REATOR DE MICROALGAS**

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

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Caroline Moço Erba
Pompei

BAURU

2025

VITOR LEANDRO BARBOSA

**IDENTIFICAÇÃO E REMOÇÃO DE MULTIRRESISTÊNCIA BACTERIANA EM
ESGOTO SANITÁRIO TRATADO POR UM REATOR DE MICROALGAS**

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

Bauru, 26 de novembro de 2025.

Comissão Examinadora:

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

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

Prof. Dr. Filipe Pereira Matteoli
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Bauru/SP

B238i Barbosa, Vitor Leandro
Identificação e remoção de multirresistência bacteriana
em esgoto sanitário tratado por um reator de microalgas /
Vitor Leandro Barbosa. -- Bauru, 2025
52 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. Microalgas. I. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, verdadeiro responsável por cada passo da minha caminhada e por eu ter chegado até aqui. Sou imensamente grato pela vida, pelas oportunidades que ele me concedeu e pela força que me sustentou em todos os momentos difíceis e desafiadores.

Ao meu pai Silvio e minha mãe Márcia por todo apoio e investimento nesse percurso. Vocês sempre foram minha inspiração para não desistir.

A minha irmã Francisleide por sempre estar do meu lado, por acreditar em cada um dos meus sonhos e não permitir que eu desistisse deles. Sou profundamente grato pelo amor, carinho, atenção e apoio incondicional que sempre me ofereceu. Sem você, nada disso seria possível, e tenho certeza que essa conquista também é sua.

A minha amiga Raira que, desde que entrou na minha vida, me fez acreditar que eu era capaz de realizar meus sonhos. Sua amizade sempre me proporcionou os melhores conselhos e palavras de incentivo, iluminando meus dias.

A Prof^ª. Dr^ª. Caroline Moço Erba Pompei por toda confiança depositada, pela orientação dedicada, pelos ensinamentos valiosos e por compartilhar comigo dias de intenso trabalho e aprendizado. Sou imensamente grato por todo apoio ao longo dessa jornada.

Aos meus colegas, como Laís, Julie, Pedro e aos técnicos com quem tive a oportunidade de compartilhar o Laboratório de Saneamento da Unesp, agradeço pelo companheirismo e disposição. Em especial, a Gabriela, pela paciência em ensinar, pela confiança e pelo apoio que fizeram toda diferença na minha trajetória.

A todos meus amigos e colegas da Universidade, que me acompanharam e me inspiraram ao longo desta jornada, em especial, André, Fabiana, Gabriel, Bianca, Laura, Felipe, Luiz, Manuela, Maria Eduarda, Leticia, Hugo e Paulo.

Agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de São Paulo (Fapesp) pelo financiamento concedido para o desenvolvimento desta pesquisa por meio do auxílio à pesquisa coordenado pelo Prof Dr. Gustavo Henrique Ribeiro da Silva, processo número 2022/07475-3.

RESUMO

A multirresistência bacteriana constitui uma preocupação mundial, agravada pela ineficiência do saneamento básico no Brasil, que favorece a disseminação de bactérias resistentes a antibióticos. Nesse contexto, sistemas de tratamento baseados em microalgas surgem como alternativas sustentáveis para a remoção de patógenos e a melhoria da qualidade dos efluentes. Dessa forma, o presente estudo identificou bactérias multirresistentes (coliformes totais, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. e *Staphylococcus* spp.) a cinco antibióticos (penicilina, amoxicilina, ciprofloxacino, azitromicina e tetraciclina) em esgoto sanitário bruto tratado por um reator de microalgas. As bactérias foram isoladas e submetidas a testes de susceptibilidade antimicrobiana usando o método de difusão em ágar. Os isolados apresentaram resistência múltipla, com destaque para coliformes totais (100% de resistência a penicilina e amoxicilina), *Escherichia coli* (100% de resistência a penicilina, amoxicilina e ciprofloxacino), *Enterococcus* spp. (100% de resistência à azitromicina) e *Staphylococcus* spp. (90-100% de resistência a todos os antibióticos testados). Quanto às remoções dos patógenos pelo reator, observaram-se médias de 3,6 log para coliformes totais, 2,2 log para *Escherichia coli*, 1,7 log para *Enterococcus* spp., e 1,3 log para *Staphylococcus* spp.. Os resultados demonstram que, embora o sistema de microalgas reduza minimamente a quantidade de bactérias, as cepas mais resistentes tendem a sobreviver, incentivando novos estudos a fim de mitigar essa problemática.

Palavras-chave: Multirresistência bacteriana; Antibióticos; Esgoto sanitário; Microalgas.

ABSTRACT

Multidrug resistance in bacteria is a global concern, exacerbated by the inefficiency of basic sanitation in Brazil, which favors the spread of antibiotic-resistant bacteria. In this context, microalgae-based treatment systems emerge as sustainable alternatives for pathogen removal and effluent quality improvement. Thus, the present study identified multidrug-resistant bacteria (total coliforms, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., and *Staphylococcus* spp.) to five antibiotics (penicillin, amoxicillin, ciprofloxacin, azithromycin, and tetracycline) in raw sewage treated by a microalgae reactor. The bacteria were isolated and subjected to antimicrobial susceptibility testing using the agar diffusion method. The isolates showed multiple resistance, especially total coliforms (100% resistance to penicillin and amoxicillin), *Escherichia coli* (100% resistance to penicillin, amoxicillin, and ciprofloxacin), *Enterococcus* spp. (100% resistance to azithromycin), and *Staphylococcus* spp. (90-100% resistance to all antibiotics tested). As for pathogen removal by the reactor, averages of 3,6 log were observed for total coliforms, 2,2 log for *Escherichia coli*, 1,7 log for *Enterococcus* spp., and 1,3 log for *Staphylococcus* spp. The results show that, although the microalgae system minimally reduces the amount of bacteria, the most resistant strains tend to survive, encouraging further studies to mitigate this problem.

Keywords: Bacterial multidrug resistance; Antibiotics; Sanitary sewage; Microalgae.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo geral	12
2.2 Objetivos específicos	12
3 MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Coleta e processamento das amostras do esgoto	13
3.2 Reator de microalgas	14
3.3 Preparo de amostras	15
3.4 Inoculação de amostras	16
3.5 Isolamento e identificação das bactérias do esgoto	17
3.6 Teste de suscetibilidade aos antibióticos	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 Médias dos parâmetros analisados	21
4.2 Remoção de patógenos	22
4.3 Fenótipo de resistência a antibióticos	23
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
6 CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

1 INTRODUÇÃO

O saneamento básico é definido conforme a Lei nº 14.026/2020 (BRASIL, 2020) como a provisão universal de serviços essenciais que assegurem a todos os cidadãos o acesso a um fornecimento de água de boa qualidade e em quantidade adequada às suas necessidades, o que inclui coleta e tratamento apropriados de esgoto, água de consumo, resíduos sólidos, bem como a drenagem urbana.

Ao longo do tempo, a implementação desses serviços teve variações conforme as épocas e sociedades. As primeiras práticas de saneamento remontam à Roma Antiga, onde foi criado um dos primeiros sistemas de esgoto em larga escala, conhecido como Cloaca Máxima, um importante exemplo de integração entre drenagem e aquedutos (Athaydes; Parolin; Crispim, 2020). Em contrapartida, durante a Idade Média, houve um período caracterizado pela estagnação nas técnicas de saneamento, o que contribuiu para o surto de várias doenças e epidemias (Rocha; Rosa; Cardoso, 2009; Dos Reis Nunes; Diaz, 2020).

Enquanto a universalização desses serviços básicos no Brasil passou por um atraso desde a chegada dos colonizadores portugueses, durante o período colonial, as primeiras ações de saneamento restringiram-se a iniciativas privadas (Heller *et al.*, 2018; Reis Nunes; Diaz, 2020; Rodrigues *et al.*, 2022). Algumas obras pontuais foram realizadas, porém a infraestrutura sanitária abrangia apenas centros urbanos (Rodrigues *et al.*, 2022). Somente em 1918 foi criada a Liga Pró-Saneamento do Brasil, com objetivo de combater doenças, contribuindo para o início da centralização dos serviços básicos de saúde e saneamento em nível federal (Silveira, 2013; Rodrigues *et al.*, 2022).

Com o avanço científico para o século XX, a descoberta dos antibióticos representou um avanço significativo até os dias de hoje, ajudando no combate de epidemias, no tratamento e cura de infecções bacterianas (Pedra *et al.*, 2023). Contudo, o uso excessivo desses antimicrobianos nos setores humano, animal e agrícola tem levado à redução da eficácia dos tratamentos, comprometendo a qualidade da água e do solo (Mcewen; Collignon, 2018; Barrios *et al.*, 2020; Pedra *et al.*, 2023; Xiao *et al.*, 2023). Além da principal e mais preocupante consequência do uso indiscriminado dos antibióticos é a resistência bacteriana (Pedra *et al.*, 2023).

De acordo com Ferreira (2015), às linhagens multirresistentes e patogênicas podem originar-se a partir da aquisição de genes por processos de transdução, transformação ou conjugação bacteriana. A transdução, onde um bacteriófago insere seu material genético (DNA ou RNA) com genes de resistência, a transformação é quando a bactéria interioriza

fragmentos de materiais genéticos móveis com genes de resistência, integrando-os em seu cromossomo e na conjugação, uma bactéria duplica o plasmídeo portador de genes de resistência e, através do *pilus* sexual, transfere tais genes para a bactéria, até então, sensível (Karkman *et al.*, 2018).

A presença de bactérias resistentes a antibióticos (BRAs) em esgoto sanitário (Santos, 2024) ganha destaque, sobretudo entre os microrganismos indicadores de contaminação fecal, como os coliformes totais e *Escherichia coli*, esta última uma bactéria muito numerosa no intestino de humanos e animais homeotérmicos, e frequentemente associada a perfis de multirresistência a antibióticos em afluentes e efluentes de Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) (Abdelgalel *et al.*, 2025; Xie *et al.*, 2023). Existem dois tipos principais de coliformes: os totais, que podem habitar ambientes aquáticos e solos e originar-se de fontes diversas; e os termotolerantes, provenientes diretamente de fezes humanas e de animais homeotérmicos, principalmente presentes em esgoto sanitário (Nogueira; Filho, 2015). Por essa razão, esses microrganismos são usados como indicadores de contaminação fecal, sendo fundamentais para monitorar a qualidade do efluente a ser lançado nos corpos d' água após o tratamento nas ETEs (APHA, 2012).

O controle desses indicadores é uma exigência dos órgãos regulamentadores ambientais, como o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), de acordo com os padrões de qualidade e condições de lançamento de efluentes estabelecidos na Resolução nº 430/2011 (BRASIL, 2011). Embora outros microrganismos termotolerantes também sejam importantes para a verificação da disseminação de doenças específicas, eles ainda não são rotineiramente monitorados nos programas de controle sanitário e ambiental.

A relevância de *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina (ERV) também é significativa, são definidos como cocos Gram-positivos, oxidase negativos e catalase negativos (Bomfim, 2017). Esse patógeno bacteriano está na categoria de alta prioridade da lista de patógenos prioritários da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2024) e foi detectado em ETEs em amostras isoladas de efluente tratado secundariamente (não clorado) nos Estados Unidos, apresentando multirresistência a diversos antibióticos usados para tratar infecções por ERV, sendo uma preocupação global (Goldstein *et al.*, 2014).

Os *Staphylococcus* spp. são cocos Gram-positivos, aeróbios facultativos, catalase positivos (Becker; Skov; Von Eiff, 2015). Nos últimos anos, destacou-se a espécie *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) (Rice, 2008). De acordo com o estudo feito por Silva *et al.* (2022), cepas de MRSA foram isoladas de água residuais hospitalares e a

maioria apresentou fenótipos e genótipos de resistência a múltiplos fármacos, demonstrando como os efluentes hospitalares estão se tornando fonte de propagação desse patógeno para o meio ambiente.

Não menos importante, destaca-se a importância de estudos com antimicrobianos e seus metabólitos, pela capacidade de atingir o meio ambiente por diversas rotas, sendo os efluentes das ETEs as principais fontes de contaminação (Reinthal *et al.*, 2003; Tennstedt *et al.*, 2003; Machado *et al.*, 2020). Esses antimicrobianos alteram a dinâmica microbiana ambiental, promovendo a seleção de linhagens resistentes e modificando processos como formação de biofilmes e expressão gênica entre diferentes populações bacterianas (Cairns *et al.*, 2018; Ferreira da Silva *et al.*, 2007) dentre outros malefícios ainda não conhecidos.

Em algumas ETEs é utilizado o tratamento convencional de esgoto sanitário por UASB – do inglês *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*, seguidos por lagoas de polimento, que constituem sistemas simplificados e econômicos capazes de remover matéria orgânica e organismos patogênicos, evidenciado pela redução do número de coliformes (Conceição, 2019). Todavia, esse tipo de tratamento não é projetado com o intuito de remoção de multirresistência bacteriana, sendo considerado incapaz de eliminar adequadamente organismos patogênicos (Von Sperling, 1996; Chagas, 2011; Rizzo *et al.*, 2013; Chernicharo *et al.*, 2018; Machado *et al.*, 2020; Coelho, 2023).

Os sistemas de desinfecção normalmente utilizados são a cloração, ozonização, UV e filtração por membrana. Contudo, alguns desses métodos apresentam limitações importantes. Por exemplo, na cloração pode ocorrer a permanência de bactérias multirresistentes no esgoto sanitário, uma vez que o processo pode selecionar linhagens resistentes ao agente desinfetante (Chagas, 2011). De forma semelhante, a desinfecção por radiação UV também pode favorecer a sobrevivência de bactérias multirresistentes a antibióticos (Zhang *et al.*, 2019).

Diante das limitações do sistema convencional, o uso de microalgas no tratamento de efluentes vêm ganhando muita visibilidade por suas diversas vantagens, como a capacidade de absorver nutrientes presentes no esgoto sanitário (Renuka *et al.*, 2013), a produção autossuficiente de oxigênio (Karya; Van Der Steen; Lens, 2013) e o reúso do efluente para fins agrícolas (Wollmann *et al.*, 2019; Bolzani, 2023). Sendo assim, os reatores de microalgas configuram-se como uma alternativa inovadora para biotratamento secundário e terciário, pois removem metais pesados (Kumar *et al.*, 2015), fármacos/hormônios (De Wilt *et al.*, 2016) e patógenos (Muñoz; Guieysse, 2006), podem assimilar o CO₂ (Kefffer; Kleinheinze, 2002) e são fontes renováveis para a geração de biomassa (Almomani *et al.*, 2019). A biomassa pode ser

utilizada para diversos fins como biocombustíveis, ração animal e biofertilizantes (Gudiukaite *et al.*, 2021).

Os reatores em sistemas abertos são as formas mais comumente aplicadas no cultivo de microalgas em larga escala (Ugwu *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2011; Sutherland *et al.*, 2017) devido principalmente ao baixo custo, construção simples e método operacional conveniente; sendo utilizados em países como Israel, Estados Unidos e China (Xu *et al.*, 2009; Ting *et al.*, 2017).

Estudos recentes têm explorado a eficiência dos sistemas *High Rate Algal Pond* (HRAPs) na remoção de patógenos, demonstrando resultados promissores frente aos desafios impostos pelos tratamentos convencionais. De acordo com Ruas *et al.* (2022) e Pompei *et al.* (2023), as HRAPs podem reduzir significativamente a concentração de bactérias indicadoras de contaminação fecal, como coliformes totais e *E. coli*, além de atuarem na remoção de outros patógenos relevantes como *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. e *Pseudomonas aeruginosa*. Resultados semelhantes foram relatados por Chambonniere, Plouviez e Guieysse (2023), que também verificaram significativa diminuição de coliformes totais e *E. coli*, o que torna mais elevado o potencial das HRAPs como uma alternativa sustentável e eficiente na mitigação de microrganismos em efluentes.

Dentre os tipos de reatores em sistemas abertos, as HRAPs destacam-se por apresentar as vantagens de comportar maior quantidade de líquido, operando com cerca de quatro vezes mais esgoto em comparação a um fotobiorreator fechado da mesma escala de produção (Pawar, 2016) e a capacidade de remover diferentes tipos de metais pesados e micropoluentes do esgoto (Posadas *et al.*, 2015; Saavedra *et al.*, 2019; Ruas *et al.*, 2020; Vassalle *et al.*, 2020; Saúco *et al.*, 2021). Além da possibilidade de ser aplicada no tratamento de esgoto bruto e secundário, e a biomassa produzida, pode ser usada como insumo na aquicultura, agricultura e produção de energia (digestão anaeróbica) (Spolaore *et al.*, 2006; Ward *et al.*, 2014; Talaiekhosani; Rezanian, 2017).

Contudo, devido ao aumento da demanda e presença crescente de antibióticos e BRAs no esgoto sanitário não tratado, é fundamental analisar a qualidade do efluente gerado durante o tratamento. Por se tratar de uma alternativa inovadora, os reatores de microalgas precisam ser mais investigados quanto à sua eficiência na remoção desses contaminantes.

Assim, o presente estudo buscou avaliar o desempenho do reator tipo HRAP no tratamento de esgoto sanitário, com foco na identificação e quantificação de microrganismos patogênicos e na investigação de sua resistência a diferentes classes de antibióticos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral do presente trabalho foi identificar a existência de bactérias multirresistentes (4) a antibióticos (5) em esgoto sanitário bruto após o tratamento por um reator de microalgas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Identificar e quantificar coliformes totais, *E. coli*, *Enterococcus* spp. e *Staphylococcus* spp. em amostras de esgoto após o tratamento por um reator de microalgas;
- b) Identificar fenotipicamente a resistência bacteriana a 5 diferentes antibióticos (penicilina, amoxicilina, azitromicina, ciprofloxacino e tetraciclina) nas amostras citadas no item a;
- c) Quantificar a remoção das bactérias multirresistentes aos 5 antibióticos supracitados, sendo estas: coliformes totais, *E. coli*, *Enterococcus* spp. e *Staphylococcus* spp. após o tratamento por um reator tipo lagoa HRAP.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS DO ESGOTO

Para a realização deste experimento, coletou-se esgoto sanitário na Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) do Departamento de Água e Esgoto de Bauru (DAE), após passar pela etapa de gradeamento (Figura 1) do sistema de tratamento local. Nesta etapa, durante o período de agosto a setembro de 2024, pela manhã, 10 coletas (210 litros cada) foram realizadas, totalizando 40 amostras a serem analisadas.

Assim que coletadas, as amostras eram armazenadas em galões estéreis, devidamente etiquetados, conservados e transportados (APHA, 1998) para o Laboratório de Hidráulica e Saneamento da Faculdade de Engenharia de Bauru (FEB), dentro do campus da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), no município de Bauru – SP, onde foram imediatamente processadas. Sob esse viés, uma alíquota dos 210 litros de esgoto coletados passou por análises de monitoramento e análises microbiológicas. O efluente restante era mantido refrigerado para garantir sua conservação em um tanque resfriador de esgoto da marca Congel, modelo Congel 500L - Inox fabricado em Missal, Paraná, Brasil, sendo retirado diariamente do refrigeração até atingir a temperatura ambiente para ser utilizado para a alimentação do reator de microalgas diariamente.

Figura 1 - Esgoto sanitário na etapa de pós-gradeamento.



Fonte: Autor (2025)

3.2 REATOR DE MICROALGAS

O reator do tipo lagoa HRAP (*High Rate Algal Pond*) utilizado foi confeccionado em fibra de vidro com volume operacional de 150 litros, medidas de 125cm x 60cm x 40cm, equipado com estrutura metálica de suporte robusto para assegurar estabilidade e eficiência operacional (Figura 2).

A HRAP foi mantida sob alimentação semi-continua, com um tempo de detenção hidráulica (TDH) de 5 dias. Para tal, diariamente eram retirados 15 litros da lagoa HRAP e adicionados 15 litros de esgoto proveniente da ETE. Antes do funcionamento efetivo do reator, um cultivo de microalgas foi iniciado a fim de ficoprospectar um consórcio nativo do esgoto a ser tratado de microalgas-bactérias. O esgoto coletado foi disposto em ambiente controlado (iluminação com lâmpadas fluorescentes com fotoperíodo de 12/12 horas e temperatura de 25 a 32 °C) para permitir o crescimento das microalgas (Figura 3).

Após o cultivo, foi adicionado à HRAP um inóculo (10% do volume de operação da lagoa = 15 litros) constituído pela cultura mista de microalgas e lodo ativado, juntamente ao esgoto bruto proveniente da ETE (90%). A concentração de sólidos em suspensão totais (SST) do inóculo de microalgas-lodo ativado foi de 0,52 g/L, utilizada como proporção inicial para o processo de inoculação.

Para avaliar a eficiência desse reator foram feitas análises diárias de alguns parâmetros físico-químicos, como pH, oxigênio dissolvido (OD) e temperatura do líquido, as quais foram analisadas através de um multiparâmetro portátil HI 9829 (HANNA, *Instruments*, EUA) e a turbidez com o turbidímetro HACH 2100AN (HACH *Company*, EUA).

Além disso, outros parâmetros também foram monitorados semanalmente como a intensidade luminosa registrada pelo sensor de luz LI-1500 (LI-COR *Biosciences*, Alemanha), sólidos em suspensão totais (SST) (2540D), demanda química de oxigênio (DQO) pelo método do dicromato, fósforo total (PT) determinado pelo método colorimétrico do ácido ascórbico e nitrogênio total (NT) analisado por Espectrofotômetro Nanocolor (Alemanha) utilizando kits NTK 16, Teste 0-67. Todas as análises seguiram as metodologias descritas em APHA (2012).

Figura 2 - Lagoa HRAP.



Fonte: Autor (2025)

Figura 3 - Esgoto disposto em ambiente controlado para o crescimento das microalgas já existentes no meio.



Fonte: Autor (2025)

3.3 PREPARO DE AMOSTRAS

Previamente ao início das análises microbiológicas, eram preparados os frascos contendo água de diluição, para que as águas fossem utilizadas a temperatura ambiente, a fim de não causar danos aos microrganismos contidos nas amostras. Para isso, utilizou-se frascos de 125 mL da Nalgon®. Estes foram preenchidos com 90 mL de água destilada e então autoclavados (Phoenix luferco, AV Plus).

Os frascos eram distribuídos pela bancada de modo que estivessem de acordo com as amostras que iriam receber, suas diluições e duplicatas. Em seguida, eram etiquetados para auxiliar e dar início às diluições das amostras. As diluições eram realizadas começando preferencialmente pelas amostras mais concentradas. Com uso de uma pipeta de 10 mL e uma ponteira previamente autoclavada eram transferidos 10 mL da amostra para o primeiro frasco de diluição (10^{-1}) e em seguida para as duplicatas então etiquetadas de (10^{-1} a) e (10^{-1} b). Desse mesmo modo o processo era repetido para a diluição (10^{-2}) porém nesse momento era utilizado o frasco da diluição 10^{-1} , de onde seria transferido 10 mL para o frasco 10^{-2} e para as duplicatas (10^{-2} a) e (10^{-2} b). Assim sucessivamente para as diluições seguintes. Este procedimento é conhecido como diluição seriada, ou diluição em série.

Para determinação das diluições ideais a serem feitas para as amostras provenientes do reator HRAP, uma semana de testes antecedeu este experimento para determinação das diluições ideais para as amostras. Os resultados semanais durante o período experimental também eram avaliados e levados em consideração para monitoramento em diluições corretas do reator HRAP com o passar do tempo de operação do mesmo.

3.4 INOCULAÇÃO DE AMOSTRAS

Neste trabalho foi adotado um método de quantificação das unidades formadoras de colônia: o método *Pour Plate*. De acordo com Baird *et al.* (2017), a técnica *Pour Plate* também reconhecida como *standard plate count* (contagem padrão de placas) além de possuir melhor custo-benefício em relação aos outros métodos e exigir menos conhecimento técnico ou avançado para aplicação; é comumente utilizada na avaliação de eficácia de tratamento de água (APHA, 2012).

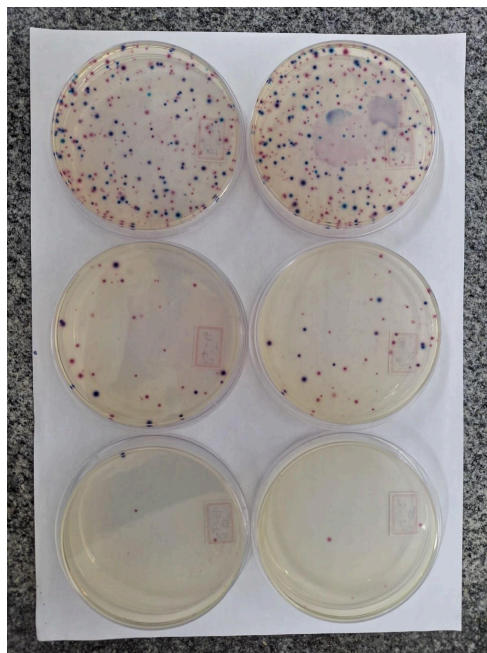
Na execução do procedimento utilizamos os frascos (contendo uma amostra bruta proveniente do reator de microalgas) para a retirada da amostra que era plaqueada por meio do método *Pour Plate* e como tratava-se de uma amostra mais concentrada de patógenos utilizou-se esse método devido à sua adequação para amostras mais densas.

Para a técnica *Pour Plate* retirou-se 1 mL de amostra, utilizando um micropipetador de 1 mL com ponteira previamente autoclavada, que era então transferida para a respectiva placa. Logo após, com uma pipeta de 10 mL, foram adicionados 9 mL do meio de cultura e homogeneizado, realizando movimentos circulares ou em forma de “oito”. Incubadas assim que solidificadas a 36 ± 1 °C por 24 ± 1 horas, assim como recomenda o fabricante (Merck, Alemanha).

3.5 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS DO ESGOTO

As amostras de efluente tratado pela HRAP foram semeadas em placas de Petri descartáveis e estéreis, contendo o meio de cultivo seletivo para cada grupo de bactérias selecionadas, possibilitando avaliar sua concentração e, a partir do monitoramento da concentração no efluente bruto, a remoção. De acordo com as especificações do fabricante de cada meio, as placas foram incubadas. Os meios utilizados foram: o HiCrome Chromogenic Coliform Agar (Himedia, Índia), que se trata de um meio de cultura utilizado em microbiologia para a detecção e identificação de coliformes totais e *E. coli* em amostras, especialmente em testes de qualidade de água. Nas placas semeadas com esse meio, a espécie *E. coli* forma colônias roxo ou azul neste meio, enquanto outras bactérias do grupo coliformes formam colônias de cores avermelhadas (Figura 7), possibilitando assim a diferenciação entre elas.

Figura 7 - Coloração em roxo e azul da bactéria *E. coli*, e em vermelho de coliformes totais.

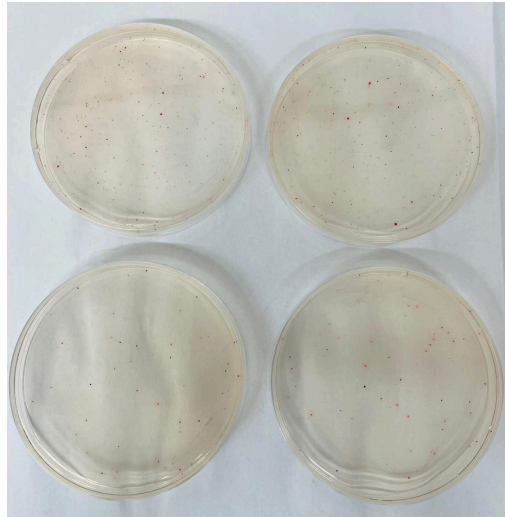


Fonte: Autor (2025)

Para *Enterococcus* spp. foi utilizado o meio de cultura Ágar Base M-Enterococcus (Himedia, Índia), esse meio é usado para isolamento e enumeração de *Enterococcus* spp. em água ou esgoto. Este meio é altamente seletivo e utiliza-se polissorbato e carbonato de sódio para aumentar a sensibilidade para o plaqueamento direto das amostras e aumentar o tamanho

da colônia. A confirmação da presença de *Enterococcus* spp. nas placas se dá pela presença da(s) unidade(s) formadora(s) de colônia na coloração vermelha (Figura 8).

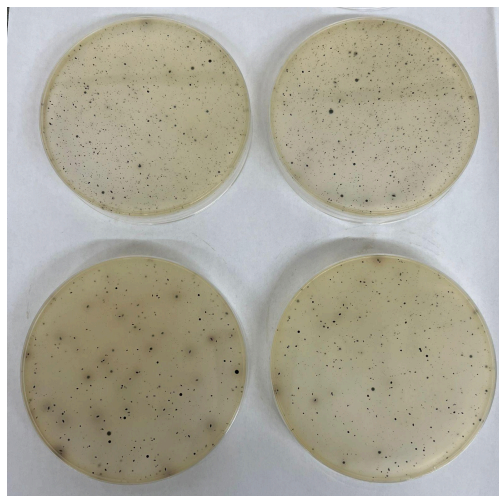
Figura 8 - Coloração em vermelho da bactéria *Enterococcus* spp.



Fonte: Autor (2025)

Para identificação e isolamento de *Staphylococcus* spp. foi utilizado o meio de cultura Baird Parker Agar Base (Himedia, Índia), bactéria Gram-positiva. Após procedimentos de acordo com o fabricante, os *Staphylococcus* spp. produzem colônias cinzentas escura a preto (Figura 9).

Figura 9 - Coloração em cinza escuro e preto da bactéria *Staphylococcus* spp.



Fonte: Autor (2025)

Após a identificação e quantificação das unidades formadoras de colônia (UFC) para cada grupo bacteriano no esgoto sanitário bruto e tratado, a eficiência da remoção foi calculada por meio da remoção percentual e da redução logarítmica. A remoção percentual (Eq. 1) foi calculada considerando a diferença relativa entre as concentrações inicial e final, enquanto a redução logarítmica (Eq. 2) expressa a magnitude da inativação em unidades $\log_{10}$.

$$\text{Eq. 1 – Remoção (\%)} = (C_{\text{inicial}} - C_{\text{final}}) / C_{\text{inicial}} * 100$$

$$\text{Eq. 2 = Log reduction} = \log_{10} (C_{\text{inicial}} / C_{\text{final}})$$

3.6 TESTE DE SUSCETIBILIDADE AOS ANTIBIÓTICOS

A suscetibilidade dos microrganismos isolados foi testada através do teste de difusão em ágar (disco-difusão), conforme as recomendações dos manuais do EUCAST (2025) – “*The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*” e CLSI (2017) – “*Clinical and Laboratory Standards Institute*” durante 11 dias de experimento.

Para o teste de difusão em ágar, as colônias foram semeadas em meios de culturas de Chromogenic Coliform Agar (coliformes totais e *E. coli*), Ágar Base M-Enterococcus (*Enterococcus* spp.) e Baird Parker Agar Base (*Staphylococcus* spp.). A partir de tal meio, uma alçada das colônias foi transferida para uma solução salina e a suspensão foi comparada com o padrão de turvação 0,5 da escala de Mc Farland, como recomendam os manuais EUCAST (2025) e BRCast (2024). Em seguida, a solução bacteriana ajustada foi aplicada ao meio de ágar Mueller Hinton (Himedia, Índia) em até 15 minutos e discos de quatro antibióticos (PEN, AMO, CIP, AZI e TET) foram introduzidos no meio, sob placa de Petri estéril e descartável (100x20mm). Os antibióticos utilizados encontram-se listados na Tabela 1.

As placas foram colocadas em estufa a 35°C por 16 a 18 horas. O resultado do teste de difusão em ágar para a resistência aos antibióticos foi obtido através da medida do halo de inibição de crescimento provocado pelos discos de antibióticos colocados nas placas semeadas (Figura 10). De acordo com o diâmetro do halo de inibição medido por um paquímetro de precisão digital (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*, 1999) (Figura 10), e utilizando-se como padrões de referência os listados nos manuais EUCAST (2025) e CLSI (2017), foi possível verificar a classificação da bactéria entre sensível, resistência intermediária ou resistente aos antimicrobianos testados.

Tabela 1 - Antibióticos utilizados, classe e concentração a que pertencem.

Classe	Antibióticos	Concentração (µg)
β-lactâmicos	Penicilina (PEN)	10
β-lactâmicos	Amoxicilina (AMO)	10
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacino (CIP)	5
Macrolídeos	Azitromicina (AZI)	15
Tetraciclina	Tetraciclina (TET)	30

Fonte: Autor (2025)

Figura 10 - Antibiógrama; método de difusão em ágar e medição dos halos de inibição.

Fonte: Autor (2025)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Na Tabela 2 estão os parâmetros físico-químicos e ambientais que foram analisados continuamente durante todo o experimento. O valor de pH registrado (8,45) durante o período esteve dentro da faixa de pH ideal para ocorrer fotossíntese na maioria das microalgas (6 e 10), onde a forma de bicarbonato é considerada dominante (Rastogi; Madamwar, 2017).

De acordo com Abdel-Raouf, Al-Homaidan e Ibraheem (2012), a fotossíntese altera o pH e a concentração de oxigênio dissolvido (OD) do meio, o que causa diminuição no tempo de meia vida de bactérias patogênicas.

A temperatura média do líquido ($27,6 \pm 2,7$ °C) registrada na lagoa HRAP durante o período de estudo está dentro da faixa considerada ótima para o crescimento da maioria das espécies de microalgas (20-36 °C) (Gatamaneni; Orsat; Lefsrud, 2018). Além disso, esse valor médio apoiou as descobertas de outros estudos que relataram maior eficiência nessa faixa de temperatura (Ouali *et al.*, 2014; Liu; Hall; Champagne, 2020).

Tabela 2 - Os valores da média e desvio padrão de parâmetros utilizados na caracterização da pós HRAP.

Parâmetros	Unidade	Média±desvio padrão
------------	---------	---------------------

Intensidade luminosa	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$501,24 \pm 149,34$
Temperatura do líquido	$^{\circ}\text{C}$	$27,60 \pm 2,70$
pH		$8,45 \pm 1,18$
OD	$\text{mg O}_2 \text{L}^{-1}$	$10,29 \pm 2,95$
Turbidez	NTU	$148,55 \pm 13,24$
SST	mg SST L^{-1}	$257,39 \pm 1,69$
DQO	mg DQO L^{-1}	$131,98 \pm 7,94$
Fósforo total (PT)	mg PT L^{-1}	$4,51 \pm 2,30$
Nitrogênio total (NT)	mg NT L^{-1}	$10,55 \pm 6,01$

Legenda: OD = Oxigênio dissolvido; SST = Sólidos em suspensão totais; DQO = Demanda química de oxigênio.

Fonte: Autor (2025)

4.2 REMOÇÃO DE PATÓGENOS

A Tabela 3 foi organizada contendo os valores das concentrações de coliformes totais, *E. coli*, *Enterococcus* spp. e *Staphylococcus* spp. monitorados no efluente usado como alimentação do reator e de saída do reator HRAP. A concentração foi feita pela média de dias de duração do experimento (10 dias), considerando início e fim.

O sistema apresentou remoção microbiológica, com reduções superiores a 3 log-RE para coliformes totais (>99%), 2,2 log-RE para *E. coli* (>90%), 1,7 log-RE para *Enterococcus* spp. (>92%) e 1,3 log-RE para *Staphylococcus* spp. (>87%).

Valores semelhantes foram reportados por Pompei *et al.* (2023), que operaram um reator do tipo HRAP em sistema aberto com e sem adição de CO_2 para avaliar tanto a suplementação, como a influência da luz natural e do sombreamento. No estudo, observou-se que, sem sombreamento, as remoções foram superiores para coliformes totais e *E. coli*, com valores de $1,94 \pm 1,66$ log-RE ($92,88 \pm 6,68\%$) na condição de adição de CO_2 e $1,45 \pm 0,10$ log-RE ($96,37 \pm 0,84\%$) sem adição, apresentando desempenho comparável ao observado neste trabalho.

De modo semelhante, Ruas *et al.* (2022) investigou três reatores HRAPs operando sob condições controladas, com sombreamento e adição de CO₂, observando reduções de 3,02–3,38 log-RE para *Staphylococcus* spp. e 3,14–3,45 log-RE para *Enterococcus faecalis*.

Assim, esses resultados evidenciam a eficiência e estabilidade operacional das HRAPs, sugerindo o seu elevado potencial na mitigação de microrganismos patogênicos em efluentes, mesmo sob diferentes configurações e condições ambientais.

Tabela 3 - Valores médios dos parâmetros avaliados do efluente bruto (EG) e do reator de microalgas (R1) com desvio padrão ($\pm$) e a média do log de remoção (Log-RE) e a remoção (%-RE).

Parâmetro	EG (UFC/100mL)	R1 (UFC/100mL)	Log-RE	%-RE
Coliformes totais	$7,6 \times 10^8 \pm 1,1$	$7,4 \times 10^4 \pm 3,4$	3,6	99,7
<i>Escherichia coli</i>	$2,5 \times 10^7 \pm 3,1$	$1,6 \times 10^6 \pm 7,2$	2,2	90,9
<i>Enterococcus</i> spp.	$1,8 \times 10^7 \pm 1,9$	$1,2 \times 10^5 \pm 7,8$	1,7	92,5
<i>Staphylococcus</i> spp.	$2,3 \times 10^6 \pm 6,3$	$1,0 \times 10^5 \pm 1,3$	1,3	87,4

Fonte: Autor (2025)

4.3 FENÓTIPO DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS

De acordo com a proposta internacional elaborada em conjunto pelo *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) e pela *European Medicines Agency* (EMA) (2009), em cooperação com o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) (2006), as bactérias multirresistentes são definidas como aquelas que apresentam não suscetibilidade adquirida a pelo menos um agente em três ou mais classes antimicrobianas (Magiorakos *et al.*, 2012). No presente estudo, todos os grupos analisados (coliformes totais, *E. coli*, *Enterococcus* spp., e *Staphylococcus* spp.) se enquadram nessa definição, apresentando resistência a três ou mais classes de antibióticos.

4.3.1 Fenótipo de resistência a antibióticos para coliformes totais

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados de suscetibilidade aos antimicrobianos em coliformes totais. Os resultados indicaram uma resistência elevada aos β -lactâmicos, com halos médios muito abaixo dos pontos de corte para penicilina (0 mm) e amoxicilina ($1,5 \pm$

3,4 mm), sugerindo disseminação de mecanismos de resistência associados à exposição crônica a antibióticos (Jendrzejska; Karwowska, 2022).

Azitromicina ($3,6 \pm 5,2$ mm) e tetraciclina ($10,5 \pm 9,1$ mm) apresentaram comportamento intermediário, indicando heterorresistência entre as cepas, ou seja, subpopulações bacterianas com diferentes níveis de tolerância aos antibióticos, provavelmente resultante da exposição contínua a concentrações subinibitórias em efluentes (Martínez; Cantón, 2008; Kummerer, 2009; Baquero; El-Halfawy; Valvano, 2015).

Enquanto o ciprofloxacino ($20,2 \pm 6,3$ mm) apresentou comportamento mais heterogêneo, essa variação na resposta bacteriana, próxima ao limite de resistência, sugere a seleção gradual de cepas tolerantes a fluoroquinolonas (Martínez, 2009).

O desvio padrão reduzido para penicilina e amoxicilina demonstra homogeneidade na resistência entre as amostras, enquanto os maiores valores observados para ciprofloxacino, azitromicina e tetraciclina indicam heterogeneidade fenotípica, possivelmente associada a pressões seletivas variáveis no sistema de tratamento.

Tabela 4 - Zonas médias de difusão em disco e pontos de corte de resistência para isolados de coliformes totais frente aos antimicrobianos testados.

Antibiótico	Ponto de corte (mm)	Halo médio (mm)±DP
Penicilina	> 21 = S / < 17 = R	0 ± 0
Amoxicilina	> 17 = S / < 13 = R	1,5 ± 3,4
Ciprofloxacino	> 31 = S / 21–30 = I / < 20 = R	20,2 ± 6,3
Azitromicina	> 13 = S / < 12 = R	3,6 ± 5,2
Tetraciclina	> 15 = S / < 11 = R	10,5 ± 9,1

Legenda: S = Sensível; I = Intermediário; R = Resistente de acordo com EUCAST (2025) e CLSI (2017).

Fonte: Autor (2025)

O Gráfico 1 evidencia o perfil de sensibilidade dos coliformes totais frente aos antimicrobianos testados. Observou-se resistência total (100%) à penicilina e amoxicilina. Em relação ao ciprofloxacino, 64% dos isolados apresentaram resistência, 27% exibiram resistência intermediária e apenas 9% sensibilidades.

Quando expostos à azitromicina, o comportamento foi distinto, com apenas 18% dos isolados apresentando resistência e 82% demonstrando sensibilidade a esse antibiótico. Para a tetraciclina, observou-se 55% de isolados sensíveis e 45% resistentes.

Os resultados obtidos demonstram que, embora o sistema de reator de microalgas tenha promovido certo grau de redução na carga bacteriana, parte dos coliformes totais manteve perfis de resistência relevantes, sugerindo que o ambiente do reator pode atuar como um reservatório potencial de genes de resistência a antibióticos (GRAs).

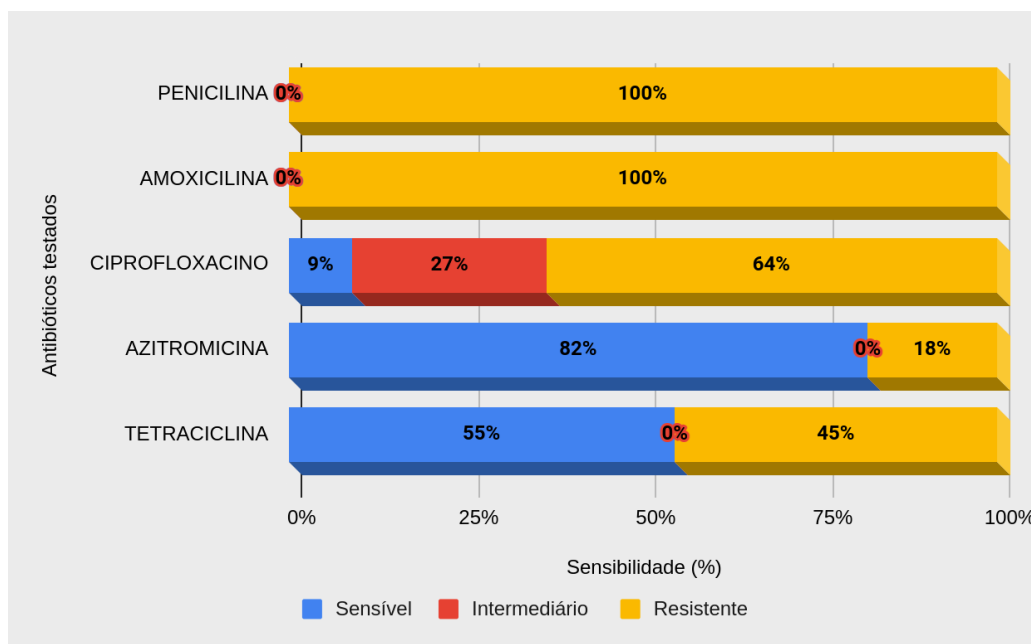
De acordo com Buelow *et al.* (2018) e Silva *et al.* (2022), as Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) têm papel essencial na redução da proliferação de GRAs, mas também as bactérias sobreviventes podem apresentar maior multirresistência. De forma complementar, Amador *et al.* (2015) apontam que as ETEs podem servir como reservatórios de bactérias resistentes, aumentando a frequência desses microrganismos nos ecossistemas aquáticos.

Além disso, Wang *et al.* (2015) relataram que os GRAs podem proliferar durante o tratamento biológico, mesmo com a eliminação dos resíduos de antibióticos, o que indica a hipótese de que o reator de microalgas, assim como os sistemas convencionais, não é totalmente eficaz na eliminação desses GRAs. Dessa forma, os resultados deste estudo sugerem que, mesmo após um tratamento em um sistema alternativo às ETEs convencionais, os GRAs podem persistir no efluente final, representando um risco à disseminação ambiental de resistência bacteriana, o que necessita ser estudado aprofundado a fim de avaliar medidas de mitigar o problema.

Brum e Lima (2023) estudaram o perfil de resistência bacteriana de coliformes totais e *E. coli* em um perímetro urbano do rio Turvo, na cidade de Viçosa (MG), e observaram que 100% dos isolados apresentaram resistência a pelo menos quatro agentes antimicrobianos. Entre esses agentes, destacaram-se a amoxicilina (90% dos isolados resistentes), a azitromicina (30%) e o ciprofloxacino (5%). Em comparação com o presente estudo, os isolados de coliformes totais provenientes de esgoto sanitário tratado apresentaram resultados semelhantes para amoxicilina, enquanto a azitromicina apresentou um perfil de sensibilidade maior e o ciprofloxacino, maior resistência.

Embora existam estudos que relatam a ocorrência de multirresistência em *E. coli* nas ETEs (Abdelgalel *et al.*, 2025), não foram encontrados trabalhos que avaliassem o perfil de multirresistência especificamente para coliformes totais, com ênfase nos antimicrobianos penicilina, amoxicilina, ciprofloxacino, azitromicina e tetraciclina. Assim, o presente estudo apresenta caráter de originalidade no contexto internacional.

Gráfico 1 - Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de coliformes totais (n= 11).



Fonte: Autor (2025)

4.3.2 Fenótipo de resistência a antibióticos para *E. coli*.

Na Tabela 5 estão apresentados a suscetibilidade aos antimicrobianos em *E. coli*. Os resultados indicaram resistência completa à penicilina (0 mm), com ausência de halo indicando resistência total e evidenciando a perda completa de eficácia do β -lactâmico, e à amoxicilina, com halos inexistentes (0 mm). Pode-se relacionar essa resistência à redução da permeabilidade da membrana externa, dificultando a entrada de antibióticos, visto que é uma estratégia muito presente em bactérias Gram-negativas, e no caso da penicilina, é um medicamento que demonstra eficácia abrangente às bactérias, exceto aquelas que produzem a enzima β -lactamase, que lhes confere resistência, exemplo disso é a *E. coli* (Pedra *et al.*, 2023).

O ciprofloxacino, com média inferior ao limite de resistência, indicou cepas altamente tolerantes às fluoroquinolonas, também apresentou resistência completa, com média de halo de $13,4 \pm 6,4$ mm, bem abaixo do limite de sensibilidade (> 31 mm) de acordo com EUCAST (2025) e CLSI (2017). Esse resultado pode indicar que o mecanismo de resistência de Gram-positivas em ter a permeabilidade da membrana externa reduzida a antibióticos afeta a entrada de fluoroquinolonas, como o ciprofloxacino (De Andrade; Da Costa Darini, 2020).

Em contraste, a azitromicina apresentou indicativo de coexistência de cepas sensíveis e resistentes, com média próxima ao ponto de corte ($14,4 \pm 8,0$ mm), sugerindo que *E. coli* apresentou maior sensibilidade a esse antibiótico.

Por fim, a tetraciclina, apresentou halos com valor médio de $9,4 \pm 6,0$ mm, valor este próximo ao limite inferior de sensibilidade, indicando o predomínio de cepas resistentes e alta variabilidade fenotípica entre os isolados. A resistência observada está relacionada ao mecanismo comumente descrito para *E. coli* que, por meio de uma bomba de efluxo antibiótica que se torna resistente à tetraciclina (Loureiro *et al.*, 2016; Peterson; Kaur, 2018; Araújo *et al.*, 2025).

Tabela 5 - Zonas médias de difusão em disco e pontos de corte de resistência para isolados de *E. coli* frente aos antimicrobianos testados.

Antibiótico	Ponto de corte (mm)	Halo médio (mm)±DP
Penicilina	> 21 = S / < 17 = R	0 ± 0
Amoxicilina	> 17 = S / < 13 = R	0 ± 0
Ciprofloxacino	> 31 = S / 21–30 = I / < 20 = R	13,4 ± 6,4
Azitromicina	> 13 = S / < 12 = R	14,4 ± 8,0
Tetraciclina	> 15 = S / < 11 = R	9,4 ± 6,0

Legenda: S = Sensível; I = Intermediário; R = Resistente de acordo com EUCAST (2025) e CLSI (2017).

Fonte: Autor (2025)

O Gráfico 2 evidencia o perfil de sensibilidade de *E. coli* frente aos antimicrobianos testados. Observou-se resistência total (100%) à penicilina, amoxicilina e ciprofloxacino. Entre os antibióticos testados, a azitromicina apresentou melhor desempenho, com 73% dos isolados sensíveis e 27% resistentes.

Em relação à tetraciclina, os 11 isolados apresentaram 73% de resistência, 9% de resistência intermediária e 18% de sensibilidade a esse antibiótico testado. Essa alta taxa de resistência, quando comparada ao estudo de Abdelgalel *et al.* (2025), que identificou 46,9% de resistência à tetraciclina em águas residuais hospitalares, evidencia uma diferença preocupante, considerando que as amostras do presente estudo foram provenientes de esgoto sanitário.

A resistência total de *E. coli* à penicilina, amoxicilina e ciprofloxacino demonstra o perfil de multirresistência dessa bactéria. Esse resultado é alarmante, considerando que uma avaliação global sobre a carga de doenças e mortes atribuíveis às bactérias com resistência antimicrobiana identificou *E. coli* entre os seis patógenos mais comuns diretamente responsáveis por mortes associadas à resistência antimicrobiana em todo mundo, causando mais de 250.000 mortes em 2019 (Murray *et al.*, 2022).

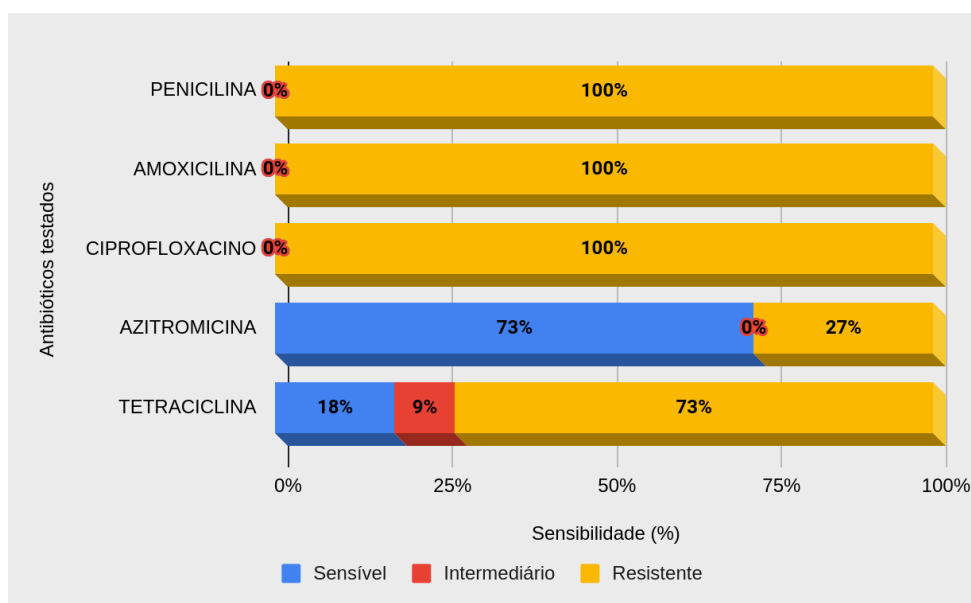
Reinthal *et al.* (2003) avaliaram os padrões de resistência de *E. coli* em ETEs na Áustria e observaram maiores taxas de resistência em uma unidade que tratava não apenas esgoto municipal, mas também efluente hospitalar. Entre os antimicrobianos testados, a tetraciclina apresentou os maiores índices de resistência (57%), valor inferior ao encontrado neste estudo (73%), indicando um aumento expressivo desse perfil ao longo do tempo.

Ferreira da Silva *et al.* (2007) também isolaram *E. coli* de águas residuais brutas e tratadas, observando prevalência mais elevada de resistência para amoxicilina e tetraciclina (cerca de 30%). Os autores destacaram ainda que a prevalência de resistência para amoxicilina, ciprofloxacino e tetraciclina aumentou de 5 a 10% após o tratamento, demonstrando que o processo de depuração pode não eliminar completamente os microrganismos resistentes e, em alguns casos, favorecer sua persistência. Neste estudo, observou-se comportamento similar, porém com índices mais acentuados: resistência total de 100% para amoxicilina e ciprofloxacino, e 73% para tetraciclina. Esses resultados sugerem a ideia de co-seleção de resistência, especialmente em ambientes ricos em antibióticos como o esgoto (Guardabassi; Dalsgaard, 2002).

Comparando os resultados obtidos com os dados apresentados por Stelling *et al.* (2005), nota-se que as taxas de resistência de *E. coli* provenientes do efluente tratado foram substancialmente superiores às relatadas em isolados clínicos de diferentes regiões do mundo. Enquanto os autores relataram prevalência de resistência considerada baixa a moderada, variando entre 0–40% para amoxicilina, e inferior a 10% para ciprofloxacino, os isolados avaliados neste estudo apresentaram resistência de 100% para penicilina, amoxicilina e ciprofloxacino. Esse contraste evidencia que, embora as cepas estudadas desse trabalho sejam de origem ambiental, o esgoto sanitário pode atuar como um importante reservatório e disseminador de genes de resistência, sobretudo para antibióticos amplamente utilizados tanto em contextos hospitalares quanto comunitários.

Assim, a alta prevalência de resistência observada indica que a pressão seletiva provocada pelo descarte contínuo de antimicrobianos e seus metabólitos nas águas residuais favorece a sobrevivência e disseminação de cepas multirresistentes no ambiente (Cairns *et al.*, 2018).

Gráfico 2 - Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de *E. coli* (n= 11).



Fonte: Autor (2025)

4.3.3 Fenótipo de resistência a antibióticos para *Enterococcus* spp.

Na Tabela 6 estão apresentados a suscetibilidade aos antimicrobianos em *Enterococcus* spp.. Os resultados indicaram que à penicilina, o halo médio de $4,7 \pm 7,0$ ficou muito abaixo do limiar de sensibilidade (> 15 mm), indicando que a maioria dos isolados foram resistentes à droga. Igualmente para a amoxicilina (média de 10,0 mm), a maioria dos isolados foram resistentes, considerando o corte >17 mm para sensibilidade de acordo com EUCAST (2025) e CLSI (2017). Embora o presente estudo não tenha objetivado tal observação, sabe-se que a resistência de *Enterococcus* spp. à β -lactâmicos ocorre geralmente por alteração do alvo (modificação das PBPs) ou por degradação enzimática (produção de beta-lactamase) (Hota *et al.*, 2025).

No caso do ciprofloxacino, com valor médio do halo de $10,5 \pm 9,8$ mm, a interpretação indica que muitos isolados estão abaixo do limite de resistência (<15 mm), embora possa haver alguns no intervalo intermediário, o que sugere heterogeneidade fenotípica entre cepas. Essa resistência pode ser pela alteração do alvo (mutações na DNA girase e topoisomerase IV) (Hota *et al.*, 2025).

Para azitromicina, o halo médio de $4,1 \pm 5,4$ mm apresentou-se inferior ao critério de sensibilidade (>23 mm) estabelecido por EUCAST (2025) e CLSI (2017), apontando resistência generalizada.

Na aplicação de tetraciclina obteve-se valor médio do halo de $10,7 \pm 6,9\text{mm}$, mostrando que vários isolados estão abaixo do limiar de sensibilidade ($>19\text{ mm}$). Este dado indica que a prevalência de resistência pode ser associada à resistência mediada pelo mecanismo de resistência por bomba de efluxo (Hota *et al.*, 2025). Essa variabilidade nos halos, especialmente onde os desvios padrões são elevados, sugere que *Enterococcus* spp. em ambientes de esgoto também podem estar sujeitos a exposição gradativa ou intermitente a antibióticos, o que pode favorecer a coexistência de cepas com diferentes sensibilidades dentro de uma mesma população.

Tabela 6 - Zonas médias de difusão em disco e pontos de corte de resistência para isolados de *Enterococcus* spp. frente aos antimicrobianos testados.

Antibiótico	Ponto de corte (mm)	Halo médio (mm)±DP
Penicilina	S > 15 / R < 14	4,7 ± 7,0
Amoxicilina	S > 17 / R < 16	10,0 ± 8,1
Ciprofloxacino	S > 21 / I 16–20 / R < 15	10,5 ± 9,8
Azitromicina	S > 23 / I 14–22 / R < 13	4,1 ± 5,4
Tetraciclina	S > 19 / I 15–18 / R < 14	10,7 ± 6,9

Legenda: S = Sensível; I = Intermediário; R = Resistente de acordo com EUCAST (2025) e CLSI (2017).

Fonte: Autor (2025)

O Gráfico 3 evidencia o perfil de sensibilidade de *Enterococcus* spp. frente aos antimicrobianos testados. Observou-se que, em relação à penicilina, 82% dos isolados apresentaram resistência, enquanto 18% foram sensíveis. Considerando este mesmo patógeno, um padrão semelhante foi evidenciado para a amoxicilina, com 82% de resistência e 18% de sensibilidade.

Para o ciprofloxacino, 73% dos isolados foram resistentes, 9% apresentaram fenótipo intermediário e 18% foram sensíveis. A azitromicina mostrou um padrão distinto, com 100% de resistência entre os isolados, no caso da tetraciclina, apenas 9% dos isolados foram sensíveis, 18% apresentaram resistência intermediária e 73% foram resistentes.

A análise revelou que *Enterococcus* spp. apresentou maior resistência à azitromicina em comparação com as demais bactérias avaliadas, sugerindo que a interação com antimicrobianos, como à azitromicina, no ambiente aquático pode induzir essa resistência, devido à presença de antimicrobianos em Estações de Tratamento de esgoto (ETEs) que mesmo em concentrações baixas podem afetar bactérias susceptíveis de influenciar na seleção

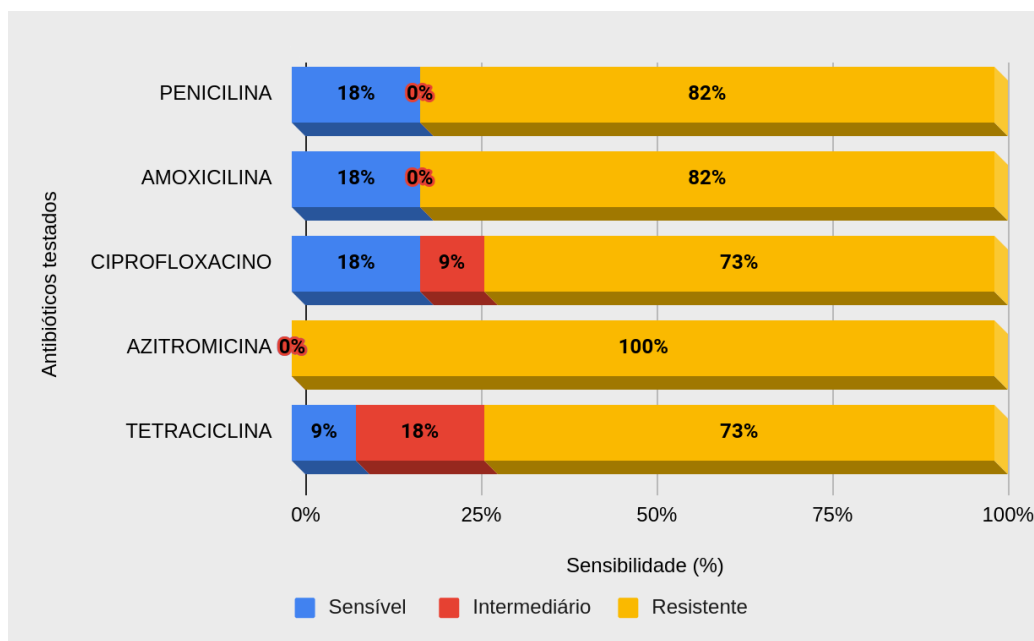
a favor de bactérias resistentes, como é mostrado em testes de toxicidade de bactérias aquáticas (Halling-Sorensen *et al.*, 1998; Hartig; Storm; Jekel, 1999; Hirsch *et al.*, 1999; Konopka *et al.*, 2022). Os *Enterococcus* spp. possuem elevada resiliência em ambientes aquáticos e em esgoto, sendo frequentemente associados à seleção positiva de cepas resistentes durante os processos de tratamento de esgoto (Klare *et al.*, 2003; Blanch *et al.*, 2003).

De acordo com Klare *et al.* (2003) e Da Silva *et al.* (2006), o aumento do uso clínico de antibióticos, especialmente macrolídeos e fluoroquinolonas, têm contribuído para a seleção ambiental de *Enterococcus* spp. resistentes, inclusive em efluentes tratados. Esses autores observaram que o tratamento de águas residuais pode aumentar a proporção relativa, por exemplo, de *Enterococcus faecium* resistentes à ciprofloxacino, comportamento semelhante ao identificado neste estudo.

Além disso, a elevada resistência observada à tetraciclina (73%) pode estar relacionada à exposição contínua a concentrações subinibitórias do composto, como relatado por Peters *et al.* (2003) e Hayes *et al.* (2004), que descreveram prevalências de resistência variando de 30% a 70% em isolados ambientais e clínicos. Essa variabilidade pode estar associada tanto à pressão seletiva ambiental quanto à transferência horizontal de genes de resistência (Fluit *et al.*, 2000; Mutnick; Biedenbach; Jones, 2003).

Molale-Tom e Bezuidenhout (2020) isolaram *Enterococcus* spp. de efluente final e das águas receptoras de três ETEs na Província do Noroeste, África do Sul, obtiveram de resultados que esse patógeno apresentou resistência maior de 58% à tetraciclina e 52% à penicilina, e menor à ciprofloxacino com 8%. Neste estudo, a resistência foi superior com 73% à tetraciclina, 82% à penicilina e 73% à ciprofloxacino.

Park *et al.* (2024) relataram em seu estudo que a resistência ao ciprofloxacino em *Enterococcus* spp. aumentou após o tratamento de efluentes, passando de 21,7% no esgoto bruto para 31,1% no efluente tratado, enquanto tetraciclina (35,7%) no efluente tratado foi considerada uma taxa alta de resistência. Neste estudo, valores ainda mais altos foram obtidos, atingindo 73% para ambos antimicrobianos, sugerindo que os processos de tratamento de esgoto podem não estar eliminando adequadamente as cepas multirresistentes. Essa persistência indica que as ETEs podem atuar como reservatórios e pontos críticos de disseminação de resistência antimicrobiana (Klare *et al.*, 2003; Goldstein *et al.*, 2014).

Gráfico 3 - Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de *Enterococcus* spp. (n= 11).

Fonte: Autor (2025)

4.3.4 Fenótipo de resistência a antibióticos para *Staphylococcus* spp.

Na Tabela 7 estão apresentados a suscetibilidade aos antimicrobianos em *Staphylococcus* spp.. Os resultados indicaram um perfil amplamente resistente. Os valores médios dos halos inferiores a 5 mm para penicilina, valor este muito abaixo do limiar esperado de sensibilidade (>29), indica resistência universal, e amoxicilina, com valor médio (3,7 mm) bem abaixo do ponto de corte de >18 de sensibilidade. *Staphylococcus* spp. são as principais produtoras de β -lactamase, o que facilita adquirirem resistência aos β -lactâmicos (Cussolim *et al.*, 2021).

A resistência às fluoroquinolonas, representada pelo ciprofloxacino, com grande variação que sugere presença de alguns halos acima do limiar sensível, embora a maioria seja resistente, foi elevada, com halos médios próximos a 4 mm e azitromicina, com valores médios muito baixos reforçando a resistência predominante.

Tanto as tetraciclinas quanto os macrolídeos possuem como alvo o ribossomo bacteriano, especificamente as subunidades 30S e 50S, respectivamente. No entanto, apesar de serem eficazes em inibir a síntese proteica, algumas bactérias desenvolvem mecanismos de resistência que reduzem a afinidade desses fármacos pelo ribossomo ou promovem sua expulsão ativa das células bacterianas por meio de bombas de efluxo (Pedra *et al.*, 2023), o

que sugere que *Staphylococcus* spp., pelos resultados da média dos halos, tenha adquirido esse mecanismo.

Tabela 7 - Zonas médias de difusão em disco e pontos de corte de resistência para isolados de *Staphylococcus* spp. frente aos antimicrobianos testados.

Antibiótico	Ponto de corte (mm)	Halo médio (mm)±DP
Penicilina	S > 29 / R < 28	1,9±4,5
Amoxicilina	S > 18 / R < 18	3,7±5,6
Ciprofloxacino	S > 21 / I 16–20 / R < 15	4,3±8,5
Azitromicina	S > 18 / I 14–17 / R < 13	1,6±5,5
Tetraciclina	S > 19 / I 15–18 / R < 14	3,2±5,5

Legenda: S = Sensível; I = Intermediário; R = Resistente de acordo com EUCAST (2025) e CLSI (2017).

Fonte: Autor (2025)

O Gráfico 4 evidencia o perfil de sensibilidade de *Staphylococcus* spp. frente aos antimicrobianos testados. Observou-se que todos os isolados (100%) apresentaram resistência à penicilina, amoxicilina e tetraciclina. Em relação ao ciprofloxacino, 90% dos isolados foram resistentes, enquanto 10% apresentaram sensibilidade. Quando testados em contato com a azitromicina, os isolados demonstraram resistência de 90% e 10% apresentaram fenótipo intermediário.

Ramessar e Olaniran (2019) relataram uma resistência maior à penicilina (97,5%) e à azitromicina (66,25%) em isolados de *Staphylococcus* spp. em efluentes tratados e rios receptores de duas Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) em Durban, KwaZulu-Natal. Em comparação com o presente estudo, a resistência à penicilina foi semelhante (100%), enquanto a resistência à azitromicina aumentou para 91%. O autor também observou uma menor resistência para a tetraciclina (11,25%) e um perfil de sensibilidade ao ciprofloxacino de 91,25%, enquanto os dados deste estudo mostraram 100% de resistência à tetraciclina e 91% ao ciprofloxacino.

Além disso, Safarpour Dehkordi *et al.* (2017) também reportaram 100% de resistência à penicilina e à tetraciclina em isolados de amostras de alimentos hospitalares. Esse cenário é preocupante, visto que ambos os antibióticos são amplamente utilizados para tratar infecções por *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina (MRSA) devido à sua acessibilidade e custo reduzido (Rong *et al.*, 2017).

Em estudo conduzido por Akanbi *et al.* (2017) em ambientes aquáticos, como praias, isolados de *Staphylococcus aureus* apresentaram 96,7% de resistência à penicilina, enquanto a suscetibilidade ao ciprofloxacino e à tetraciclina foi de 66,7% e 56,7%, respectivamente. Neste estudo, ambos antibióticos apresentaram um perfil diferente, com resistência alta.

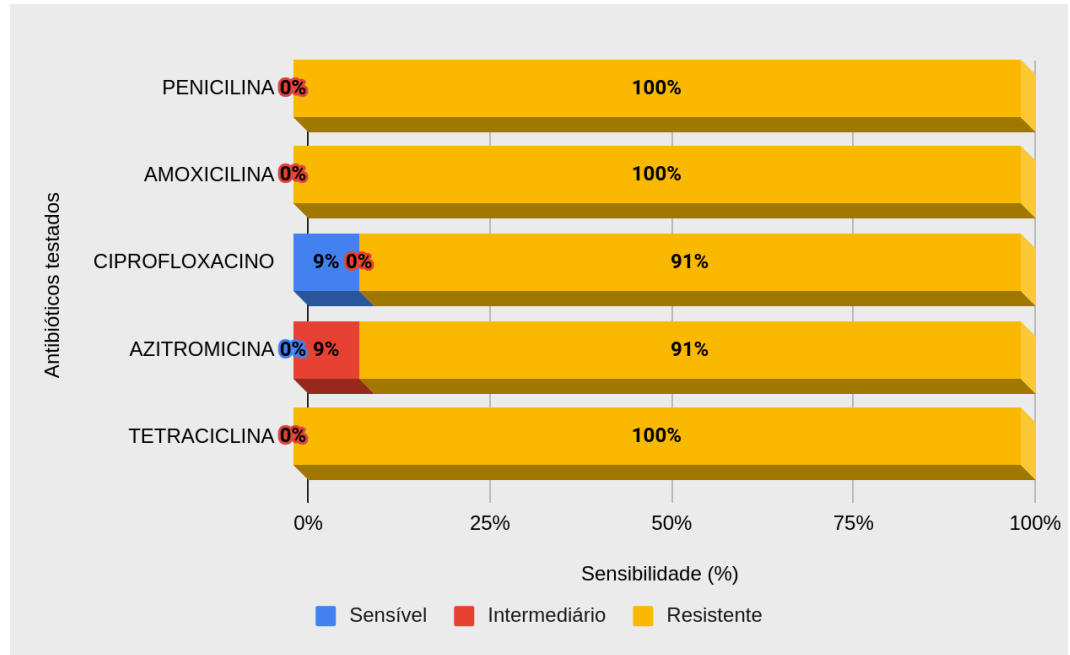
Os resultados deste estudo, principalmente a resistência total à penicilina, amoxicilina e tetraciclina, além das elevadas taxas de resistência à azitromicina (91%), são consistentes com o perfil descrito por Akya *et al.* (2020), que avaliou isolados de *Staphylococcus aureus* suscetíveis à meticilina (MSSA) e resistentes à meticilina (MRSA) provenientes de esgoto hospitalar bruto e tratado. Nesse estudo, os isolados de MSSA apresentaram resistência à penicilina (100%), azitromicina (85%) e tetraciclina (80%), enquanto os isolados de MRSA apresentaram resistência à penicilina (100%), azitromicina (100%) e tetraciclina (45%). Entretanto, observa-se que, no presente estudo, os níveis de resistência à ciprofloxacino (91%) foram superiores aos relatados para os isolados de MRSA e MSSA, sugerindo possível seleção de cepas com fenótipo de multirresistência no efluente tratado.

O perfil de *Staphylococcus* spp. exibiu resistência a três ou mais classes de antibióticos diferentes, sendo classificadas como cepas multirresistentes (CDC, 2006; ECDC; EMEA, 2009). Da mesma forma, Goldstein *et al.* (2012) relataram que 93% dos isolados de MRSA em ETEs eram multirresistentes.

Coelho (2023) também identificou a multirresistência de *Staphylococcus* spp. em ETEs de esgoto bruto no Brasil em Belo Horizonte (MG), relacionando-a ao aumento do consumo de antibióticos no Brasil, particularmente durante a pandemia de COVID-19. Essa observação se alinha aos resultados do presente estudo, onde antibióticos amplamente utilizados, como penicilina, amoxicilina e tetraciclina, demonstraram altos índices de resistência.

Esse cenário representa um risco potencial para os corpos d'água receptores de esgoto sanitário tratado, dado que as infecções por MRSA multirresistentes podem ser difíceis de serem eliminadas durante o tratamento e podem contaminar a água do mar através das águas superficiais receptoras (Goldstein *et al.*, 2012; Akanbi *et al.*, 2017).

Gráfico 4 - Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de *Staphylococcus* spp. (n= 11).



Fonte: Autor (2025)

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora o sistema HRAP tenha demonstrado boa remoção de carga bacteriana, destacam a necessidade de estratégias complementares, como tratamento terciário (ozonização, UV, filtração por membranas, dentre outros), devido à carga bacteriana remanescente e a persistência de bactérias multirresistentes.

A emergência da resistência antimicrobiana se estende além das instituições clínicas, atingindo Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs). A maior concentração de bactérias resistentes e a intensa troca de genes de resistência em ambientes como esgotos, somadas ao contato com diversos antibióticos, amplificam essa resistência. A atualização dos manuais de referência, quanto a classificação com testes específicos para ETEs torna-se crucial, visto que a resistência ambiental observada em estudos, como este, pode ser superior à observada clinicamente.

Os resultados também levantam questionamentos sobre a legislação ambiental brasileira. A Resolução CONAMA nº 430/2011, que regula os padrões para lançamento de efluentes, não aborda a presença de bactérias multirresistentes ou genes de resistência, criando uma lacuna regulatória.

A análise da resistência a antibióticos pode alterar a avaliação da qualidade e múltiplos usos das águas, devendo ser um método complementar aos parâmetros. A ausência de parâmetros regulatórios compromete o meio ambiente e a saúde pública, uma vez que os corpos hídricos podem disseminar genes de resistência.

Portanto, os resultados deste estudo reforçam a urgência de atualizar as normas brasileiras, incluindo critérios modernos de avaliação microbiológica, para mitigar a disseminação da resistência antimicrobiana, bem como métodos de tratamento que possam minimizar a disseminação de multirresistência nas ETEs.

6 CONCLUSÃO

De acordo com a análise dos resultados obtidos, concluiu-se que o reator HRAP apesar de apresentar remoção de coliformes totais, *E. coli*, *Enterococcus* spp. e *Staphylococcus* spp., foi ínfima, considerando os limites necessários para reúso. Ademais, os isolados que permaneceram após o tratamento apresentaram perfil de multirresistência aos antibióticos testados. Isso indica que, embora o sistema reduza minimamente a quantidade de bactérias, as cepas mais resistentes tendem a sobreviver, devido a persistência dos genes de resistência que são mais difíceis de serem eliminados. Assim, mesmo que o sistema seja eficaz na remoção dos patógenos utilizando efluente pré-tratado como indica estudos prévios, não apresentou boa remoção no tratamento de efluente bruto de alta carga, além de não ter sido seletivo quanto a resistência, o que evidencia a importância de associar o tratamento biológico a estratégias complementares de controle de multirresistência e reforça a necessidade de monitorar não apenas a presença bacteriana, mas também a resistência antimicrobiana nos efluentes tratados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-RAOUF, Neveen; AL-HOMAIDAN, A. A.; IBRAHEEM, IBM4052567. **Microalgae and wastewater treatment**. Saudi journal of biological sciences, v. 19, n. 3, p. 257-275, 2012.

ABDELGALEL, Reham R. et al. **Multidrug-resistant *E. Coli* in wastewater sources: a comparative study and identification of resistance hotspots**. BMC microbiology, v. 25, n. 1, p. 498, 2025.

AKANBI, Olufemi Emmanuel et al. **Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from recreational waters and beach sand in Eastern Cape Province of South Africa**. International journal of environmental research and public health, v. 14, n. 9, p. 1001, 2017.

AKYA, Alisha et al. **Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from hospital wastewater in Kermanshah, Iran**. Risk management and healthcare policy, p. 1035-1042, 2020.

ALMOMANI, Fares et al. **Impact of CO₂ concentration and ambient conditions on microalgal growth and nutrient removal from wastewater by a photobioreactor**. Science of The Total Environment, v. 662, p. 662-671, 2019.

AMADOR, Paula P. et al. **Antibiotic resistance in wastewater: Occurrence and fate of Enterobacteriaceae producers of Class A and Class C β -lactamases**. Journal of Environmental Science and Health, Part A, v. 50, n. 1, p. 26-39, 2015.

APHA - American Public Health Association. W. W. A. WEF. (2012). **Standard methods for the examination of water and wastewater**, v. 22, 2012.

APHA. American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination Water and Wastewater**. 20 ed. Washington: American Public Health Association; 1998.

ARAÚJO, Francisco Bernardo Dácio et al. **Resistência bacteriana ao uso de antibiótico: mecanismos, desafios e estratégias de enfrentamento.** Revista de Gestão e Secretariado, v. 16, n. 3, p. e4709-e4709, 2025.

ATHAYDES, Tiago Vinicius Silva; PAROLIN, Mauro; CRISPIM, Jefferson De Queiroz. **Análise histórica sobre práticas de saneamento básico no mundo.** Revista nacional de gerenciamento de cidades, v. 8, n. 65, 2020.

BAIRD PARKER AGAR BASE. Disponível em:
<<https://www.himedialabs.com/us/m043s-baird-parker-agar-base.html>>

BAIRD, R. et al. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.** 23. ed. Washington, Dc: American Public Health Association, 2017.

BAQUERO, Fernando; MARTÍNEZ, José-Luis; CANTÓN, Rafael. **Antibiotics and antibiotic resistance in water environments.** Current opinion in biotechnology, v. 19, n. 3, p. 260-265, 2008.

BARRIOS, Renys E. et al. **Fate and transport of antibiotics and antibiotic resistance genes in runoff and soil as affected by the timing of swine manure slurry application.** Science of the total environment, v. 712, p. 136505, 2020.

BECKER, Karsten; SKOV, Robert L.; VON EIFF, Christof. **Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci.** Manual of clinical microbiology, p. 354-382, 2015.

BESSA, Lucinda J. et al. **High prevalence of multidrug-resistant Escherichia coli and Enterococcus spp. in river water, upstream and downstream of a wastewater treatment plant.** Journal of water and health, v. 12, n. 3, p. 426-435, 2014.

BLANCH, A. R. et al. **Comparison of enterococcal populations related to urban and hospital wastewater in various climatic and geographic European regions.** Journal of Applied Microbiology, v. 94, n. 6, p. 994-1002, 2003.

BOLZANI, Hugo Renan. **Fotobiorreator Flat Panel e Lagoa Raceway: avaliação do cultivo de microalgas nativas para tratamento e recuperação de nutrientes provenientes de esgoto sanitário anaeróbio de alta carga**. 2023. Tese de doutorado. Faculdade de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade Estadual Paulista, Bauru, 2023.

BOMFIM, Isabela Maria Fortaleza Neves. **Resistência Bacteriana em cocos Gram-Positivos: revisão bibliográfica**. 2017.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 mar. 2005.

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, de 17 de março de 2005, do CONAMA**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 de maio de 2011.

BRASIL. Lei nº 14.026/2020, de 15 de julho de 2020. **Atualiza o marco legal do saneamento básico e altera a Lei nº 9.984, de 17 de julho de 2000, para atribuir à Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (ANA) competência para editar normas de referência sobre o serviço de saneamento, a Lei nº 10.768, de 19 de novembro de 2003, para alterar o nome e as atribuições do cargo de Especialista em Recursos Hídricos, a Lei nº 11.107, de 6 de abril de 2005, para vedar a prestação por contrato de programa dos serviços públicos de que trata o art. 175 da Constituição Federal, a Lei nº 11.445, de 5 de janeiro de 2007, para aprimorar as condições estruturais do saneamento básico no País, a Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010, para tratar dos prazos para a disposição final ambientalmente adequada dos rejeitos, a Lei nº 13.089, de 12 de janeiro de 2015 (Estatuto da Metrópole), para estender seu âmbito de aplicação às microrregiões, e a Lei nº 13.529, de 4 de dezembro de 2017, para autorizar a União a participar de fundo com a finalidade exclusiva de financiar serviços técnicos especializados**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 15 jul. 2020.

BRCAST. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. **Tabela de pontos de corte antimicrobianos.** 2024. Disponível em: <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/09/Tabela-pontos-de-corte-BrCAST-13-04-2024.pdf>. Acesso em 26 out. 2025.

BRUM, Kênia Miquilina; LIMA, Magna Coroa. **ESTUDO DA RESISTÊNCIA BACTERIANA EM ÁGUA E ESGOTO DA CIDADE DE VIÇOSA-MG.** ANAIS SIMPAC, v. 14, n. 1, 2023.

BUELOW, Elena et al. **Limited influence of hospital wastewater on the microbiome and resistome of wastewater in a community sewerage system.** FEMS microbiology ecology, v. 94, n. 7, p. fty087, 2018.

CAIRNS, Johannes et al. **Ecology determines how low antibiotic concentration impacts community composition and horizontal transfer of resistance genes.** Communications biology, v. 1, n. 1, p. 35, 2018.

CANEDO, Juliana Maria Ramos Casanova. **O perfil global da resistência aos antibióticos em águas residuais: Uma revisão sistemática.** 2024.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION et al. **Revised definition of extensively drug-resistant tuberculosis.** MMWR Morb Mortal Wkly Rep, v. 55, n. 1176, p. 1, 2006.

CHAGAS, Thiago Pavoni Gomes. **Deteção de bactérias multirresistentes aos antimicrobianos em esgoto hospitalar no Rio de Janeiro.** 2011. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado em Medicina Tropical, Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. 2011.

CHAMBONNIERE, Paul; PLOUVIEZ, Maxence; GUIEYSSE, Benoit. **Modelling *Escherichia coli* removal during domestic wastewater treatment in outdoor pilot scale High Rate Algal Ponds.** Journal of Applied Phycology, v. 35, n. 3, p. 1203-1212, 2023.

CHERNICHARO, CA de L.; RIBEIRO, T. B.; PEGORINI, E. S.; POSSETTI, G. R. C.; MIKI, M. K.; SOUZA, S. N. **Contribution for improving the design, construction and operation of UASB reactors treating sewage—part 1: Topics of Interest (Contribuição para o aprimoramento de projeto, construção e operação de reatores UASB aplicados ao tratamento de esgoto sanitário—Parte 1: Tópicos de Interesse)**. Revista DAE, v. 66, p. 5-16, 2018.

Clinical and Laboratory Standards Institute Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests (approved standard-eleventh edition), Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA (2017). CLSI document: MO2-A11. 2017.

COELHO, Gabriela Fernandes. **Investigação da resistência antimicrobiana em esgoto sanitário e efluente de lagoas de estabilização na região de Belo Horizonte/MG, durante a pandemia da COVID-19**. 2023. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, 2023.

CONCEIÇÃO, Matheus Carvalho. **Análise comparativa de desempenho de estações de tratamento de esgotos sanitários de grande e pequeno porte em Aracaju**. 2019.

CUSSOLIM, Phylipe Adrian et al. **Mecanismos de resistência do Staphylococcus aureus a antibióticos**. Revista faculdades do saber, v. 6, n. 12, p. 831-843, 2021.

DA SILVA, Elmo Rodrigues. **O curso da água na história: simbologia, moralidade e a gestão de recursos hídricos**. 1998. Tese de Doutorado. Tese de doutoramento, Escola Nacional de Saúde Pública.

DA SILVA, Miguel Ferreira 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.

DE ANDRADE, Leonardo Neves; DA COSTA DARINI, Ana Lúcia. **Mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos**. 2020.

DE WILT, A. et al. **Micropollutant removal in an algal treatment system fed with source separated wastewater streams**. Journal of Hazardous Materials, v. 304, p. 84-92, 2016.

DOS REIS NUNES, Larissa; DIAZ, Rafael Rodrigo Licheski. **A evolução do saneamento básico na história e o debate de sua privatização no Brasil**. Revista de Direito da Faculdade Guanambi, v. 7, n. 2, p. 1, 2020.

ECDC, EMEA. **The bacterial challenge—time to react a call to narrow the gap between multidrug-resistant bacteria in the eu and development of new antibacterial agents**. Solna: ECDC & EMEA Joint Press Release, 2009.

EL-HALFAWY, Omar M.; VALVANO, Miguel A. **Antimicrobial heteroresistance: an emerging field in need of clarity**. Clinical microbiology reviews, v. 28, n. 1, p. 191-207, 2015.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2013). **EUCAST Disk Diffusion Test Manual**. v. 15.0, 2025.

FERREIRA DA SILVA, Miguel et al. **Antimicrobial resistance patterns in Enterobacteriaceae isolated from an urban wastewater treatment plant**. FEMS microbiology ecology, v. 60, n. 1, p. 166-176, 2007.

FERREIRA, João Cairo. **Bactérias potencialmente resistentes a antibióticos, desinfetantes e radiação ultravioleta, isoladas de esgoto hospitalar e esgoto sanitário**. 2015. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2015.

FLUIT, Ad C. et al. **Antimicrobial resistance among urinary tract infection (UTI) isolates in Europe: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program 1997**. Antonie Van Leeuwenhoek, v. 77, n. 2, p. 147-152, 2000.

GATAMANENI, Bhalamurugan Loganathan; ORSAT, Valérie; LEFSRUD, Mark. **Factors affecting growth of various microalgal species**. Environmental Engineering Science, v. 35, n. 10, p. 1037-1048, 2018.

GOLDSTEIN, Rachel E. Rosenberg et al. **Detection of vancomycin-resistant enterococci (VRE) at four US wastewater treatment plants that provide effluent for reuse.** Science of the Total Environment, v. 466, p. 404-411, 2014.

GOLDSTEIN, Rachel E. Rosenberg et al. **Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) detected at four US wastewater treatment plants.** Environmental health perspectives, v. 120, n. 11, p. 1551-1558, 2012.

GUARDABASSI, Luca; DALSGAARD, Anders. **Occurrence and fate of antibiotic resistant bacteria in sewage.** Danish Environmental protection agency, v. 722, p. 1-59, 2002.

GUDIUKAITE, R. et al. **Bioprocesses for the recovery of bioenergy and value-added products from wastewater: A review.** Journal of Environmental Management, v. 300, p. 113831, 2021.

HALLING-SØRENSEN, B. N. N. S. et al. **Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment-A review.** Chemosphere, v. 36, n. 2, p. 357-393, 1998.

HARTIG, C.; STORM, T.; JEKEL, M. **Detection and identification of sulphonamide drugs in municipal waste water by liquid chromatography coupled with electrospray ionisation tandem mass spectrometry.** Journal of Chromatography A, v. 854, n. 1-2, p. 163-173, 1999.

HAYES, Joshua R. et al. **Multiple-antibiotic resistance of Enterococcus spp. isolated from commercial poultry production environments.** Applied and Environmental Microbiology, v. 70, n. 10, p. 6005-6011, 2004.

HELLER, Léo. **Saneamento como política pública: um olhar a partir dos desafios do SUS.** Rio de Janeiro: Fiocruz, 2018.

HICROME™ CHROMOGENIC COLIFORM AGAR. Disponível em:
<<https://www.himedialabs.com/us/m1991i-hicrome-chromogenic-coliform-agar-cca-agar.html>>

HIRSCH, Roman et al. **Occurrence of antibiotics in the aquatic environment**. Science of the Total Environment, v. 225, n. 1-2, p. 109-118, 1999.

HOTA, Sourish et al. ***Enterococcus*: Understanding their resistance mechanisms, therapeutic challenges, and emerging threats**. Cureus, v. 17, n. 2, 2025.

JENDRZEJEWSKA, Natalia; KARWOWSKA, Ewa. **Bacterial resistance to β -lactam antibiotics in municipal wastewater: Insights from a full-scale treatment plant in Poland**. Microorganisms, v. 10, n. 12, p. 2323, 2022.

KARYA, N. G. A. I.; VAN DER STEEN, N. P.; LENS, P. N. L. **Photo-oxygenation to support nitrification in an algal–bacterial consortium treating artificial wastewater**. Bioresource technology, v. 134, p. 244-250, 2013.

KARKMAN, Antti et al. Antibiotic-resistance genes in waste water. **Trends in microbiology**, v. 26, n. 3, p. 220-228, 2018.

KEFFER, J. E.; KLEINHEINZ, G. T. **Use of *Chlorella vulgaris* for CO₂ mitigation in a photobioreactor**. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, v. 29, n. 5, p. 275-280, 2002.

KLARE, Ingo et al. **Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium***. International journal of food microbiology, v. 88, n. 2-3, p. 269-290, 2003.

KLÜMPER, Uli et al. **Broad host range plasmids can invade an unexpectedly diverse fraction of a soil bacterial community**. The ISME journal, v. 9, n. 4, p. 934-945, 2015.

KONOPKA, Joanna K. et al. **Environmental impacts of mass drug administration programs: exposures, risks, and mitigation of antimicrobial resistance**. Infectious Diseases of Poverty, v. 11, n. 1, p. 78, 2022.

KUMAR, K. Suresh et al. **Microalgae—a promising tool for heavy metal remediation.** Ecotoxicology and environmental safety, v. 113, p. 329-352, 2015.

KÜMMERER, Klaus. **Antibiotics in the aquatic environment—a review—part II.** Chemosphere, v. 75, n. 4, p. 435-441, 2009.

LIU, Lei; HALL, Geof; CHAMPAGNE, Pascale. **The role of algae in the removal and inactivation of pathogenic indicator organisms in wastewater stabilization pond systems.** Algal Research, v. 46, p. 101777, 2020.

LIYANAGE, Chamara P.; YAMADA, Koichi. **Impact of population growth on the water quality of natural water bodies.** Sustainability, v. 9, n. 8, p. 1405, 2017.

LOUREIRO, Rui João et al. **O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução.** Revista Portuguesa de saúde pública, v. 34, n. 1, p. 77-84, 2016.

M-ENTEROCOCCUS AGAR BASE. Disponível em:
<<https://www.himedialabs.com/us/m1108-m-enterococcus-agar-base.html>>

MACHADO, Elayne Cristina et al. **Deteção e quantificação de bactérias resistentes aos antibióticos ampicilina e cloranfenicol em estações de tratamento de esgoto doméstico.** Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 25, n. 6, p. 847-857, 2020.

MAEUSLI, Marlène et al. **Horizontal gene transfer of antibiotic resistance from *Acinetobacter baylyi* to *Escherichia coli* on lettuce and subsequent antibiotic resistance transmission to the gut microbiome.** MSphere, v. 5, n. 3, p. 10.1128/msphere. 00329-20, 2020.

MAGIORAKOS, A.-P. et al. **Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance.** Clinical microbiology and infection, v. 18, n. 3, p. 268-281, 2012.

MARTINEZ, Jose Luis. **Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants.** Environmental pollution, v. 157, n. 11, p. 2893-2902, 2009.

MCEWEN, Scott A.; COLLIGNON, Peter J. **Antimicrobial resistance: a one health perspective**. Antimicrobial resistance in bacteria from livestock and companion animals, p. 521-547, 2018.

MOLALE-TOM, L. G.; BEZUIDENHOUT, C. C. **Prevalence, antibiotic resistance and virulence of *Enterococcus* spp. from wastewater treatment plant effluent and receiving waters in South Africa**. Journal of Water and Health, v. 18, n. 5, p. 753-765, 2020.

MUÑOZ, Raul; GUIEYSSE, Benoit. **Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review**. Water research, v. 40, n. 15, p. 2799-2815, 2006.

MURRAY, Christopher JL et al. **Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis**. The lancet, v. 399, n. 10325, p. 629-655, 2022.

MUTNICK, Alan H.; BIEDENBACH, Douglas J.; JONES, Ronald N. **Geographic variations and trends in antimicrobial resistance among *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–2000)**. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, v. 46, n. 1, p. 63-68, 2003.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1999. NCCLS document M100-S9. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**, 9th ed. Informational supplement. NCCLS, Wayne, Pa.

NOGUEIRA, A. V.; FILHO, G. N. S. **Microbiologia**. 1º ed. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 211p. 2015.

OUALI, A. et al. **Removal kinetic of *Escherichia coli* and enterococci in a laboratory pilot scale wastewater maturation pond**. Water science and technology, v. 69, n. 4, p. 755-759, 2014.

PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. N. **Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production**. Bioresource technology, v. 102, n. 1, p. 35-42, 2011.

PARK, Ji-Hyun et al. **Comprehensive Study of Antibiotic Resistance in *Enterococcus* spp.: Comparison of Influent and Effluent of Wastewater Treatment Plants**. Antibiotics, v. 13, n. 11, p. 1072, 2024.

PAWAR, Sanjay. **Effectiveness mapping of open raceway pond and tubular photobioreactors for sustainable production of microalgae biofuel**. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 62, p. 640-653, 2016.

PEDRA, Y. et al. **Antibióticos: Mecanismos e desafios**. Ciências Biológicas e da Saúde: Integrando Saberes em Diferentes Contextos, v. 4, p. 83-103, 2023.

PETERS, Jan et al. **Species distribution and antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from food of animal origin in Germany**. International journal of food microbiology, v. 88, n. 2-3, p. 311-314, 2003.

PETERSON, Elizabeth; KAUR, Parjit. **Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: relationships between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens**. Frontiers in microbiology, v. 9, p. 2928, 2018.

POMPEI, Caroline Moco Erba et al. **Assessment of total coliforms and *E. coli* removal in algae-based pond under tropical temperature in addition of carbon dioxide (CO₂) and shading**. Ecological Engineering, v. 196, p. 107102, 2023.

POSADAS, Esther et al. **Influence of pH and CO₂ source on the performance of microalgae-based secondary domestic wastewater treatment in outdoors pilot raceways**. Chemical Engineering Journal, v. 265, p. 239-248, 2015.

RAMESSAR, Kerisha; OLANIRAN, Ademola O. **Antibiogram and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* recovered from treated wastewater effluent and receiving surface water in Durban, South Africa**. World Journal of Microbiology and Biotechnology, v. 35, n. 9, p. 142, 2019.

RASTOGI, Rajesh Prasad; MADAMWAR, Datta; PANDEY, Ashok (Ed.). **Algal green chemistry: recent progress in biotechnology**. 2017.

REINTHALER, F. F. et al. **Antibiotic resistance of *E. coli* in sewage and sludge**. Water research, v. 37, n. 8, p. 1685-1690, 2003.

RENUKA, Nirmal et al. **Evaluation of microalgal consortia for treatment of primary treated sewage effluent and biomass production**. Journal of applied phycology, v. 25, n. 5, p. 1529-1537, 2013.

RICE, Louis B. **Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE**. The Journal of infectious diseases, v. 197, n. 8, p. 1079-1081, 2008.

RIZZO, Luigi 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.

ROCHA, Julio Cesar; ROSA, André Henrique; CARDOSO, Arnaldo Alves. **Introdução à química ambiental**. Artmed Editora, 2009.

RODRIGUES, Elyfas Allyjackson Morais et al. **Rural Sanitation: scenarios and public policies for the brazilian semi-arid region**. Sustainability, v. 14, n. 12, p. 7157, 2022.

RONG, Dongli et al. **Prevalence, virulence genes, antimicrobial susceptibility, and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* from retail aquatic products in China**. Frontiers in microbiology, v. 8, p. 714, 2017.

RUAS, Grazielle et al. **CO₂ addition and semicontinuous feed regime in shaded HRAP—Pathogen removal performance**. Water, v. 14, n. 24, p. 4047, 2022.

RUAS, Grazielle et al. **The effect of CO₂ addition and hydraulic retention time on pathogens removal in HRAPs**. Water Science and Technology, v. 82, n. 6, p. 1184-1192, 2020.

SAAVEDRA, Ricardo et al. **Influence of organic matter and CO₂ supply on bioremediation of heavy metals by *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus almeriensis* in a multimetallic matrix**. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 182, p. 109393, 2019.

SAFARPOOR DEHKORDI, Farhad et al. **Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from hospital food**. Antimicrobial resistance & infection control, v. 6, n. 1, p. 104, 2017.

SANTOS, Henrique Alves. **Investigação de fatores que podem influenciar a disseminação de bactérias resistentes a antibióticos durante a pandemia da COVID-19**. 2024.

SAÚCO, Carlos et al. **Hybrid wastewater treatment system based in a combination of high rate algae pond and vertical constructed wetland system at large scale**. Journal of Water Process Engineering, v. 43, p. 102311, 2021.

SILVA, Vanessa et al. **High frequency of the EMRSA-15 clone (ST22-MRSA-IV) in hospital wastewater**. Microorganisms, v. 10, n. 1, p. 147, 2022.

SILVEIRA, André Braga Galvão. **Estratégias para a Universalização do Saneamento Rural: Um Estudo Baseado em Experiências Internacionais**. 2013. Tese de Mestrado. Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, Brasil, 2013.

SPOLAORE, Pauline et al. **Commercial applications of microalgae**. Journal of bioscience and bioengineering, v. 101, n. 2, p. 87-96, 2006.

STELLING, John M. et al. **Integrating *Escherichia coli* antimicrobial susceptibility data from multiple surveillance programs**. Emerging Infectious Diseases, v. 11, n. 6, p. 873, 2005.

SUTHERLAND, Donna L.; TURNBULL, Matthew H.; CRAGGS, Rupert J. **Environmental drivers that influence microalgal species in fullscale wastewater treatment high rate algal ponds**. Water Research, v. 124, p. 504-512, 2017.

TALAEIKHOZANI, Amirreza; REZANIA, Shahabaldin. **Application of photosynthetic bacteria for removal of heavy metals, macro-pollutants and dye from wastewater: A review**. Journal of Water Process Engineering, v. 19, p. 312-321, 2017.

TENNSTEDT, Thomas et al. **Occurrence of integron-associated resistance gene cassettes located on antibiotic resistance plasmids isolated from a wastewater treatment plant.** FEMS microbiology ecology, v. 45, n. 3, p. 239-252, 2003.

TING, Han et al. **Progress in microalgae cultivation photobioreactors and applications in wastewater treatment: A review.** International Journal of Agricultural and Biological Engineering, v. 10, n. 1, p. 1-29, 2017.

UGWU, C. U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H. **Photobioreactors for mass cultivation of algae.** Bioresource Technology, v. 99, p. 4021 – 4028, 2008.

VASSALLE, Lucas et al. **Can high rate algal ponds be used as post-treatment of UASB reactors to remove micropollutants?.** Chemosphere, v. 248, p. 125969, 2020.

VON SPERLING, Marcos. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.** Editora UFMG, 1996.

WANG, Jilu 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.

WANJUGI, P; HARWOOD, V.J. **The influence of predation and competition on the survival of commensal and pathogenic fecal bacteria in aquatic habitats.** Environmental Microbiology. v. 15, n. 2, p. 517-526, 2013.

WARD, A. J.; LEWIS, D. M.; GREEN, F. B. **Anaerobic digestion of algae biomass: a review.** Algal Research, v. 5, p. 204-214, 2014.

WOLLMANN, Felix et al. **Microalgae wastewater treatment: Biological and technological approaches.** Engineering in Life Sciences, v. 19, n. 12, p. 860-871, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO bacterial priority pathogens list, 2024: bacterial pathogens of public health importance, to guide research, development, and**

strategies to prevent and control antimicrobial resistance. World Health Organization, 2024.

XIAO, Wenyu et al. **Review on biogeochemical characteristics of typical antibiotics in groundwater in China.** Sustainability, v. 15, n. 8, p. 6985, 2023.

XIE, Hui et al. **Disappearance and prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and other coliforms in the wastewater treatment process.** Environmental Science and Pollution Research, v. 30, n. 35, p. 83950-83960, 2023.

XU, Ling et al. **Microalgal bioreactors: Challenges and opportunities.** Engineering in Life Sciences, v. 9, n. 3, p. 178–189, 2009.

ZHANG, Zhiguo et al. **Effects of UV disinfection on phenotypes and genotypes of antibiotic-resistant bacteria in secondary effluent from a municipal wastewater treatment plant.** Water research, v. 157, p. 546-554, 2019.