

842 - REMOÇÃO DE BRA E INDICADORES BACTERIANOS E VIRAIS EM LODOS ATIVADOS

Edgard Henrique Oliveira Dias ⁽¹⁾

Engenheiro Ambiental pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Mestre em Saneamento e Meio Ambiente pela UFV. Doutor em Meio Ambiente pela *University of Brighton* (UK). Professor do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (ESA) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

Ana Carolina de Castro Bertucci

Graduanda do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

Lidiane de Souza José Maria

Graduanda do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

Pâmella Ferreira da Silva

Graduanda do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

Endereço ⁽¹⁾: Rua José Lourenço Kelmer, s/n - São Pedro - Juiz de Fora - Minas Gerais - CEP: 36036-900 - Brasil - Tel: +55 (32) 2102-3419, ramal 208 - e-mail: edgard.dias@ufjf.br

RESUMO

Apesar do reúso de águas residuárias apresentar benefícios ambientais e econômicos, a presença de organismos patogênicos em efluentes domésticos, incluindo vírus entéricos humanos e bactérias resistentes a antibióticos, colocam em risco a saúde humana. Uma vez que as concentrações e as eficiências de remoção de bactérias indicadoras tradicionalmente utilizadas (p.ex. coliformes e enterococos) aparentam não correlacionar com as de vírus patogênicos, existe a necessidade de se investigar a utilização de indicadores de contaminação viral alternativos, sendo os bacteriófagos potenciais indicadores. Nesse sentido, o presente documento apresenta resultados do monitoramento de uma Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) de Juiz de Fora – MG, composta por lodos ativados com aeração prolongada, em termos de concentrações e eficiências de remoção de dois grupos de bacteriófagos como indicadores virais (colifagos somáticos e colifagos F-específicos), duas bactérias indicadoras de contaminação fecal (*Escherichia coli* e enterococos intestinais) e seis grupos de BRA, além de parâmetros físico-químicos tradicionais (SST, DQO e Nitrogênio). As concentrações médias no esgoto bruto de fagos (SOM-PH = 5,4 log₁₀ ufp/100mL; F-PH = 5,5 log₁₀ ufp/100mL) e bactérias indicadoras (EC = 6,8 log₁₀ ufc/100mL; EI = 5,7 log₁₀ ufc/100mL) são condizentes com a literatura. Já em termos de eficiências de remoção, fagos (SOM-PH = 1,6 log₁₀; F-PH = 2,0 log₁₀) foram mais removidos do que bactérias (EC = 1,8 log₁₀; EI = 1,2 log₁₀), o que contraria o esperado, já que vírus são mais resistentes a sistemas de tratamento do que bactérias. Em se tratando bactérias resistentes a antibióticos (BRA), as concentrações médias no esgoto bruto foram superiores a 7,0 log₁₀ ufc/100mL, com eficiências médias de remoção de 1,3-1,9 log₁₀.

PALAVRAS-CHAVE: organismos indicadores; bacteriófagos; bactérias resistentes a antibióticos; saúde pública.

INTRODUÇÃO

O tratamento de esgotos domésticos visa remover matéria orgânica e sólidos suspensos e, em alguns casos, nutrientes e microrganismos patogênicos. Processos biológicos são predominantemente usados como a principal etapa de tratamento no mundo todo. Dentre os principais sistemas de tratamento utilizados no Brasil, tem-se reatores anaeróbios (37%), lagoas de estabilização (35%) e lodos ativados (10%) (ANA,2020). De modo geral, esses sistemas não são projetados para remover microrganismos como bactérias e vírus (exceto lagoas de maturação / polimento), embora frequentemente alguma remoção seja observada.

Vírus patogênicos estão largamente associados a doenças de veiculação hídrica, com grande implicação na saúde pública. Em crianças, por exemplo, os norovírus são ligados a surtos de gastroenterite aguda (IBRAHIM, 2020). Adenovírus humanos estão relacionados a doenças gastrointestinais, respiratórias, urinárias e outras infecções (SILVA et al., 2011).

Nos atuais modelos de ETes, a remoção de bactérias se mostra muito mais eficiente do que de vírus (DIAS et al., 2018). Isso porque vírus são significativamente menores do que bactérias entéricas, e geralmente mais resistentes aos sistemas de tratamento (PURNELL et al., 2015). Assim, bactérias indicadoras de contaminação comumente empregadas, como *Escherichia coli* e enterococos intestinais, são questionáveis para indicação em termos de vírus entéricos. Alternativamente, bacteriófagos, ou simplesmente fagos, que são vírus que infectam bactérias, são apontados como indicadores virais alternativos. Fagos apresentam estrutura, composição, tamanho e modo de replicação semelhantes aos vírus entéricos patogênicos (NASSER et al., 2021), são comumente observados em elevadas concentrações nos esgotos domésticos, e possuem alta resistência a sistemas de tratamento (USEPA, 2015; McMINN et al., 2017). Dois grupos de colifagos se destacam como indicadores da qualidade da água: colifagos somáticos e colifagos F-específicos (GRABOW, 2001). As análises de fagos são mais simples do que as de vírus entéricos humanos, e assim podem ser identificados e quantificados por métodos analíticos convencionais, economicamente viáveis e rápidos, baseados em ensaios de cultivo, com a formação de placas de lise celular das cepas hospedeiras utilizadas, fornecendo resultados em unidades formadoras de placas por unidade de volume (USEPA, 2015; DIAS et al., 2018).

A resistência bacteriana aos antibióticos também vem se mostrando como um problema de saúde pública mundial, e tem se tornado uma grande preocupação na comunidade científica. O Brasil está entre os países com maior número de doses de antibióticos consumidos, sendo o país com maior consumo de antibióticos da América e o 19º maior consumidor de antibióticos entre os 65 países pesquisados pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2018). Além disso, a resistência antimicrobiana compromete a eficácia dos antibióticos na prevenção e tratamento de infecções, aumentando o custo dos cuidados médicos (OMS, 2021). A presença de antibióticos em níveis de subconcentração pode levar à seleção de populações de bactérias resistentes (Khan et al., 2017), que podem transferir genes de resistência para bactérias não resistentes (BOUKI et al., 2013; REECE et al., 2013; REECE et al., 2015). De acordo com Reece et al. (2015), células portadoras de genes de resistência promovem a formação de populações de bactérias resistentes devido à rápida reprodução e seleção natural. Assim, a transferência vertical de genes para as gerações subsequentes começa a acontecer (MACHADO, 2019). Além disso, bactérias não resistentes podem adquirir resistência por transferência horizontal de genes, por meio da troca de elementos genéticos móveis (MGEs) entre organismos (BOUKI et al., 2013; REECE et al., 2015; MACHADO, 2019; ARSAND, 2019). Segundo Machado (2019), os MGEs são segmentos de DNA que codificam enzimas e outras proteínas que regulam a movimentação do material genético, dentro do próprio genoma ou entre células bacterianas.

Dentro deste contexto, este estudo teve como objetivo o monitoramento de uma Estação de Tratamento de Esgoto de médio porte composta por sistema de tratamento por lodos ativados com aeração prolongada (LAAP) em termos da ocorrência e da eficiência de remoção de dois grupos de fagos como indicadores virais (colifagos somáticos e colifagos F-específicos), duas bactérias indicadoras fecais tradicionais (*Escherichia coli* e enterococos intestinais) e seis grupos de bactérias resistentes a antibióticos (BRA), bem como parâmetros físico-químicos convencionais (SST, DQO e nitrogênio).

MATERIAL E MÉTODOS

Monitoramento e Amostragem

As amostras foram coletadas de uma ETE de médio porte em Juiz de Fora, MG, que apresenta lodos ativados com aeração prolongada (LAAP). A ETE trata uma vazão de aproximadamente 60 L.s⁻¹ (cerca de 40.000 habitantes) e é composta pelas seguintes etapas de tratamento: (i) tratamento preliminar, incluindo gradeamento, desarenador e medição de vazão; (ii) tanque de equalização; e (iii) sistema de lodos ativados com aeração prolongada composto por tanque de aeração (TDH=20,8 h; aeração por difusores) seguido de um decantador secundário (TAH=7.85 m³.m⁻².d⁻¹). Amostras de esgoto bruto (EB) e efluente tratado (ET) foram coletadas em dezoito diferentes datas de amostragem, de maio de 2019 a junho de 2022. Em decorrência da situação de pandemia da COVID-19, não foi possível ter uma sequência contínua de coletas no período em questão, sendo as atividades de campo suspensas entre março de 2020 até novembro de 2021. A amostragem realizada foi do tipo composta, sendo coletados 250 mL de cada amostra a cada 20 minutos entre 10h e 11 h (total de 1,0 L em

cada ponto de amostragem). Foram utilizados frascos de vidro previamente esterilizados em autoclave (121°C por 15 min). As amostras foram acondicionadas em caixas térmicas contendo bolsas de gelo, e então foram transportadas para o Laboratório de Qualidade Ambiental (LAQUA) do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (ESA) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), onde posteriormente foram processadas e analisadas. Todas as amostras foram testadas para sólidos totais em suspensão (SST), demanda química de oxigênio (DQO) e nitrogênio, seguindo os métodos 2540-D, 5220-D e 4500-NH₃ B e C respectivamente, descrito nos Métodos Padrões para o Exame de Água e Esgoto (APHA, 2017).

Análises Microbiológicas

As amostras também foram testadas para dois grupos de organismos indicadores. Para as análises de bactérias indicadoras, foi utilizado a metodologia da membrana filtrante: quantificação de enterococos intestinais segundo o método ISO 7899-2/2009 (ISO, 2009); quantificação de *Escherichia coli* segundo o método ISO 9308-1/2000 (ISO, 2000). Os resultados foram dados como unidades formadoras de colônias por 100 mL ($\log_{10}$ ufc.100mL⁻¹). Já os colifagos foram analisados usando o método de cultivo celular, baseado no Método USEPA 1602 (USEPA, 2001) adaptado conforme descrito em Ives e Rosa (2012): colifagos somáticos quantificados utilizando CN13 como bactéria hospedeira; colifagos F-específicos quantificados utilizando F_{amp} como bactéria hospedeira. Os resultados dos fagos foram dados como unidades formadoras de placa por 100mL ($\log_{10}$ ufp.100mL⁻¹).

Testes de bactérias heterotróficas totais (BHT) e seis grupos diferentes de bactérias resistentes a antibióticos (BRA) também foram realizados em cinco datas amostrais, entre setembro de 2019 e março de 2020. A quantificação de BHT foi realizada através do crescimento em ágar de contagem de placas (PCA), de acordo com o método 9215-C (APHA, 2017). Para os seis grupos BRA, o meio PCA foi suplementado com diferentes antibióticos e concentrações de acordo com o método descrito por Machado (2019): 32 mg.L⁻¹ de amoxicilina; 16 mg.L⁻¹ de cefalexina; 4,0 mg.L⁻¹ de ciprofloxacina; 512 mg.L⁻¹ de sulfadiazina; 350 mg.L⁻¹ de sulfametoxazol; e 16 mg.L⁻¹ de tetraciclina. Resumidamente, as amostras foram inicialmente diluídas em solução salina (NaCl; 0,85% m/v), e então 100 µL das amostras foram semeadas em placas de PCA para análise de BHT e em placas de PCA com antibiótico para análise de BRA. As placas foram incubadas a 37±2°C por 2 dias e depois a 27±2°C por 5 dias. Ao final, foram realizadas contagens visuais de colônias. O crescimento de colônias bacterianas em placas de PCA indica a presença de BHT, enquanto o crescimento em placas contendo antibiótico (PCA + antibiótico) indica a presença de BRA. Os resultados foram expressos como unidades formadoras de colônias por 100 mL ($\log_{10}$ ufc.100 mL⁻¹).

Tratamento Estatístico Dos Dados

Análises estatísticas foram realizadas para todos os parâmetros microbiológicos. Inicialmente, foi verificada a normalidade do banco de dados utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Em seguida, foram realizadas as seguintes comparações estatísticas: (i) comparação entre as concentrações no EB e no ET, para cada organismo (Teste-t e Teste de Wilcoxon); e (ii) comparação entre as eficiências de remoção de todos os organismos (ANOVA + Teste de Tukey). Todos os testes estatísticos foram realizados considerando nível de significância de 5% ($\alpha=0,05$) com auxílio do *software* livre R, versão 4.2.1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parâmetros Físico-Químicos

As concentrações e eficiências de remoção dos parâmetros físico-químicos monitorados estão apresentadas na Figura 1. As concentrações médias de SST, DQO e DQO.filt no EB foram iguais a 185, 387 e 166 mg/L, respectivamente. Já nas amostras de ET, as concentrações médias de SST, DQO e DQO.filt observadas foram, respectivamente, 65, 87 e 46 mg/L. Assim, foram observadas eficiências médias de 64,8% para SST, 77,5% para DQO e 72,5% para DQO.filt (Figura 1.A). Em se tratando de nutrientes, as concentrações médias de NTK, NH₃ e Norg no EB foram iguais a 49,5, 40,1 e 12,0 mg/L, respectivamente. Já nas amostras de ET, as concentrações médias de NTK, NH₃ e Norg observadas foram, respectivamente, 23,6, 19,5 e 7,7 mg/L. Assim, foram observadas eficiências médias de 52,3% para NTK, 51,3% para NH₃ e 35,7% para Norg (Figura 1.B).

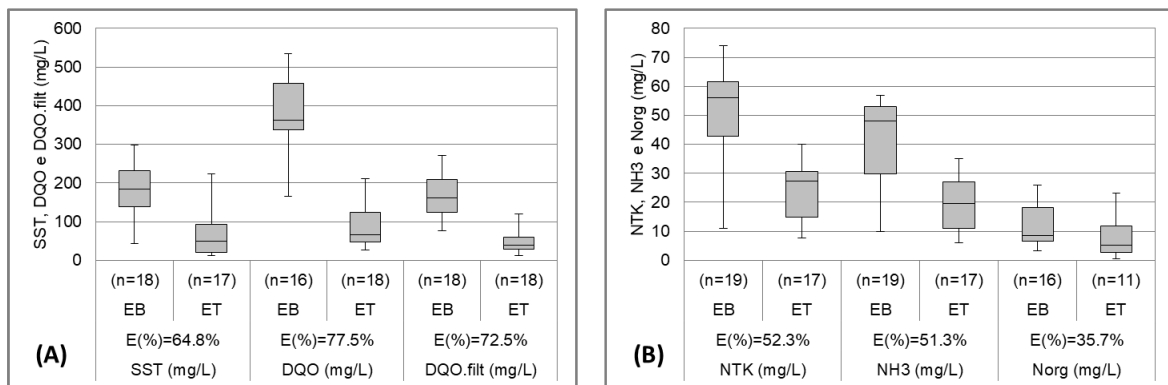


Figura 1. Box-plot das concentrações (mg/L) de sólidos em suspensão totais (SST), demanda química de oxigênio total (DQO) e demanda química de oxigênio filtrada (DQO.filt) (A) e de nitrogênio total Kjeldahl (NTK), nitrogênio amoniacal (NH3) e nitrogênio orgânico (Norg) (B) nas amostras de esgoto bruto (EB) e efluente tratado (ET). n = número de amostras; E(%) = eficiência de remoção (%).

Indicadores Virais e Bacterianos

As concentrações e eficiências de remoção dos indicadores virais (colifagos somáticos – SOM-PH; colifagos F-específicos – F-PH) e bacterianos (*Escherichia coli* – EC; enterococos intestinais – EI) monitorados são apresentadas na Figura 2. Em termos de indicadores virais, as concentrações médias de SOM-PH e F-PH para EB foram iguais a 5,42 e 5,55 log₁₀ ufp/100mL, respectivamente. Já nas amostras de ET, as concentrações médias de SOM-PH e F-PH observadas foram, respectivamente, 3,83 e 3,50 log₁₀ ufp/100mL. Assim, foram observadas eficiências médias de 1,59 log₁₀ para SOM-PH e 2,05 log₁₀ para F-PH (Figura 2). Em se tratando de indicadores bacterianos, as concentrações médias de EC e EI para EB foram iguais a 6,78 e 5,71 log₁₀ ufp/100mL, respectivamente. Já nas amostras de ET, as concentrações médias de EC e EI observadas foram, respectivamente, 5,00 e 4,53 log₁₀ ufp/100mL. Assim, foram observadas eficiências médias de 1,78 log₁₀ para EC e 1,18 log₁₀ para EI (Figura 2). Cabe mencionar que para todos os indicadores virais e bacterianos, as remoções observadas foram significativas (Teste-t e Teste de Wilcoxon; p-valor < 0,05). A partir de ANOVA+Tukey foi possível verificar que a remoção de PH-F foi significativamente maior que a EC e PH-SOM, e por fim de EI (p-valor < 0,05).

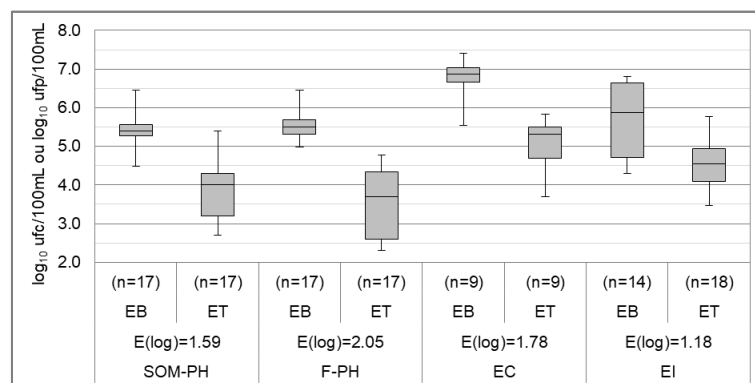


Figura 2. Box-plot das concentrações (log₁₀ org/100mL) de colifagos somáticos (SOM-PH), colifagos F-específicos (F-PH), *Escherichia coli* (EC) e enterococos intestinais (EI) nas amostras de esgoto bruto (EB) e efluente tratado (ET). n = número de amostras; E(log) = eficiência de remoção (log₁₀).

As concentrações de SOM-PH reportadas na literatura giram em torno de 6,0-7,0 log₁₀ ufp/100mL (CONSTÁN-LONGARES et al., 2008; De LUCA et al., 2013; DIAS et al., 2018; KELMER et al., 2023), enquanto os níveis de F-PH oscilam consideravelmente, com valores próximos a 3,0 log₁₀ ufp/100mL (DIAS et al., 2018) e próximos a 6,0 log₁₀ ufp/100mL (De LUCA et al., 2013; HARAMOTO et al., 2015). Em estudos realizados no Brasil, Espinosa et al. (2020) relatam concentrações de 5,7 e 5,1 log₁₀ ufp/100mL para colifagos somáticos e F-específicos, respectivamente. Assim, de modo geral, as concentrações médias de fagos observadas no presente monitoramento (5,4 log₁₀ ufp/100mL para SOM-PH; 5,5 log₁₀ ufp/100mL para F-PH – Figura 2) são condizentes

com o reportado na literatura. Em se tratando de eficiências de remoção de fagos em lodos ativados, a literatura reporta valores entre $1,3 \log_{10}$ (HARAMOTO et al., 2015) e $3,0 \log_{10}$ (De LUCA et al., 2013). Dias et al. (2018) reportaram valores de remoção iguais a $2,5 \log_{10}$ para SOM-PH e $1,5 \log_{10}$ para F-PH (KELMER et al., 2023). As eficiências de remoção observadas no presente monitoramento ($1,6 \log_{10}$ para SOM-PH; $2,0 \log_{10}$ para F-PH – Figura 2) são de certa forma condizentes com a literatura. Entretanto, é importante salientar que as eficiências observadas de SOM-PH foram superiores às de F-PH, contrariando o esperado.

No que tange a indicadores bacterianos, concentrações em esgotos domésticos reportadas na literatura oscilam em torno de $6,0$ - $7,0 \log_{10}$ ufc/100mL (De LUCA et al., 2013; PURNELL et al., 2015; PURNELL et al., 2016). Dias et al. (2018) observaram concentrações iguais a $6,6 \log_{10}$ ufc/100mL para coliformes e $5,8 \log_{10}$ ufc/100mL para enterococos em amostras de esgoto bruto. Mais recentemente, Espinosa et al. (2020) relatam concentrações consideravelmente mais altas EC em esgoto bruto no Brasil, iguais a $9,0 \log_{10}$ ufc/100mL. Os resultados aqui obtidos ($6,8 \log_{10}$ ufc/100mL para EC; $5,7 \log_{10}$ ufc/100mL para EI) parecem estar em acordo com o reportado na literatura, apesar de mais baixo do que o relatado por Espinosa et al. (2020). Em termos de eficiências de remoção, Dias et al. (2018) relatam taxas de $2,2 \log_{10}$ para coliformes e $1,6 \log_{10}$ para enterococos em sistemas de lodos ativados, similarmente a valores observados por outros trabalhos (De LUCA et al., 2013; PURNELL et al., 2015; PURNELL et al., 2016). Dessa forma, os valores encontrados no presente trabalho ($1,8 \log_{10}$ para EC; $1,2 \log_{10}$ para EI) estão em concordância com a literatura consultada. Entretanto, existem dados de eficiências de remoção mais elevadas em sistemas de tratamento por lodos ativados, de $5,0$ - $6,0 \log_{10}$ (SCHMITZ et al., 2018; CHACÓN et al., 2020). É importante comentar, entretanto, que a ETE monitorada apresentou maiores eficiências de remoção de fagos do que de bactérias indicadoras. Tal fato não era de ser esperado, pois fagos são mais resistentes a sistemas de tratamento do que bactérias indicadoras (USEPA, 2015; McMINN et al., 2017; NASSER et al., 2021). Assim, recomenda-se a continuidade do programa de monitoramento de forma a melhor entender os padrões de eficiência na ETE em questão.

No Brasil, a legislação atual, Resolução CONAMA 430/2011 (BRASIL, 2011), não aborda limites de concentração de organismos indicadores (bacterianos ou virais) em efluentes tratados. Em se tratando do enquadramento dos corpos hídricos brasileiro, a Resolução CONAMA 357/2005 (BRASIL, 2005) remete a outra legislação, a Resolução CONAMA 274/2000 (BRASIL, 2000), que estabelece critérios de balneabilidade, e com isso apresenta concentrações de coliformes em diferentes mananciais (diferentes usos). No Brasil, ainda não existem regulamentações que utilizam fagos como indicadores virais. É importante mencionar, entretanto, que fagos têm sido adotados em diferentes países em termos de águas de abastecimento, águas residuárias e águas de recreação (BALLESTÉ et al., 2022).

Bactérias Resistentes a Antibióticos (BRA)

A Figura 3 apresenta as concentrações (média $\pm$ desvio padrão) e eficiências de remoção de bactérias heterotróficas totais (BHT) e seis grupos de bactérias resistentes a antibióticos (BRA). Todos os seis grupos de BRA foram encontrados em níveis consideravelmente elevados tanto nas amostras de EB quanto de ET, com valores médios superiores a $7,0 \log_{10}$ ufc/100mL para amostras de EB e $5,0 \log_{10}$ ufc/100mL para amostras de ET. As maiores concentrações médias foram associadas a BRA-SFD ($7,68 \log_{10}$ ufc/100mL) e BRA-SMX ($7,64 \log_{10}$ ufc/100mL) em amostras de EB, e a BRA-CEP ($6,24 \log_{10}$ ufc/100mL) e BRA-SFD ($5,95 \log_{10}$ ufc/100mL) em amostras de ET (Figura 3). Em se tratando da remoção desses organismos, as eficiências oscilaram entre $1,3$ e $1,9 \log_{10}$: $1,4 \log_{10}$ para BHT; $1,3$ - $1,4 \log_{10}$ para BRA-AMX, BRA-CEP e BRA-CPX; $1,7$ - $1,9 \log_{10}$ para BRA-SFD, BRA-SMX e BRA-TET (Figura 3). Cabe mencionar que para todos os grupos de BRA as remoções observadas foram significativas (Teste-t e Teste de Wilcoxon; p-valor $< 0,05$), exceto para BRA-CEP (Teste-t e Teste de Wilcoxon; p-valor = $0,125$) e BRA-TET (Teste-t e Teste de Wilcoxon; p-valor $< 0,063$). A partir de ANOVA+Tukey foi possível verificar que as remoções de BRA-TET, BRA-SMX e BRA-SFD foram significativamente maiores que as de BRA-AMX, BRA-CEP, BRA-CPX e BHT (p-valor $< 0,05$).

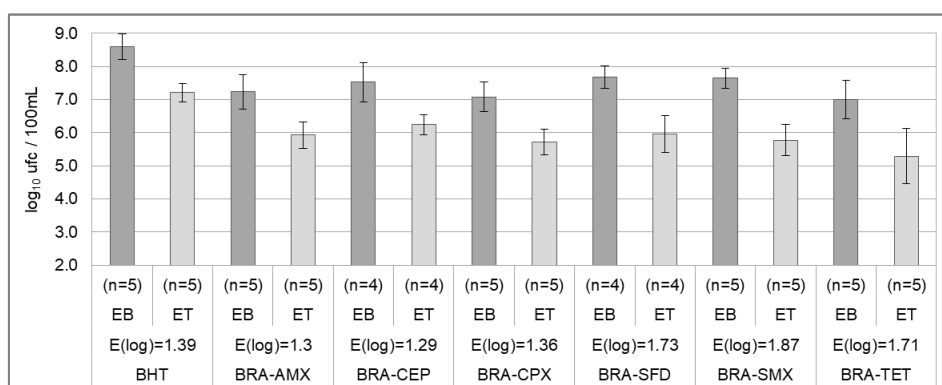


Figura 3. Média ± desvio padrão das concentrações ($\log_{10}$ org/100mL) de bactérias heterotróficas totais (BHT) e dos seis grupos de bactérias resistentes a antibióticos (BRA) estudados nas amostras de esgoto bruto (EB) e efluente tratado (ET). n = número de amostras; E(log) = eficiência de remoção ($\log_{10}$).
BRA-AMX = bactéria resistente à amoxicilina; BRA-CEP = bactéria resistente à cefalexina; CPX = bactéria resistente à ciprofloxacina; BRA-SFD = bactéria resistente à sulfadiazina; BRA-SMX = bactéria resistente à sulfametoxazol; BRA-TET = bactéria resistente à tetraciclina.

Outros estudos relatam concentrações de BHT variando de 6,2 a 9,7 $\log_{10}$ ufc/100mL em amostras de EB e de 6,0 a 7,4 $\log_{10}$ ufc/100 mL em amostras de ET, enquanto dados de diferentes grupos de BRA oscilaram entre 5,5 e 9,2 $\log_{10}$ ufc/100mL em EB, e entre 3,0 e 7,2 $\log_{10}$ ufc/100mL em ET (NOVO e MANAIA, 2010; MUNIR et al., 2011; GAO et al., 2012; KORZENIEWSKA e HARNISZ, 2013; MAKOWSKA et al., 2016; LE et al. al., 2018;). Tanto para EB quanto para ET, as concentrações observadas no presente trabalho para todos os grupos de BRA ficaram dentro da faixa relatada pela literatura.

A prevalência dos seis grupos de BRA estudados foi calculada com base nos níveis de BHT. Os resultados são apresentados na Figura 4. Para amostras de EB, os grupos BRA-SFD e BRA-TET tiveram a maior e menor prevalência média, respectivamente (13,0% para BRA-SFD; 2,7% para BRA-TET). Para as amostras de ET, o grupo BRA-TET também teve a menor prevalência média (2,5%), enquanto a maior prevalência média foi associada ao BRA-CEP (9,2%). Também é possível observar maior prevalência média de BRA-AMX, BRA-CEP e BRA-CPX nas amostras ET em relação às amostras EB (Figura 4).

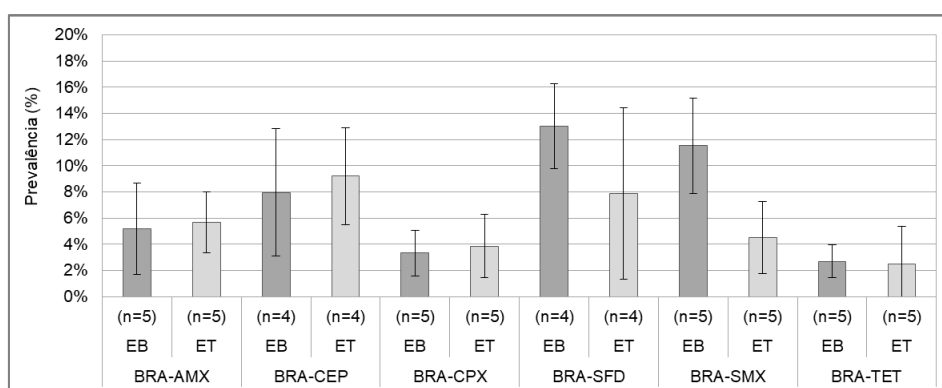


Figura 4. Média ± desvio padrão das prevalências (%) dos seis grupos de bactérias resistentes a antibióticos (BRA) estudados nas amostras de esgoto bruto (EB) e efluente tratado (ET). n = número de amostras. BRA-AMX = bactéria resistente à amoxicilina; BRA-CEP = BRA cefalexina; BRA-CPX = BRA ciprofloxacina; BRA-SFD = BRA sulfadiazina; BRA-SMX = BRA sulfametoxazol; BRA-TET = BRA tetraciclina.

Em sistemas biológicos de tratamento de efluentes, grande parte dos microrganismos que crescem no esgoto adere a partículas de matéria orgânica e/ou inorgânica e pode ser removida por sedimentação no tanque primário (MANAIA et al., 2018). Os microrganismos que não foram removidos entram em contato com as bactérias presentes no lodo biológico, e possíveis pressões de seleção. No sistema LAAP da ETE em estudo, é realizada a recirculação do lodo ativado do decantador secundário para o reator, com o objetivo de potencializar a

degradação da matéria orgânica pela biomassa ativa. Desta forma, o lodo é misturado com o efluente que entra no reator, e segundo Manaia et al. (2018) e Machado (2019), essa recirculação faz com que a microbiota do efluente, incluindo BRA, seja estimulada a competir com as bactérias do lodo pela matéria orgânica disponível. Além disso, as ETE agregam BRA a antibióticos residuais, favorecendo a seleção dessas bactérias, além de fornecer nutrientes abundantes e oferecer uma interação próxima célula a célula, facilitando a transferência de genes de resistência a antibióticos (MANAIA et al., 2018). As condições oferecidas no tratamento biológico podem levar a um aumento numérico ou proporcional de células capazes de resistir a condições adversas, sendo que uma parte será descartada no efluente tratado e outra parte retornará ao tanque por meio de recirculação, conforme mencionado anteriormente, permitindo assim o enriquecimento do lodo com células altamente adaptadas às condições mencionadas, incluindo antibióticos. Assim, o tempo de residência de BRA no reator pode ser um determinante crítico da probabilidade de sua proliferação ou seu envolvimento em eventos horizontais de transferência de genes (MANAIA et al., 2018).

CONCLUSÕES

Como era de se esperar, as concentrações no esgoto bruto foram bastante elevadas: $\sim 5,5 \log_{10}$ ufp/100mL para indicadores virais (SOM-PH e F-PH); $\sim 6,0 \log_{10}$ ufc/100mL para indicadores bacterianos (EC e EI); acima de $7,0 \log_{10}$ ufc/100mL para BRA. Os resultados indicam que a ETE monitorada se mostrou pouco eficiente na remoção dos organismos avaliados ($< 2 \log_{10}$). As taxas de remoção observadas foram iguais a, respectivamente, $1,6 \log_{10}$ e $2,0 \log_{10}$ para SOM-PH e F-PH (indicadores virais), e $1,8 \log_{10}$ e $1,2 \log_{10}$ para EC e EI (indicadores bacterianos). Curiosamente, as eficiências de remoção de bactérias indicadoras foram menores do que as observadas para os fagos, o que não era esperado, já que vírus são mais resistentes do que bactérias a sistemas de tratamento. Para os seis grupos de BRA analisados, as eficiências médias oscilaram entre $1,3 \log_{10}$ e $1,9 \log_{10}$. Como consequência, as concentrações de fagos, bactérias indicadoras e bactérias resistentes à antibióticos no efluente bruto ainda são elevadas, acima de $3,0$ - $4,0 \log_{10}$ org/100mL (acima de $5,0 \log_{10}$ org/100mL para BRA). Dessa forma, tem-se a necessidade de mais estudos para verificação dos fagos como indicadores de vírus patogênicos, considerando a realidade brasileira, incluindo lodos ativados e outros sistemas de tratamento comumente utilizados (p.ex. reatores UAB e lagoas de estabilização). Vale ressaltar que o levantamento de dados suficientemente grande pode auxiliar a formulação de legislações e regulamentações, além de subsidiar o reúso seguro dos esgotos em atividades, como por exemplo, na agricultura, de forma segura do ponto de vista ambiental e de saúde pública, e contribuindo para o cumprimento do Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 6 da ONU, Meta 6.3 (UN-WATER, 2016).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANA - Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (2020). Atualização da Base de Dados de Estações de Tratamento de Esgotos no Brasil.
2. APHA - American Public Health Association (2017). Standard methods for the examination of water and wastewater. 23a ed.
3. ARSAND, J. B. (2019). Avaliação ambiental da presença de contaminantes emergentes em água de rio utilizando espectrometria de massa. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).
4. BALLESTÉ, E. et al. (2022). Bacteriophages in sewage: abundance, roles, and applications. FEMS Microbes, Volume 3.
5. BOUKI, C. VENIERI, D. DIAMADOPOULOS, E. (2013). Detection and fate of antibiotic resistant bacteria in wastewater treatment plants: A review. Ecotoxicology and Environmental Safety. 91. 1–9.
6. BRASIL (2000). Ministério do Meio Ambiente (MMA). Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA). Resolução CONAMA 274/2000 de 29 de novembro de 2000. Define os critérios de balneabilidade em águas brasileiras.
7. BRASIL (2005). Ministério do Meio Ambiente (MMA). Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA). Resolução CONAMA nº 357, de 15 de junho 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.
8. BRASIL (2011). Ministério do Meio Ambiente (MMA). Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA). Resolução CONAMA 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

- Conselho CONAMA. CHACÓN, Luz et al. (2020). A somatic coliphage threshold approach to improve the management of activated sludge wastewater treatment plant effluents in resource-limited regions. *Applied and Environmental Microbiology*. v. 86. n. 17. p. e00616-20.
9. COSTÁN-LONGARES, A. et al. (2008). Microbial indicators and pathogens: Removal, relationships and predictive capabilities in water reclamation facilities. *Water Research*. v. 42. n. 17. p. 4439–4448.
 10. DE LUCA, G. et al. (2013). Removal of indicator bacteriophages from municipal wastewater by a full-scale membrane bioreactor and a conventional activated sludge process: Implications to water reuse. *Bioresource Technology*. v. 129. p. 526–531.
 11. DIAS, E.; EBDON, J.; TAYLOR, H. (2018). The application of bacteriophages as novel indicators of viral pathogens in wastewater treatment systems. *Water Research*. v. 129. p. 172–179.
 12. ESPINOSA, M. F. et al. (2021). Reduction and partitioning of viral and bacterial indicators in a UASB reactor followed by high-rate algal ponds treating domestic sewage. *Science of The Total Environment*. v. 760. p. 144309.
 13. GAO, P. MUNIR, M. XAGORARAKI, I. (2012). Correlation of tetracycline and sulfonamide antibiotics with corresponding resistance genes and resistant bacteria in a conventional municipal wastewater treatment plant. *Science of The Total Environment*. 421–422. 173–183.
 14. GRABOW, W. (2001). Bacteriophages: update on application as models for viruses in water. *Water SA*. v. 27. n. 2. 15.
 15. HARAMOTO, E.; FUJINO, S.; OTAGIRI, M. (2015). Distinct behaviors of infectious F-specific RNA coliphage genogroups at a wastewater treatment plant. *Science of The Total Environment*. v. 520. p. 32–38.
 16. IBRAHIM, C.; HAMMAMI, S.; HASSEN, A. (2020). Noroviruses, Sapoviruses, and Aichi Viruses Emergence in Wastewater Associated With Viral Pandemic Gastroenteritis. *Emerging and Reemerging Viral Pathogens*. p. 411–441.
 17. KELMER, G.A.R., RAMOS, E.R., DIAS, E.H.O. (2023). Coliphages as viral indicators in municipal wastewater: a comparison between the ISO and the USEPA methods based on a systematic literature review. *Water Research*. Vol. 30, 119579.
 18. KHAN, S., BEATTIE, T. K., & KNAPP, C. W. (2017). The use of minimum selectable concentrations (MSCs) for determining the selection of antimicrobial resistant bacteria. *Ecotoxicology*, 26(2), 283–292.
 19. KORZENIEWSKA, E. HARNISZ, M. (2013). Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-positive Enterobacteriaceae in municipal sewage and their emission to the environment. *Journal of environmental management*, 128, 904–911.
 20. LE, T. H., NG, C., TRAN, N. H., CHEN, H., & GIN, K. Y. H. (2018). Removal of antibiotic residues, antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in municipal wastewater by membrane bioreactor systems. *Water research*, 145, 498–508.
 21. MACHADO, E. C. (2019) Ocorrência, prevalência e remoção de bactérias resistentes a antibióticos em diferentes tipologias de sistemas compactos de tratamento de esgoto sanitário. Tese de doutorado. Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).
 22. MAKOWSKA, N., KOCZURA, R., MOKRACKA, J. (2016). Class 1 integrase, sulfonamide and tetracycline resistance genes in wastewater treatment plant and surface water. *Chemosphere*, 144, 1665–1673.
 23. MANAIA, C. M. et al. (2018). Antibiotic resistance in wastewater treatment plants: tackling the black box. *Environment international*, 115, 312–324.
 24. MCMINN, B. R.; ASHBOLT, N. J.; KORAJKIC, A. (2017). Bacteriophages as indicators of faecal pollution and enteric virus removal. *Letters in Applied Microbiology*, v. 65, n. 1, p. 11–26, 5.
 25. MUNIR, M., WONG, K., & XAGORARAKI, I. (2011). Release of antibiotic resistant bacteria and genes in the effluent and biosolids of five wastewater utilities in Michigan. *Water research*, 45(2), 681–693.
 26. NASSER, A.; SASI, S.; NITZAN, Y. (2021). Coliphages as Indicators for the Microbial Quality of Treated Wastewater Effluents. *Food and Environmental Virology*. v. 13. n. 2. p. 170–178.
 27. NOVO, A., & MANAIA, C. M. (2010). Factors influencing antibiotic resistance burden in municipal wastewater treatment plants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87(3), 1157–1166.
 28. OMS - Organização Mundial da Saúde (2021). Resistência antimicrobiana - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde. Acesso em: 31 agosto 2021. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/resistencia-antimicrobiana>.
 29. PURNELL, S. et al. (2015). Bacteriophage removal in a full-scale membrane bioreactor (MBR) – Implications for wastewater reuse. *Water Research*. v. 73. p. 109–117.

30. PURNELL, S. et al. (2016). Removal of phages and viral pathogens in a full-scale MBR: Implications for wastewater reuse and potable water. *Water Research*, v. 100, p. 20–27.
31. REECE, J. B., WASSERMAN, S. A., URRY, L. A., CAIN, M. L., MINORSKY, P. V., JACKSON, R. B. (2015). *Biologia de Campbell*. 10ed. Artmed Editora. Porto Alegre, Brasil. 1488pp.
32. SCHMITZ, B. W. et al. (2018). Reduction of *Cryptosporidium*, *Giardia*, and fecal indicators by Bardenpho wastewater treatment. *Environmental science & technology*, v. 52, n. 12, p. 7015-7023.
33. SILVA, H. D.; GARCÍA-ZAPATA, M. T. A.; ANUNCIAÇÃO, C. E. (2011). Why the Use of Adenoviruses as Water Quality Virologic Marker? *Food and Environmental Virology*, v. 3, n. 3–4, p. 138–140.
34. USEPA – United States Environmental Protection Agency (2001). Method 1602: Male-specific (F+) and Somatic Coliphage in Water by Single Agar Layer (SAL) Procedure. USEPA Office of Water. Washington, DC. EPA 821-R-01-029.
35. USEPA – United States Environmental Protection Agency (2015). Review of coliphages as possible indicators of fecal contamination for ambient water quality. USEPA Office of Water. Washington, DC. 820-R-15-098.