UFRRJ

INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA CIÊNCIA DO SOLO

DISSERTAÇÃO

Monitoramento da Qualidade Microbiológica e Perfil de Resistência a Antimicrobianos em Águas Residuais e Impacto na Diversidade Bacteriana do Solo

JULIANA FERREIRA NUNES

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO

MONITORAMENTO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM ÁGUAS RESIDUAIS E IMPACTO NA DIVERSIDADE BACTERIANA DO SOLO

JULIANA FERREIRA NUNES

Sob a orientação da Professora
Irene da Silva Coelho

Co orientação da Professora
Shana Mattos de Oliveira Coelho

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestra**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia Ciência do Solo, Área de Concentração em Biologia do Solo.

Seropédica, RJ
Maio de 2023

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
Com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

N972m

Nunes, Juliana Ferreira, 1992-
Monitoramento da qualidade microbiológica e perfil de resistência a antimicrobianos em águas residuais e impacto na diversidade bacteriana do solo / Juliana Ferreira Nunes. – Seropédica, 2023.
52 f. : il.

Orientadora: Irene da Silva Coelho.
Dissertação (Mestrado). – – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Agronomia Ciência do Solo, 2023.

1. Abatedouro avícola. 2. Águas residuais. 3. Resistência antimicrobiana. I. Coelho, Irene da Silva, 1979-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

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

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA (CIÊNCIAS DO SOLO)

HOMOLOGAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO Nº 39 / 2023 - CPGACS (12.28.01.00.00.00.27)

Nº do Protocolo: 23083.033382/2023-85

Seropédica-RJ, 24 de maio de 2023.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE AGRONOMIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA - CIÊNCIA DO SOLO

JULIANA FERREIRA NUNES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestra, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo, Área de Concentração em Biologia do Solo.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 23/05/2023.

Irene da Silva Coelho. Dra. UFRRJ

(Orientadora)

Danielli Monsores Bertholoto. Dra. UFRRJ

Greiciane França Bronzato de Almeida. Dra. FUSVE

(Assinado digitalmente em 24/05/2023 15:39)
IRENE DA SILVA COELHO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DMIV (12.28.01.00.00.00.00.54)
Matrícula: 1815763

(Assinado digitalmente em 30/05/2023 11:22)
GREICIANE FRANÇA BRONZATO DE ALMEIDA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 110.486.167-46

(Assinado digitalmente em 29/05/2023 20:12)
DANIELLI MONSORES BERTHOLOTO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 081.184.947-30

Visualize o documento original em **https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp** informando seu número: **39**, ano: **2023**, tipo: **HOMOLOGAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**, data de emissão: **24/05/2023** e o código de verificação: **bb09ee6ec8**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as mulheres que abriram caminhos para que eu pudesse, hoje, trilhar o meu próprio.

Agradeço à minha mãe, Mundinha, imensamente pela oportunidade de estar aqui hoje, trilhando o caminho acadêmico, com toda a ajuda possível, todo carinho e amorosidade. Sem o apoio dessa mulher gigante, eu nada teria conquistado.

À minha irmã Nayara por ser minha fonte de inspiração. E a toda minha família pela força dada para que eu passasse por todos os infortúnios sabendo que no final existia um colo para me acolher.

Á minha querida amiga Thereza Cristina, com quem eu dividi esse projeto, todo o processo árduo que é fazer pesquisa no Brasil. Obrigada pela parceria, pelo acolhimento e por todo o companheirismo durante esse tempo.

Ao meu companheiro Lucas, por ser quem ele é e por todo o zelo comigo.

Agradeço à minha orientadora, Irene, por todos os ensinamentos e por me guiar tão carinhosamente nesse caminho. Agradeço à minha coorientadora Shana por toda orientação.

Agradeço a todos meus colegas do Laboratório de Bacteriologia, no PSA, por tornar o trabalho mais divertido e mais leve, em especial à Hosana e ao Érico que foram meus maiores companheiros na hora do café. E à Paula, por toda ajuda no desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço a todas as minhas amigas e meus amigos, de longa data, que fizeram a vida ser menos caóticas. E um agradecimento superespecial ao Felipe, Thamires e Gabriele por estarem comigo em todos os momentos, as vezes acreditando mais em mim que eu mesma, e dizer que eu sou uma profunda admiradora de vocês três. Amo vocês!

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e à CAPES por me permitirem realizar essa pesquisa. E à FIOCRUZ pela parceria.

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

Juliana Ferreira Nunes, filha de Maria Raimunda Ferreira e Sérgio Murilo Nunes, nascida em 11 de dezembro de 1992, na cidade de Volta Redonda, Rio de Janeiro. Cresceu na cidade de Bom Jardim de Minas, onde terminou o ensino fundamental na Escola Nossa Senhora Aparecida. Logo em seguida, mudou-se para Volta Redonda, onde concluiu o ensino médio e técnico na Escola Técnica Pandiá Calógeras, onde conseguiu o título de Técnica em Eletrônica, não exercendo a profissão. Em 2015 ingressa no curso de Licenciatura em Ciências Agrícolas, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Durante a graduação foi integrante do Programa de Iniciação à Docência (PIBID), por 1 ano e 6 meses. Ministrou oficinas em Educação Ambiental em escolas públicas na região da Baixada Fluminense, fez estágio voluntário no Museu dos Solos do Brasil, na UFRRJ, além de fazer parte do Diretório Acadêmico Raimundo Ferreira (DARF), gestão de 2017-2020. Foi bolsista de iniciação científica pela FAPERJ na área de microbiologia ambiental (2020-2021). Em 2021 se graduou e, no mesmo ano, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agronomia- Ciência do Solos, na área de Biologia do Solo, pela UFRRJ.

RESUMO

NUNES, Juliana Ferreira. **Monitoramento da qualidade microbiológica e perfil de resistência a antimicrobianos em águas residuais e impacto na diversidade bacteriana do solo.** 2023. 52f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, 2023.

O processo de abate de aves gera um volume de efluentes que pode se acumular ao longo da cadeia produtiva. Quando despejados nos corpos d'agua sem o devido tratamento, esses efluentes atuam como fonte de contaminação ambiental, especialmente quando utilizado para irrigação, o que pode contribuir para a intensificação da contaminação e a dispersão de patógenos e genes de resistência, podendo causar infecções na população, nos trabalhadores rurais, além de favorecer o desequilíbrio no resistoma e na diversidade do solo. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi analisar a qualidade microbiológica das águas circulantes de um abatedouro aviário e de solos em propriedades ao entorno, que utilizam, ou não, a água do rio como fonte para irrigação de cultivares agrícolas, através dos indicadores microbiológicos coliformes termotolerantes e *Salmonella*. Objetivou-se também avaliar o fenótipo de resistência dos isolados bacterianos provenientes das amostras coletadas a fim de se obter um rastreamento epidemiológico da resistência bacteriana aos antimicrobianos. As amostras foram coletadas no município de São José do Vale do Rio Preto, no Rio de Janeiro, sendo amostras de água em quatro pontos diferentes e solo de uma área de floresta e de duas propriedades agrícolas. Para a determinação da qualidade microbiológica foi realizada a técnica dos múltiplos tubos, através do método do Número Mais Provável (NMP), para a detecção de *Salmonella* foi utilizada a metodologia ISO 2010 e para o teste de sensibilidade a antimicrobianos foi utilizado o método de disco difusão preconizado pelo BrCast. O nível de coliformes termotolerantes nas amostras do córrego estiveram dentro do estabelecido na legislação, enquanto o efluente bruto e o tratado excederam o limite máximo estabelecido pela legislação do CONAMA Nº430/2011, que é de 1000 NMP/100 mL. Nos solos, os coliformes termotolerantes bem como a *Salmonella* não foram detectados. Foram isoladas 178 cepas bacterianas, 58% (104/178) dos solos e 42% (74/178) das águas, dentro das famílias *Enterobacteriaceae* (87%; 155/178) e *Pseudomoneaceae* (13%; 25/178). *Enterobacter bugandecensis* foi isolada em 6 dos 7 pontos de coleta (20%; 35/178), sendo a espécie mais encontrada nos solos (25%; 26/104). *Klebsiella pneumoniae* (35/74) foi a espécie mais frequente em amostras de água, com 47%, onde pode-se observar a produção de betalactamases do tipo KPC e pAmpC. Não foi observado nenhuma produção de betalactamases nos solos, porém observou-se um alto nível de resistência aos antimicrobianos amoxicilinas+ácido clavulânico e cefoxitina, seguidos de ciprofloxacina e ertapenem. Os dados obtidos neste trabalho demonstram a necessidade de monitoramento microbiológico na qualidade da água para que ela seja utilizada na irrigação de cultivos agrícolas com seguridade; além de enfatizar a importância do acompanhamento dos níveis de dispersão da resistência antimicrobiana no ambiente.

Palavras-chave: Abatedouro avícola. Águas residuais. Resistência antimicrobiana.

ABSTRACT

NUNES, Juliana Ferreira. **Monitoring of microbiological quality and antimicrobial resistance profile in wastewater and impact on soil bacterial diversity**. 2023. 52p. Dissertation (Master in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

The poultry slaughter process generates a volume of effluents that can accumulate along the production chain. When discharged into water bodies without proper treatment, these effluents act as a source of environmental contamination, especially when used for irrigation, which can contribute to the intensification of contamination and the dispersion of pathogens and resistance genes, which can cause infections in the population, in rural workers, in addition to favoring the imbalance in the resistome and soil diversity. Thus, the objective of this work was to analyze the microbiological quality of the circulating waters of an avian slaughterhouse and soils in surrounding properties, which use, or not, the river water as a source for irrigation of agricultural cultivars, through the microbiological indicators thermotolerant coliforms and Salmonella. The objective of this study was also to evaluate the resistance phenotype of bacterial isolates from the samples collected in order to obtain an epidemiological screening of bacterial resistance to antimicrobials. The samples were collected in the municipality of São José do Vale do Rio Preto, in Rio de Janeiro, being water samples at four different points and soil from a forest area and two agricultural properties. To determine the microbiological quality, the multi-tube technique was performed using the Most Probable Number (MPN) method, the ISO 2010 methodology was used for the detection of Salmonella and the diffusion disc method recommended by BrCast was used for the antimicrobial susceptibility test. The level of thermotolerant coliforms in the stream samples were within the established legislation, while the raw effluent and the treated exceeded the maximum limit established by CONAMA legislation No. 430/2011, which is 1000 NMP/100 mL In soils, thermotolerant coliforms as well as Salmonella were not detected. A total of 178 bacterial strains were isolated, 58% (104/178) from soils and 42% (74/178) from waters, within the families Enterobacteriaceae (87%; 155/178) and Pseudomoneaceae (13%; 25/178). Enterobacter bugandecensis was isolated in 6 of the 7 collection points (20%; 35/178), being the most common species found in soils (25%; 26/104). Klebsiella pneumoniae (35/74) was the most frequent species in water samples, with 47%, where the production of beta-lactamases of the KPC and pAmpC type can be observed. No production of beta-lactamases was observed in the soils, but a high level of resistance to the antimicrobials amoxicillins+clavulanic acid and cefoxitin, followed by ciprofloxacin and ertapenem, was observed. The data obtained in this study demonstrate the need for microbiological monitoring of water quality so that it can be used in irrigated agriculture with greater safety; in addition to emphasizing the importance of monitoring the levels of dispersion of antimicrobial resistance in the environment.

Keywords: Poultry slaughterhouse. Wastewater. Antimicrobial resistance.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 1

2. REVISÃO DE LITERATURA 3
2.1. Produção Aviária e Uso de Antimicrobianos 3
2.2. Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos 4
2.3. Águas Residuais: Uso na Agricultura e Implicações 7
2.4. Parâmetros para Qualidade Microbiológica da Água 9
2.5. Solos como Ambiente Natural de Resistência aos Antimicrobianos 10

3. MATERIAL E MÉTODOS 11
3.1. Caracterização da Área e Coleta de Amostras 11
3.2. Determinação de Coliformes 12
3.3. Presença de *Salmonella* no Solo 13
3.4. Isolamento e Identificação de Bactérias da Água e Solo 13
3.5. Detecção Fenotípica do Perfil de Resistência 14

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 16
4.1. Indicadores Microbiológicos de Qualidade da Água e do Solo 16
4.2. Diversidade da Comunidade Microbiana da Água e do Solo 18
4.3. Resistência Bacteriana e Perfil de Resistência 23

5. CONCLUSÕES 32

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 33

7. ANEXOS 45

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de carne de frango do mundo, ocupando a segunda posição no ranking mundial, com 14.524 milhões de toneladas no ano de 2022, onde 67% da produção total é voltada para o mercado interno e os outros 33% é voltada para exportação, detém o primeiro lugar em exportação (ABPA, 2023). Essa proteína animal é a mais consumida pelos brasileiros, 45,2 kg per capita por ano, devido a sua versatilidade no preparo e seu custo-benefício, um alimento de alto valor nutricional e preço acessível quando comparado ao valor de carne bovina, por exemplo (ABPA, 2023). O aumento da produtividade nesse setor se deu a partir da década de 70, quando ocorreram mudanças tecnológicas e na estrutura produtiva (PANDOLFI & MOTA, 2020; SCHMIDT & SILVA, 2018; ESPINDOLA, 2012). Para acompanhar essa demanda de produção, antimicrobianos são muito utilizados como melhoradores de crescimento em doses subterapêuticas na alimentação dos animais, além de seu uso terapêutico e profilático, a fim de inibir o crescimento de bactérias que secretam substâncias tóxicas e prejudicam a absorção de nutrientes (PANDOLFI & MOTA, 2020). No entanto, o uso inadequado desses fármacos tem contribuído para o desenvolvimento da resistência antimicrobiana nos mais variados ambientes.

Levando-se em consideração o alto consumo de água durante o processo de produção de carne aviária, é preocupante o surgimento de grande quantidade de efluentes contendo resíduos de antimicrobianos, genes de resistência e bactérias resistentes ao longo da cadeia produtiva uma vez que podem alcançar os rios que cortam e abastecem cidades. Muitas vezes, o tratamento de água não é eficiente de fato para a diminuição da carga microbiana e o uso de águas contaminadas para irrigação de sistemas agrícolas ajuda na dispersão de determinantes de resistência, contaminando os solos e os tecidos vegetais das plantas, além de oferecer um risco direto aos trabalhadores rurais, à comunidade local e aos consumidores.

A contaminação dos solos provoca sérios problemas ambientais, como o desequilíbrio do ecossistema, contaminação dos lençóis freáticos, infertilidade do solo, perda da capacidade de drenagem natural e risco à saúde dos seres humanos. Juntamente a isso, é um ambiente capaz de favorecer a transferência genética horizontal devido a composição da diversidade bacteriana que habita o local.

Diante da relação indissociável entre humanos, animais e ambiente, o conceito *One Health* (Saúde Única) é usado pelas Nações Unidas (Organização Mundial da Saúde, Organização Mundial de Saúde Animal e Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura) com a finalidade de abordar questões de saúde global, como à resistência aos antimicrobianos, em uma perspectiva integradora (MEDINA-PIZZALI et al. 2021, OIE, 2018). Neste sentido, opta-se pela adoção do princípio de precaução que acaba por reduzir a possibilidade de uso de antimicrobianos na saúde animal que representem risco para os seres humanos. Visando o controle da disseminação da resistência antimicrobiana, o Ministério da Saúde lançou em 2018 o Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no Âmbito da Saúde Única (PAN-BR), com objetivo de garantir que se mantenha a capacidade de tratar e prevenir doenças infecciosas com medicamentos seguros e eficazes, que sejam utilizados de forma responsável e acessível a todos que deles necessitem (BRASIL/MS, 2018). Esse documento foi elaborado em convergência com os objetivos definidos pela aliança tripartite entre a Organização Mundial de Saúde (OMS), a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) e a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) e apresentados no Plano de Ação Global sobre Resistência aos Antimicrobianos.

Desse modo, acredita-se que as águas residuais de abatedouros representam uma fonte de disseminação de bactérias multirresistentes com relevância clínica no meio ambiente, afetando tanto animais quanto seres humanos, de forma direta ou não, tornando-se um problema de Saúde Única. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi analisar a qualidade microbiológica das águas circulantes de um abatedouro localizado na região Serrana do estado do Rio de Janeiro, e de solos em propriedades localizadas no entorno, que utilizam ou não a água do rio como fonte para irrigação de cultivares agrícolas. Buscou-se, também, analisar o fenótipo de resistência dos isolados bacterianos provenientes das amostras coletadas nesses ambientes a fim de se obter um rastreamento epidemiológico da resistência bacteriana aos antimicrobianos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Produção Aviária e Uso de Antimicrobianos

Atualmente no Brasil, a carne de frango é a mais consumida devido à sua qualidade nutricional e versatilidade de preparo associados ao valor acessível do produto considerando a renda da população (GREGÓRIO, 2020). Estima-se que, no ano de 2022 o Brasil tenha produzido cerca de 14,524 milhões de toneladas de carne aviária sendo que 67,83% desta produção foi destinada ao mercado interno, gerando um consumo per capita de 45,2 kg/hab. (ABPA, 2023). A produção avícola do país se concentra, principalmente, nas regiões Sudeste e Sul do país. Na região Sudeste, o relatório de atividades da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado do Rio de Janeiro (EMATER_RIO), destacou a produção de 284.551 toneladas de carne de frango em 2020, que mesmo sendo um ano atípico e marcado pelo surgimento da pandemia da Covid-19, este segmento do mercado não parou. O município de São José do Vale do Rio Preto, localizado na região Serrana do estado, é considerado um dos mais expressivos nesse setor de produção, e contribuiu com cerca de 63% do total da produção em 2020, aproximadamente 179.032 toneladas. O histórico da produção avícola em São José do Vale do Rio Preto teve início em meados do século passado, onde o município destacou-se no período de 1950-1960 como maior centro avícola da América do Sul. Paralelamente ao auge da avicultura ocorreu o desenvolvimento da agricultura com o fornecimento de adubos provenientes de resíduos das aves para as lavouras (PMSJVRP, 2021).

Como a microbiota intestinal das galinhas pode ser uma fonte de infecção bacteriana, o uso de antimicrobianos para fins terapêuticos e profiláticos, tem o objetivo de controlar e prevenir doenças infecciosas (TAKESHITA et al., 2021). Além disto, esses compostos são também utilizados para melhorar o desempenho produtivo, como agentes promotores de crescimento, através de sua inclusão na dieta em concentrações subinibitórias (VALENTIM et al., 2018; ROSTAGNO, 2011).

A introdução de antimicrobianos como aditivos zootécnicos, também conhecidos como promotores de crescimento, deu início em 1950, apresentando benefícios principalmente sobre o ganho de peso, conversão alimentar e redução na mortalidade. Esses benefícios ocorreram devido à exclusão de bactérias que competem por nutrientes ou lesam o intestino (PANDOLFI & MOTA, 2020). Desde sua introdução na medicina veterinária, a saúde e a produtividade animal têm melhorado expressivamente. Contudo, sugere-se que o uso de antimicrobianos por longo período para fins terapêuticos na medicina humana e veterinária tenha favorecido a seleção de linhagens bacterianas resistentes (BEZERRA et al., 2017).O surgimento de novos fenótipos resistentes em microrganismo patogênicos é uma preocupação crescente, pois infecções provocadas por bactérias resistentes estão associadas com maior taxa de morbidade e mortalidade do que as causadas pelos patógenos sensíveis (LIVERMORE, 2005; HELMS et al., 2002), além de aumentar o risco para falhas terapêuticas.

É importante salientar que a intensificação da resistência aos antimicrobianos implicou em muitas restrições quanto ao uso desses medicamentos em diversos países, inclusive o Brasil. Países como os da União Europeia, por exemplo, proíbe a utilização de substâncias com a única finalidade de promoção de crescimento desde 2006 (EFSA, 2009). No Brasil, temos um histórico de normas proibitivas que incluem as normativas N° 26 de 09 de julho de 2009 que regulamentou a proibição da administração de alguns antimicrobianos como aditivos zootécnicos e promotores de crescimento, dentre eles: anfenicóis, tetraciclinas, betalactâmicos (benzilpenicilâmicos e cefalosporinas (de 3ª e 4ª gerações), fluoroquinolonas, quinolonas e sulfonamidas sistêmicas (BRASIL, 2009). A Instrução Normativa N° 14 de 17 de maio de 2012 que proibiu a importação, fabricação e o uso da espiramicina e eritromicina como aditivo

zootécnico (BRASIL, 2012). A Instrução Normativa Nº 45 de 22 de novembro de 2016 que regulamentou o uso da colistina apenas como alternativa terapêutica e proibiu seu uso como promotor de crescimento (BRASIL, 2016). Mais recentemente, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou a Portaria 171/2018, que proibiu o uso dos antimicrobianos tilosina, lincomicina, virginiamicina, bacitracina e tiamulina como aditivos melhoradores de desempenho animal (BRASIL, 2018), além da Instrução Normativa nº 1, de 13 de janeiro de 2020, que proibiu em todo território nacional, a importação, a fabricação, a comercialização e o uso de aditivos melhoradores de desempenho que contenham os antimicrobianos tilosina, lincomicina, e tiamulina, classificados como importantes na medicina humana (BRASIL, 2020).

Durante o processo de produção de carne aviária, desde a plataforma de entrada até a expedição, é recomendado, segundo a Portaria 210/1998 do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), o uso de 30 litros de água por frango abatido, o que é preocupante devido ao volume de resíduos líquidos gerados nessa cadeia de produção. Estes resíduos líquidos são ricos em matéria orgânica, nutrientes e sais, e, mesmo após o tratamento, ainda apresentam ser um potencial poluidor dos corpos hídricos (MENEGASSI, 2018).

A água que se acumula durante o processo de abate de aves também é um importante reservatório de bactérias resistentes a várias classes de antimicrobianos e pode servir como um vetor de transmissão para funcionários do matadouro ocupacionalmente expostos (SAVIN et al., 2021; HOMEIER-BACHMANN et al., 2021). Além disso, águas residuais de abatedouros podem conter bactérias multirresistentes com relevância clínica, representando uma fonte de disseminação destas bactérias para o meio ambiente.

Portanto, é possível compreender que a descarga direta de águas residuais não tratadas de abatedouros de animais para águas superficiais é impraticável e deve ser evitada devido à poluição ambiental e aos possíveis efeitos negativos sobre a saúde humana e animal, pois representa uma grande fonte de disseminação de resistência à diferentes classes de antimicrobianos.

2.2. Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos

Em fevereiro de 2017, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou a primeira lista de "agentes patogênicos prioritários" resistentes aos antimicrobianos, apresentando 12 famílias de bactérias que representam a maior ameaça para a saúde humana, classificando-as em três níveis: crítico, alto e médio. A lista destaca em particular, a ameaça de bactérias Gram-negativas como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* produtoras de carbapenemases e *Enterobacteriaceae* produtoras de ESBL (Betalactamases de Espectro Estendido), classificadas como nível crítico de importância (HOMEIER-BACHMANN, et al., 2021). Além disso, em 2019 a OMS incluiu a colistina no grupo dos "antimicrobianos de importância crítica de maior prioridade" para a medicina humana, em especial devido à sua ampla utilização na produção animal desde a década de 50, influenciando fortemente na disseminação dessa resistência, principalmente associada ao gene *mcr-1* (SAVIN et al., 2020).

A resistência bacteriana é um problema mundialmente conhecido e vem preocupando cada vez mais organizações de saúde ao redor do globo (TAYLOR et al., 2011), levando a óbito cerca de 700 mil pessoas por ano (O'NEIL, 2014). Como a aquisição de resistência acontece numa velocidade maior que a descoberta de novos fármacos (WRIGHT, 2007), a ausência de tratamentos quimioterápicos para infecções pode ocorrer no futuro. Além dos impactos ambientais e sociais ainda desconhecidos, a resistência bacteriana gerará um grande impacto econômico se não for detida, gerando uma perda de 100 trilhões de dólares aos cofres públicos até 2050, além de 10 milhões de óbitos por ano (O'NEIL, 2016).

A resistência a antimicrobianos pode ocorrer por mecanismos intrínsecos à bactéria, de forma natural através de um processo evolutivo (MOTA, 2018), e por mecanismos adquiridos através do aumento da pressão seletiva ocasionada pelo uso indiscriminado de antimicrobianos tanto no tratamento da saúde humana quanto na saúde animal, inclusive na produção animal intensiva (ARSAND et al., 2019). A resistência adquirida pode ocorrer devido a mutações genéticas (DA COSTA & JUNIOR, 2017), transferência vertical e transferência horizontal genética, mediada por elementos genéticos móveis como transposons, plasmídeos e íntegrons (ARSAND et al., 2019; COSTA, 2016). Por sua vez, a transferência horizontal genética pode ocorrer de formas diferentes, porém, é através da conjugação plasmidial que se dá a diversidade de mecanismos de resistência a antimicrobianos (AMINOV, 2009). Dentre os mecanismos de resistência adquiridos pelas bactérias, os principais são bomba de efluxo, alteração da permeabilidade da membrana, alteração do local-alvo e mecanismo enzimático (MADIGAN et al., 2016). Além disso, a resistência a certos agentes antimicrobianos também pode ocorrer em decorrência da co-seleção, onde a existência de genes distintos ou mutações na mesma cepa bacteriana confere resistência a diferentes classes de antimicrobianos, e pela seleção cruzada. A seleção cruzada refere-se à presença de um único gene de resistência ou mutação que confere tal característica a dois ou mais grupos de antimicrobianos que, em geral, pertencem à mesma classe (MURRAY et al, 2019).

Os antimicrobianos betalactâmicos são os fármacos mais consumidos no mundo, sendo o maior número em uso clínico pertence à classe das cefalosporinas (WHO, 2018; BUSH, 2018), devido à baixa toxicidade para os seres humanos (AMINOV, 2009). Por isso, a produção de betalactamases vem conduzindo uma emergência na mesma proporção. A produção desta enzima é o principal mecanismo de resistência apresentado por bactérias Gram-negativas frente aos betalactâmicos como penicilinas, cefamicinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenemas através da hidrólise do anel betalactâmico (BUSH, 2018).

Ambler (1980) classificou as betalactamases em quatro classes (A, B C e D) de acordo com sua semelhança entre as cadeias de aminoácidos das enzimas, na qual possuem uma serina em seu sítio ativo. A classe A pertence às enzimas chamadas de ESBL (Betalactamase de Espectro Estendido), sendo representadas pelas enzimas SHV, CTX-M, TEM e OXA, às Penicilinases e às Serina-carbapenemases, representada pela KPC. A classe C são as enzimas AmpC, representadas por CMY, AmpC, FOX, MOX e LAT e a classe D, às Oxacilinases, representada pela enzima OXA-48 e OXA-53. A classe B é designada às Metalo-betalactamases, representadas pelas enzimas NDM, IMP, VIM E SPM, onde possuem um íon de Zinco para intermediar a reação. Anos mais tarde, Bush&Jacob (2010), classificou as enzimas de acordo com seu substrato e inativação de inibidores específicos, em 4 divisões, de 1 a 3, onde 1 são as AmpC, 2 as ESBL, Penicilinases e Serina-carbapenemase e 3 as Metalo-betalactamase (Quadro 1).

Quadro 1. Classificação das betalactamases segundo Bush & Jacob (2010), resumida e adaptada

Classe Molecular	Enzimas representativas	Grupo de enzimas (espectro/potencial de hidrólise)	Substratos	Inibição	
				CLA	EDTA
A	TEM-3, SHV-2, CTX-M-2, 14, 15	ESBL	Cfs 1ª-4ª ger., e monobactâmico	Sim	Não
A	KPC-2, 3	Carbapenemase	Cfs 1ª-4ª ger., cefamicinas, monobactâmico e carbapenêmicos	Variável	Não
B (MBL)	SPM-1, IMP-1,	Carbapenemase	Cfs 1ª-4ª ger., cefamicinas	Não	Sim
C	CMY-2	AmpC	Cfs 1ª- 2ª ger., cefamicinas	Não	Não
C	CMY-37	AmpC	Cfs 1ª-3ª ger., cefamicinas e monobactâmico	Não	Não
D	OXA-11, 15;	ESBL	Cfs 1ª-4ª ger.	Variável	Não
D	OXA-23, 48	Carbapenemase	Carbapenêmicos	Variável	Não

*CLA: Ácido clavulânico; EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético; Cfs: Cefalosporinas; Ger: Geração. Fonte: ANDRADE & DARINI (2017).

As betalactamases de espectro estendido (ESBL) são enzimas com capacidade de hidrolisar cefalosporinas de terceira geração e aztreonam, e inibidas por ácido clavulânico (PATERSON&BONOMO, 2005), pertencentes à classe A de Ambler. Essas enzimas são codificadas por genes chamados *bla* (ANDRADE & DARINI, 2017), que podem estar presentes no cromossomo bacteriano, mas, principalmente em plasmídeos (ANDRADE & DARINI, 2017; BUSH & JACOBY, 2010)

Dentre os genes que codificam ESBL os mais frequentes são bla_{TEM}, bla_{SHV} e $bla_{CTX\text{-}M}$ que codificam as enzimas TEM, SHV, CTX-M (LIEBANA et al., 2013; BRADFORD, 2001). Além disso, bactérias produtoras de ESBL também podem conter genes de resistência a outros fármacos não β-lactâmicos, como o gene *qnr*, associado a resistência à quinolonas e é bastante detectado em plasmídeos que contém genes que codificam resistência a β-lactâmicos como o $bla_{CTX\text{-}M}$ e bla_{AmpC} (SANTIAGO, 2016).

Carbapenemases são enzimas capazes de hidrolisar carbapenêmicos (imipenem, meropenem e ertapenem) além de outros betalactâmicos (ABRANTES & NOGUEIRA, 2017). São divididas em dois grupos: serina-carbapenemase (SBL), pertencentes à classe A de Ambler, que hidrolisam penicilinas, cefalosporinas, aztreonam e carbapenêmicos e são fracamente inibidas por ácido clavulânico, representadas pela *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC) e, metalo-betalactamase (MBL), pertencentes à classe B de Ambler, que hidrolisam, assim como as SBL, penicilina, cefalosporinas e carbapenêmicos, com exceção do aztreonam, mas são inibidas por EDTA, por precisarem de um cofator – geralmente o zinco – para sua atividade enzimática, representada pela Nova Deli Metalo-betalactamases (NDM), (ANDRADE & DARINI, 2017; DOI&PATERSON, 2015).

Betalactamase do tipo AmpC, pertencentes à classe C de Ambler, hidrolisam penicilinas, cefalosporinas (incluindo a terceira geração), e monobactâmicos. Em geral são fracamente inibidas pelos inibidores de ESBL clássicos, especialmente o ácido clavulânico (JACOBY, 2009). São codificadas por genes cromossômicos, mas também podem ser adquiridas via plasmídeos (BUSH & BRADFORF, 2020; MEINI et al., 2019; JABOBY, 2009) e encontradas amplamente. Os mecanismos que fundamentam a resistência mediada por AmpC não são fáceis de entender (MEINI et al., 2019) mas, segundo Tamma et al. (2019), pode ser subdividido em três categorias: resistência induzível via genes codificados cromossomicamente; resistência cromossômica não induzível devido a mutações promotoras e/ou repressoras e resistência mediada por plasmídeos. As principais enzimas codificadas por genes plasmidiais são: CMY, FOX, MOX, LAT E DHA. As espécies *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens* e complexo *Enterobacter cloacae* são particularmente importantes na medicina humana, pois as enzimas são induzíveis nesses isolados (BUSH & BRADFORF, 2020).

2.3. Águas Residuais: Uso na Agricultura e Implicações

A escassez de água potável e a preocupação com o desperdício faz com que busquemos formas para um uso mais consciente e que traga o menor impacto possível para o ecossistema. Pensando nisso, a utilização de água tratada proveniente de efluente se mostra uma boa alternativa para a produção agrícola, aliviando a pressão sobre os recursos de água doce (FARHADKHANI et al., 2018), principalmente em regiões que o acesso à água é reduzido, como regiões áridas.

Grande parte da água é destinada à agricultura onde cerda de 53,7% do consumo total de água no Brasil corresponde a irrigação (ANA, 2021). Os efluentes gerados por esses setores necessitam de tratamento específico, seguindo a Resolução 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) que dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes no ambiente e complementa e altera a Resolução Nº 357, de 17 de março de 2005.

A Resolução 430/2011 do CONAMA diz em seu artigo 5º que "os efluentes não podem conferir ao corpo receptor características de qualidade em desacordo com as metas obrigatórias progressivas, intermediárias e final, do seu enquadramento" (BRASIL, 2011). Considerando que o enquadramento dos corpos de água deve estar baseado não necessariamente no seu estado atual, mas nos níveis de qualidade que deveriam possuir para atender às necessidades da comunidade, a Resolução nº 357/2005 do CONAMA classifica as águas doces em quatro classes, segundo a qualidade requerida para seus usos preponderantemente:

a) Classe Especial - Destinada ao abastecimento para consumo humano, com desinfecção; à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas; e, à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação e proteção integral.

As condições microbiológicas da qualidade dessa água, se seu uso for para recreação de contato primário, deverá seguir os padrões de qualidade previstos na Resolução nº274/200 do CONAMA. Para os demais usos, não deverá ser excedido um limite de 200 coliformes termotolerantes em 100 mililitros.

b) Classe 1 - Destinada ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado; à proteção das comunidades aquáticas; à recreação de contato primário, tais como, natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA no 274/2000; à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas, sem remoção de película; e, à proteção das comunidades aquáticas em Terras Indígenas.

Nas águas de Classe 1, não deverá ser excedido um limite de 200 coliformes termotolerantes em 100 mililitros.

c) Classe 2 - Destinada ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional; à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA n° 274, de 2000; à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esportes e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; à aquicultura e à atividade de pesca.

Nas águas de Classe 2 o número de coliformes termotolerantes aceito para uso de recreação de contato primário deverá obedecer a Resolução CONAMA nº 274/2000. Para os demais usos, não deverá ser excedido um limite de 1000 coliformes termotolerantes /100 mililitros.

d) Classe 3 - Destinada: ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado; à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras; à pesca amadora; à recreação de contato secundário; e à dessedentação de animais.

Nas águas de Classe 3, a presença de coliformes termotolerantes para o uso de recreação de contato secundário não deverá ser excedido um limite de 2 500 coliformes termotolerantes /100 mililitros.

e) Classe 4 - Destinada: à navegação; e, à harmonia paisagística. Para essa classificação não foi designada uma quantidade de coliformes máximo.

Considerando que a prática de reuso de água reduz os custos associados à poluição e contribui para a proteção do meio ambiente e da saúde pública, a Resolução Nº 54, de 28 de novembro de 2005, o Conselho Nacional de Recursos Hídricos (CNRH) estabelece modalidades, diretrizes e critérios gerais para a prática de reuso direto não potável de água, e dá outras providências. Essa resolução define água residuária como esgoto, água descartada, efluentes líquidos de edificações, indústrias, agroindústrias e agropecuária, tratados ou não; e água de reuso como toda água residuária que se encontra dentro dos padrões exigidos para sua aplicação nas modalidades pretendidas, podendo ser reutilizada para fins urbanos, industriais, ambientais, aquicultura e para fins agrícolas e florestais (BRASIL, 2005). Vale aqui ressaltar que o grau e o tipo de tratamento da água residual vão depender da sua utilização ou de que forma ela será utilizada e onde será lançada, sendo interessante destacar que para o uso de águas residuais na irrigação, o tratamento não é o mesmo daquele destinado ao abastecimento público (BRAGA et al., 2014).

O uso de águas residuais na agricultura é uma alternativa mais sustentável e até estimulada pelos órgãos públicos, como aponta a Resolução Nº 121 de 16 de dezembro de 2010, que estabelece diretrizes e critérios para a prática de reuso direto não potável de água na modalidade agrícola e florestal, definida na Resolução CNRH nº 54 de 2005.

Muito utilizada anteriormente em áreas de escassez hídrica, há pelos menos duas décadas, seu uso em áreas com alta disponibilidade hídrica vem aumentando devido ao agravamento da disponibilidade e qualidade da água (BRAGA et al., 2014). Seu uso traz vantagens econômicas, como a redução do custo de produção para produtores mais pobres (KHALID et al., 2018) e vantagens ambientais, como a diminuição no uso de fertilizantes químicos, a promoção de matéria orgânica e nutrientes essenciais às plantas, minimizando, por fim, a contaminação das águas (SHUTULL-TRAURING et al., 2022; FARHADKHANI et al., 2018; KHALID et al., 2018). Também pode aumentar o nível de microrganismos benéficos, como aqueles envolvidos com a fixação e a ciclagem de nutrientes (KHALID et al., 2018).

Porém, a irrigação com essas águas pode provocar sérios impactos nas propriedades físicas e químicas do solo, como a alteração da salinidade do solo uma vez que é influenciada pela concentração de sódio, que altera a pressão osmótica na zona radicular das plantas,

ocasionando a diminuição da produtividade. A contaminação por metais pesados, alteração das propriedades químicas do solo, pH e matéria orgânica, diretamente relacionadas à fertilidade dos solos e aos potenciais riscos à saúde humana (SHUTULL-TRAURING et al., 2022; FARHADKHANI et al., 2018; KHALID et al., 2018; BALKHAIR, 2016; BECERRA CASTRO et al., 2015). Ademais, como a água é um disseminador de patógenos em potencial, pode aumentar a quantidade de microrganismos patogênicos e fitopatogênicos, além de bactérias resistentes a antimicrobianos. Ou seja, o uso inadequado para irrigação pode resultar em sérios riscos de contaminação do solo, das plantas e das águas subterrâneas (KHALID et al., 2018; BALKHAIR, 2016). Os efluentes ainda podem conter resquícios de medicamentos utilizados na medicina humana e animal que não foram totalmente degradados durante o tratamento convencional da água (GATICA&CYTRYN, 2021).

2.4. Parâmetros para Qualidade Microbiológica da Água

A água é um elemento essencial para a manutenção da vida e dos ecossistemas no planeta. Em 2010 a Assembleia Geral das Nações Unidas reconheceu a água potável e o saneamento básico como direitos humanos essenciais para o pleno gozo da vida e de todos os outros direitos humanos. Apesar disso, aproximadamente 2,1 bilhões de pessoas no mundo estão sem acesso à água potável e 4,4 bilhões sem acesso a saneamento básico de forma segura (ONU, 2018). A água é um dos principais disseminadores de patógenos, e quando não tratada adequadamente, pode causar doenças levando a óbito. Estima-se que, anualmente, cerca de 829 mil pessoas morrem de diarreia como resultado de consumo de água imprópria, falta de saneamento básico e higiene inadequada das mãos, atingindo principalmente crianças menores de 5 anos de idade (UNESCO, 2021; PRÜSS-ÜSTÜN et al., 2019).

Segundo o Ministério da Saúde (1990), a água própria para consumo humano não pode conter microrganismos patogênicos nem substâncias que representem risco à saúde em níveis superiores aos máximos permitidos pela Legislação, além de não poder apresentar características que causem rejeição por parte da população (como gosto, odor ou cor que deixem a água com um aspecto desagradável). Para garantir o controle da qualidade da água, a Portaria Nº 888, de 04 de maio de 2021, divulga uma série de normas e o padrão de potabilidade da água destinada ao consumo humano, a serem observadas em todo o território nacional, e um dos parâmetros estabelecidos é a qualidade microbiológica da água, onde utilizam coliformes termotolerantes e *Salmonella* como marcadores de contaminação.

O grupo de coliformes pertence à família das enterobactérias, bacilos Gram-negativos, aeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase-negativas capazes de crescer na presença de sais biliares ou outros compostos ativos de superfície (surfactantes) com propriedades similares de inibição de crescimento e que fermentam a lactose com produção de aldeído, ácido de gás a 35º C em 24-48 horas. O teste de coliformes totais identifica todas as bactérias deste grupo que ocorrem naturalmente no ambiente, sendo que a maioria é considerada inofensiva, no entanto, algumas das bactérias são nocivas e indicam contaminação fecal (de SÁ, 2012).

Os coliformes termotolerantes são aqueles que possuem as mesmas características descritas acima, porém, com a temperatura de incubação a 44,5º C por 24 horas, sendo *Escherichia coli* o principal representante deste grupo. A *E. coli* é a espécie mais representativa de indicação de contaminação por fezes de animais endotérmicos, sendo um habitante comum do trato intestinal de homem e animais (VASCONCELOS, 2019).

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* e compreende bactérias em forma de bastonetes curtos, Gram-negativas, intracelulares, anaeróbicas facultativas e não formadoras de endósporos, com temperatura ótima de crescimento em 46º C (FORSYTHE,

2013). É amplamente difundida na natureza e capaz de infectar o trato intestinal de animais ectotérmicos e endotérmicos, incluindo o homem (OLIVEIRA, 2004). Esse microrganismo é comum na microbiota intestinal das aves e pode sobreviver até onze semanas fora do sistema digestório (OAKKLEY et al., 2014; HAAPAPURO et al., 1997). É um dos principais microrganismos causadores de surtos de enfermidades transmitidas por alimentos associados ao consumo de ovos e de alimentos formulados com este ingrediente (MARTIN, 2005).

2.5. Solos como Ambiente Natural de Resistência aos Antimicrobianos

Ainda não há consenso sobre uma definição única de solos. Mas pode-se dizer que é um ecossistema complexo, heterogêneo, composto por múltiplos habitats que abrigam diferentes seres vivos, dentre eles os microrganismos. São divididos em fase sólida, líquida e gasosa, formados a partir de rochas de diferentes origens, compostos por matéria orgânica e minerais (SOLOS, 2013). Albergam uma infinidade de organismos, entre macro, meso e microfauna, sendo considerado um dos principais compartimentos da Biosfera em termos de reservatório biológico (CARDOSO, 2016).

O microbioma do solo é essencial para seu funcionamento, sendo a este atribuído muitos processos que regem a manutenção e a funcionalidade dos solos (CARDOSO, 2016). A população microbiana existe em equilíbrio dinâmico através de interações bióticas e abióticas, podendo ser alterada pelo ambiente e manejo da terra. Desempenha diversas funções ecossistêmicas de extrema importância, como sequestro de carbono, ciclagem de nutrientes, reservatório de água, produção de alimentos, manutenção do patrimônio histórico-cultural, ciclo do nitrogênio entre outras (PARENTE et al., 2021, CARDOSO, 2016).

Os microrganismos presentes nos solos são capazes de degradar moléculas simples como a glicose, até moléculas mais complexas como a lignina ou o látex, sendo as bactérias, fungos e algas os maiores grupos existentes desses organismos (MATTOS, 2015).

Diversos antibióticos foram produzidos a partir de bactérias do solo como a estreptomicina, um aminoglicosídeo isolado de *Streptomyces griséus*, a lincomicina, lincosamida isolada de *S. lincolnensis* e a vancomicina, um glicopeptídeo isolado a partir de *S. orientalis* (GUIMARÃES et al., 2010). O significado biológico da produção de antibióticos pela estirpe produtora ainda não é muito claro, embora seja um mecanismo desenvolvido, atribuído a uma característica estrutural ou funcional (DA COSTA & JUNIOR, 2017; BLAIR et al., 2015), que confere uma vantagem adaptativa no habitat em que vive. A presença desses compostos no solo e condições potencialmente ofensivas na natureza pode selecionar mecanismos específicos ou inespecíficos de resistência a antibióticos (ALLEN et al., 2010).

O entendimento do papel ecológico dos antibióticos e dos genes de resistência antimicrobiana nesses ambientes pode auxiliar na mitigação da disseminação dessa resistência para animais e humanos, inclusive entre bactérias comensais e patogênicas (MORAIS et al., 2016; MARTINEZ, 2008).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Caracterização da Área e Coleta de Amostras

As amostras foram coletadas no município de São José do Vale do Rio Preto, na região Serrana do Estado do Rio de Janeiro, onde deságua o rio Preto. A cidade é o principal polo de produção avícola em nível regional (cerca de 100 granjas) e é cercada por áreas agrícolas de grande relevância para o abastecimento de produtos *in natura* (ex. tomate, chuchu, abobrinha, berinjela, pepino) para a região Metropolitana do RJ. Além disso, a área de estudo possui fragmentos de Mata Atlântica, um bioma tropical protegido por parques nacionais e estaduais de grande relevância para a conservação da biodiversidade e dos recursos hídricos (PARENTE et al., 2019).

Para as amostras de água, foram realizadas três coletas no ano de 2022, a primeira em março, a segunda em junho e a terceira em julho, nos pontos identificados como: P1- Córrego acima do abatedouro, P2 - efluente bruto, P3 – Saída do efluente tratado e P4 –Estação de tratamento própria do abatedouro (Figura 1). Importante salientar que a amostra da estação de tratamento foi coletada apenas para análise de diversidade bacteriana e resistência a antimicrobianos, com a finalidade de verificar se a estação está sendo eficiente na diminuição da disseminação de bactérias patogênicas entre os tratamentos (químico e biológico). As amostras foram coletadas em recipiente estéril de vidro no volume de 2 litros por amostra, e transportadas ao Laboratório de Microrganismos de Referência / INCQS / Fiocruz para o processo de filtração.

As amostras de solos foram coletadas em outubro de 2022, em propriedades agrícolas que utilizavam a água do rio, onde o efluente do abatedouro é lançado, para irrigação da cultura de chuchu (*Sechium edule*). Foram coletadas amostras de solos de uma floresta próxima às duas propriedades agrícolas. Os pontos de coleta foram: (A) Área de floresta, (B) propriedade agrícola a montante do abatedouro e (C) propriedade agrícola a jusante do abatedouro. A coleta foi realizada nas entrelinhas da parcela útil, em solo não-rizosférico, de forma aleatória, na profundidade de 0-10 cm, com auxílio de um trado, sendo três amostras simples para formar uma amostra composta, com três repetições, por propriedade. O material coletado foi armazenado em sacos plásticos estéreis, acondicionados e transportados ao Laboratório de Bacteriologia da UFRRJ.

Figura 1. Localização dos pontos coletados. Ícones em amarelo representam os pontos de coleta de água e os ícones em vermelho representam os pontos de coleta dos solos. Área A – Floresta; Propriedade B - a montante do abatedouro. Propriedade C - a jusante do abatedouro.

A área de floresta (A) se caracterizava como mata de reflorestamento, com árvores de porte médio e de médio calibre e com pouca serrapilheira sob o solo. A área a montante do abatedouro (B) tinha um solo bem estruturado, com palhada como cobertura e a irrigação era feita por aspersão. A propriedade a jusante do abatedouro (C) era uma vasta propriedade, com plantação apenas de chuchu, a irrigação feita por aspersão.

3.2. Determinação de Coliformes

Para determinar o número de coliformes totais e coliformes termotolerantes utilizou-se a técnica do Número Mais Provável (NMP). É uma técnica quantitativa onde estima-se, estatisticamente, a quantidade de microrganismos presentes em uma amostra. Esta análise se processa por meio de 2 etapas (ensaios presuntivo e confirmatório), de realização obrigatória (CETESB, 2017; APHA, 2015).

Após realizada a coleta da água e homogeneização da amostra, 1 mL da amostra de água "bruta" foi adicionado em 9 mL de água peptonada 0,1% (diluição 10^{-1}) realizando a primeira diluição. Esta suspensão foi homogeneizada e 1 mL foi transferida para um frasco contendo 9 mL de água peptonada (diluição 10^{-2}). Esse procedimento foi realizado sucessivamente até a décima diluição, para cada amostra coletada.

Para a análise do solo, 25 g de cada amostra foi adicionada à 225 mL de água salina 0,9% para a primeira diluição. Após a homogeneização dessa suspensão, diluições decimais foram preparadas em tubos contendo 9 mL de água salina 0,9%, adicionando 1mL da amostra diluída, até a décima diluição.

Para o teste presuntivo de coliformes totais, transferiu-se 1 mL das respectivas diluições para uma série de cinco tubos contendo 9 mL do Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e um tubo de Durham invertido e incubadas na estufa a 35° C por 48 h. Os tubos considerados positivos foram aqueles que apresentaram turbidez do meio e/ou produção de gás no tubo de Durham, e foram destinados aos testes confirmatórios e quantificados.

Para confirmação e quantificação de coliformes totais, alíquotas das amostras positivas foram transferidas para tubos contendo Caldo Lactosado com Verde Brilhante e bile (CLVB)a 2%. Os tubos de caldo CLVB foram incubados em estufa a 35º C ± 0,5° C, por 48 horas. Foram considerados positivos os tubos que apresentaram turbidez e/ou continham formação de gás no interior do tubo de Durham.

Para quantificação de coliformes totais termotolerantes, alíquotas das amostras positivas (turbidez e/ou com presença de gás no tubo de Durham) foram transferidas para tubos contendo Caldo *Escherichia coli* (EC). Os tubos de caldo EC foram incubados em banho-maria a 44,5º C ± 0,2º C por 24 horas. Foi considerado como positivo os tubos que apresentaram turbidez e/ou continham formação de gás no interior do tubo de Durham.

Foram inoculadas três séries de cinco tubos com três diluições decimais diferentes, para ambas as quantificações. O número de tubos positivos de três diluições foi comparado com a tabela de NMP. O número mais provável de cada amostra foi calculado de acorda com a seguinte fórmula:

$$\text{NMP correspondente a tabela x}10/v$$

Onde:
v= Maior volume inoculado.

3.3. Presença de *Salmonella* no Solo

Para a análise de presença de *Salmonella* em solos, segundo a ISO (2010), foi suspendido 25g de solo em 225mL de água salina, para cada amostra. Após esta fase, 1 mL dessa suspensão foi transferida para tubos com 9 mL de caldo Tetrationato. Os tubos foram incubados a 35 º C por 24 h. Após a incubação, uma alíquota do caldo Tetrationato foi semeada no meio Ágar Salmonella-Shigella (ASS) e incubadas a 35º C por 24 h. As colônias com características de *Salmonella* (preta com centro negro) foram isoladas e posteriormente identificadas.

3.4. Isolamento e Identificação de Bactérias da Água e Solo

As amostras de água foram concentradas em membranas de 0,22 µm após filtração à vácuo e inoculadas em um tubo contendo caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI), meio de enriquecimento não-seletivo, e caldo Tetrationato, meio de enriquecimento seletivo para *Salmonella*. Alíquotas foram semeadas em meios seletivos para bactérias Gram-negativas (ágar MacConkey - HiMedia® e ágar Eosina Azul de Metileno - HiMedia®) e ágar *Salmonella-Shigella* para isolamento de *Salmonella*. As placas foram incubadas em estufa a 37° C por 24 horas. Após o crescimento, foram isoladas e identificadas colônias com diferentes características.

Para o isolamento das amostras de solo, uma alçada foi transferida para o meio de cultura EMB dos tubos considerados positivos provenientes de Caldo EC através da técnica de semeadura por esgotamento. Essas colônias foram estocadas e identificadas posteriormente. Todos os isolados foram identificados através do MALDI-TOF. Para o preparo das amostras, os isolados foram cultivados em ágar CLED a 37° C por 24 horas. Cada cultura bacteriana foi

transferida para a microplaca (96 MSP, Bruker-Billerica, E.U.A) e, ao sedimento bacteriano, foi adicionado uma solução de lise (ácido fórmico 70% Sigma- Aldrich®) em quantidade suficiente para cobri-lo. Em seguida 1 µL de solução da matriz (ácido alfa-ciano-4-hidroxi-cinâmico diluído em acetonitrila 50% e ácido trifluoracético 2,5%, Sigma-Aldrich®) foi utilizado para cobrir o extrato bacteriano, para finalmente ser processado. Os espectros de cada amostra foram gerados em um espectro de massa (MALDI- TOF LT Microflex Bruker, Bruker®) equipado com laser de 337 nm de nitrogênio no modo linear controlado pelo programa Flex Control 3.3 (Bruker®). Os espectros foram coletados na faixa de massa entre 2.000e 20.000 m/s e, analisados pelo programa MALDI Biotyper 2.0, conforme indica o fabricante (Bruker®).

3.5. Detecção Fenotípica do Perfil de Resistência

Os testes de detecção fenotípica da resistência foram executados conforme os padrões estabelecidos pelo Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST, 2022). Assim, foi preparado um inóculo contendo 1,5 x 10^8células/mL, ajustados segundo a escala 0,5 de McFarland. Em seguida, foi realizado o ensaio de difusão em disco, distribuindo a suspensão bacteriana (0,1 mL) por toda a superfície de placas de ágar Mueller Hinton, onde foram depositados os discos dos antimicrobianos (Figura 2). Após incubação por 18 horas a 35º C, os diâmetros formados ao redor do disco foram medidos, em milímetros.

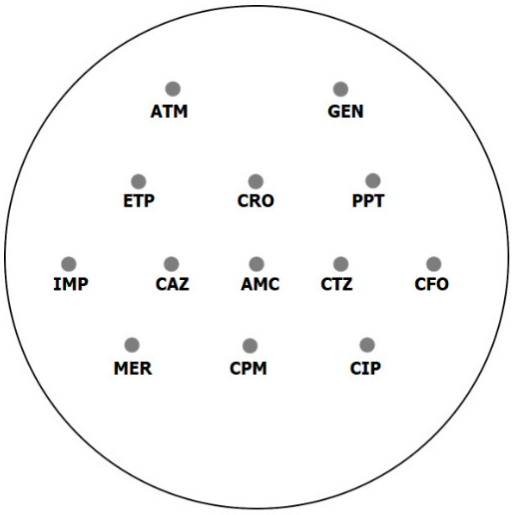

Figura 2. Teste de resistência antimicrobiana por disco difusão (técnica de Kirby Bauer). (BrCast, 2022. Adaptado). AMC-Amoxicilina+ácido clavulânico, CAZ – Ceftazidima, CPM- Cefepime, CTX – Cefotaxima, CRO – Ceftriaxona, CFO – Cefoxitina, ATM – Aztreonam, PPT – Piperacilina+Tazobactam, ETP – Ertapenem, IMP – Imipenem, MER – Meropenem, GEN – Gentamicina, CIP – Ciprofloxacina.

Quadro 2. Antimicrobianos testados por família

Classe	Subclasse	Antimicrobiano
Aminoglicosídeo	-	Gentamicina[1] (GEN)
Betalactâmicos	Penicilina	Amoxicilina+ácido clavuânico[1] (AMC)
		Piperacilina+Tazobactam[1,2] (PPT)
	Cefalosporina 2ª geração	Cefoxitina[1,2] (CFO)
	Cefalosporina 3ª geração	Cefotaxima[1] (CTX)
		Ceftazidima[1,2] (CAZ)
		Ceftriaxona[1] (CRO)
	Cefalosporina 4ª geração	Cefepima[1,2] (CPM)
	Carbapenêmicos	Ertapenem[1] (ERT)
		Imipinem[1,2] (IMP)
		Meropenem[1,2] (MER)
	Monobactâmicos	Aztreonam[1,2] (ATM)
Fluoroquinolona	-	Ciprofloxacina[1,2] (CIP)

[1] Antimicrobianos avaliados em *Enterobacteriaceae*
[2] Antimicrobianos avaliados em *Pseudomoneaceae*

Os antimicrobianos testados por família são apresentados no Quadro 2. Para interpretação dos resultados foram considerados os pontos de corte estabelecidos pelo Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Institute (BrCast, 2022).

Para a detecção de produção de ESBL foi observado se houve sinergismo entre o disco AMC e qualquer uma das cefalosporinas (CAZ, CTX e CPM). Esse teste é conhecido como teste do sinergismo de disco duplo, onde os discos de cefalosporinas são aplicados a uma distância de 25mm do disco de ácido clavulânico (AMC). O resultado é considerado positivo quando as zonas de inibição em torno de qualquer um discos de cefalosporinas são aumentadas na direção do disco que contém o ácido clavulânico. Esse teste foi realizado em todos os isolados da família *Enterobacteriaceae* (BrCast, 2022).

Isolados pertencentes ao Grupo 1 de *Enterobacteriaceae* (AmpC cromossômica indutiva - *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis, Salmonella* spp., *Shigella* spp.) com halo de resistência em CFO e CAZ/CTX foram investigados para a produção de AmpC (BrCast, 2022)

Para a detecção de carbapenemases em *Enterobacteriaceae* foi observado o halo de inibição de meropenem e ertapenem, de acordo com a tabela de ponto de corte. Os isolados que apresentaram halo de inibição de MER entre 25 e 27mm só foram investigados caso apresentassem, também, resistência a piperacilina+tazobactam (BrCast, 2022).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Indicadores Microbiológicos de Qualidade da Água e do Solo

A quantificação de coliformes no tanque de equalização, indicada na Tabela 1 como efluente bruto, apresentou densidade populacional de 10^7 a 10^9NMP/100 mL para ambos os coliformes, totais e termotolerantes. A presença destes grupos de microrganismos no efluente bruto proveniente do abatedouro é esperado, pois aves de abate são geralmente fonte de contaminação, e o número de microrganismos presentes pode ser influenciável pelas condições de higiene no processo de abate (CARVALHO et al., 2005).

Tabela 1. Quantificação de coliformes totais e termotolerantes e detecção de *Salmonella* nas amostras de água e de solos (NMP/100 mL)

	Coleta	**Ponto de coleta**	**Coliformes totais**	**Coliformes termotolerantes (*E.coli*)**	***Salmonella***
Água	Primeira coleta	Córrego	$4,3x10^4$	$7,9x10^3$	Ausente
		Efluente bruto	$2,3x10^9$	$1,3x10^9$	Ausente
		Efluente tratado	$2,2x10^7$	$7,0x10^6$	Ausente
	Segunda coleta	Córrego	$7,8x10^2$	$7,8x10^2$	Ausente
		Efluente bruto	$3,3x10^7$	$3,3x10^7$	Ausente
		Efluente tratado	$1,3 \times 10^6$	0	Ausente
	Terceira coleta	Córrego	$1,3x10^3$	$4,5x10^2$	Ausente
		Efluente bruto	$4,6x10^9$	---	Ausente
		Efluente tratado	$2,3x10^8$	$1,1x10^8$	Ausente
Solos		Área de floresta	$9,8x10^4$	0	Ausente
		Propriedade a montante	$4,0x10^6$	0	Ausente
		Propriedade a jusante	$>1,6x10^7$	0	Ausente

Após o abate dos animais, o efluente bruto é encaminhado para um tanque de equalização, onde ocorre a separação da fase sólida da fase líquida. A fase líquida é encaminhada para a estação de tratamento químico e posteriormente ao tratamento biológico em piscinas de anaerobiose e aerobiose, para, somente então, ser descartada.

Os efluentes tratados apresentaram valores entre $1,3 \times 10^6$ NMP/100 mL e $2,3x10^8$ NMP/100 mL para coliformes totais e $1,1x10^8$ NMP/100 mL e $7,0x10^6$ NMP/100 mL para coliformes termotolerantes. Comparando os valores obtidos para coliformes totais e termotolerantes entre o efluente bruto e o efluente tratado, percebe-se uma diminuição da carga microbiana, podendo inferir que os tratamentos realizados dentro do abatedouro estão diminuindo a densidade populacional da comunidade microbiana.

A Resolução 430 CONAMA diz que "o lançamento de efluentes em corpos de água, com exceção daqueles enquadrados na classe especial, não poderá exceder as condições e padrões de qualidade de água estabelecidos para as respectivas classes, nas condições da vazão de referência ou volume disponível, além de atender outras exigências aplicáveis". Dito isso, uma vez que o efluente, mesmo após tratamento, apresenta uma carga mínima de coliformes termotolerantes de 10^6, não poderia ser descartado no córrego por exceder o limite máximo de qualidade para águas de classe 3 que corresponde a 2 500 coliformes termotolerantes /100

mililitros. Isso indica que melhorias no tratamento desse efluente devem ser implementadas, na intenção da diminuição da carga microbiana e adequação à legislação.

É importante ressaltar que águas de classe 3 podem ser destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado; à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras; à pesca amadora; à recreação de contato secundário; e à dessedentação de animais. Para ser utilizada para irrigação de hortaliças, que são as culturas preponderantes na região, a água deve pertencer à classe 2, que não deve exceder o limite de 1000 coliformes termotolerantes /100 mililitros.

A água do córrego, coletada num ponto a montante do abatedouro, apresentou valores entre 450 e 780 NMP/100 mL de coliformes termotolerantes, considerados dentro do padrão exigido pela legislação para a classe 2. No entanto, há uma flutuação nos valores dos dois índices entre as coletas. Na primeira coleta o valor de coliformes totais foi de $4{,}3x10^4$ NMP/100 mL, enquanto na segunda foi de 780 NMP/100 mL e 1300 NMP/100 mL na terceira. Nesse caso, o uso desta água para a irrigação de hortaliças pode representar um risco de contaminação. Essa variabilidade nos valores mostra que há alguma fonte de contaminação no percurso até o córrego, justificados pela quantidade de propriedades agrícolas a montante do abatedouro (SAMPAIO et al., 2019), com atividade agrícola e agropecuária. Além disso, outros fatores como estação do ano, temperatura, concentração de nutrientes na água, uso da terra, salinidade, carbono orgânico dissolvido, entre outras, também podem influenciar na concentração de microrganismos em águas superficiais (BADGLEY et al., 2019)

Uma vez que o tratamento do efluente do abatedouro não está sendo eficiente, o seu descarte contínuo tende a aumentar o número de coliformes do córrego; e o seu uso para a irrigação pode se tornar um meio de veiculação de patógenos, servindo como um meio de disseminação de doenças transmitidas pela água (DTA). Segundo a OMS, DTA são adquiridas por meio da ingestão direta da água contaminada com microrganismo patogênico, ou transmitidas através do contato direto com essa água em atividade rotineiras, além das doenças que podem ser adquiridas por terem seus vetores com parte do ciclo de vida desenvolvido no ambiente aquático.

Em relação aos solos, o solo da área de floresta apresentou $9{,}8x10^4$ NMP/100 mL de coliformes totais. A Resolução 274/2000 do CONAMA diz que coliformes totais além de presentes em fezes humanas e de animais podem, também, ser encontradas em solos, plantas ou quaisquer efluentes contendo matéria orgânica (BRASIL, 2000), podendo ser encontrados igualmente em águas de regiões tropicais ou subtropicais, sem qualquer poluição evidente por material de origem fecal (CETESB, 2019).

Ambos os solos irrigados com a água do córrego apresentaram um aumento no nível de coliformes, sendo que a propriedade a jusante do abatedouro apresentou uma maior concentração, superior a $1{,}6x10^7$NMP/100 mL. A maior contagem de coliformes totais dos solos das propriedades agrícolas em relação à área de floresta pode ser resultado da qualidade da água utilizada para a irrigação, que é proveniente do córrego que recebe efluentes provenientes das granjas. Além do aumento do número de coliformes totais dos solos, a água utilizada para a irrigação pode estar carreando microrganismos para as plantas cultivadas, o que reforça o seu papel como fonte de disseminação de patógenos.

Ainda não há uma legislação no país que estipule um nível máximo de indicadores de qualidade microbiológica (Coliformes e *Salmonella*) no solo. As legislações vigentes são voltadas para o controle e qualidade ambiental no processo de compostagem de resíduos orgânicos (Resolução 481/2017 CONAMA) e a Portaria nº52/2021 MAPA, que lista as substâncias e práticas para uso nos sistemas orgânicos, onde determina 1000 NMP de coliformes termotolerantes em 100 mL por matéria seca e ausência de *Salmonella* nos resíduos formulados. No Brasil, hoje, há apenas legislações que tratam da contaminação do solo por

substâncias químicas, como a Resolução 420/2009 CONAMA, entre outras legislações federais e estaduais.

Não foi detectado a presença de *Salmonella* sp. em nenhuma amostra, tanto de água quanto de solo, apesar do trato intestinal de animais domésticos, principalmente aves, ser o principal reservatório deste gênero bacteriano (HUGAS&BELOEIL, 2014). Santos el al. (2007) diz que isso ocorre, pois, bactérias do gênero *Salmonella* sp. são consideradas fastidiosas, tendo seu crescimento laboratorial possível somente quando houver um declínio na taxa de multiplicação ou inativação de outras bactérias. A *Salmonella* sp. é utilizada como indicador microbiológico por ser estar distribuída amplamente pela natureza e ter o potencial de causar infecções alimentares graves, com a salmonelose considerada a zoonose mais difundida do mundo, sendo uma das principais responsáveis por surtos de origem alimentar, com alto nível de mortalidade e morbidade (BRASIL, 2011) se tornando um problema de Saúde Pública.

4.2. Diversidade da Comunidade Microbiana da Água e do Solo

Ao todo, 333 cepas de bactérias Gram-negativas das famílias *Enterobacteriaceae* e *Pseudomoneaceae* foram isoladas a partir das amostras de água e solo. No presente trabalho, foram considerados os gêneros presentes em ambos os ambientes para comparação da abundância das espécies bem como o seu nível de resistência antimicrobiana. Os outros isolados estão sendo trabalhados em projetos paralelos. Sendo assim, 178 isolados foram considerados sendo 74 (41,58%) a partir de amostras de água e 104 dos solos (58,42%).

As 178 cepas bacterianas Gram-negativas, isoladas nos pontos de coleta de água e solos, pertencem à família *Enterobacteriaceae*, sendo detectados quatro gêneros: *Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella, Serratia* e à família *Pseudomoneaceae* representada pelo gênero *Pseudomonas*. O grande número de isolados das enterobactérias e *Pseudomonas* sp. pode ser explicado pela ampla distribuição no mundo todo, podendo ser encontradas no solo, água, frutas, vegetais, florações (BRENNER&FARMER, 2015) e na microbiota intestinal de homens e animais no caso mais específico das enterobactérias.

O gênero *Enterobacter* foi o mais abundante nos solos (45,2%) e o segundo mais abundante nas amostras de águas (18,9%) (Figura 3). Isso pode estar associado ao fato de ser comensais naturais da microbiota intestinal de homens e animais, além de facilmente isolados desses ambientes. As espécies deste gênero são membros do grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter sp.),* descritos como a principal causa de infecções nosocomiais resistentes. Algumas espécies são agrupadas no complexo *Enterobacter cloacae: E. cloacae*, *E. asburiae*, *E. hormaechei*, *E. kobei*, *E. ludwigii*, *E. mori* e *E. nimipressuralis,* devido a sua similaridade genômica (DAVIN-REGLI et al., 2019).

Klebsiella foi mais encontrada em amostras de água (47,3%; 35/74) do que em solos (5,8%; 6/104), o que se inverte para *Citrobacter,* com 16,2% (12/74) e 25% (26/104) respectivamente. A abundância de *Serratia* foi relativamente igual em ambos os ambientes, representando 6,76% (5/74) os isolados de água e 8,65% (9/104) os isolados de solos. Já *Pseudomonas* representou 10,8% (8/74) dos isolados de água e 15,4% (16/104) dos isolados de solos.

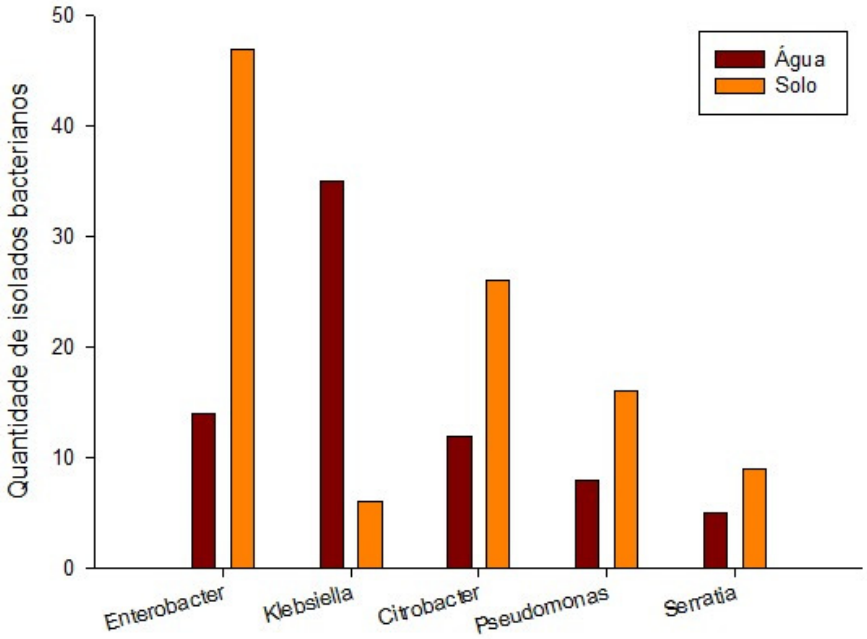

Figura 3. Relação de gêneros isolados no ambiente solo e água.

Mais especificamente (Figura 4), o gênero *Enterobacter* foi o mais frequente em solos, seguido de *Citrobacter* e *Pseudomonas*, enquanto o gênero *Klebsiella* foi isolado apenas na área de floresta (A). Enquanto isso, na água, o gênero abundante foi *Klebsiella*, seguido de *Enterobacter* e *Citrobacter*. O gênero *Serratia* foi encontrado em apenas dois pontos de coleta em cada ambiente, porém ambos com a mesma abundância. *Pseudomonas* segue o mesmo padrão sendo isolada, apenas em dois pontos de coleta em cada ambiente, porém, nos solos *Pseudomonas* se mostrou mais abundante. De forma geral, *Enterobacter* foi o gênero mais abundante, sendo encontrado em todas as amostras de ambos os ambientes. Estes resultados são esperados, uma vez que os gêneros são comumente encontrados em solos, água e no trato intestinal de seres humanos (ROGERS et al., 2016).

Dentre as duas famílias foram identificadas 21 espécies diferentes. Dezesseis são representadas pela família *Enterobacteriaceae* com *Citrobacter sedlakii* (2/178), *Citrobracter braakii* (10/178), *Citrobracter freundii* (24/178), *Citrobacter gillenii* (2/178), *Enterobacter asburiae* (12/178), *Enterobacter bugandensis* (35/178), *Enterobacter cloacae* (3/178), *Enterobacter kobei* (2/178), *Enterobacter ludwigii* (5/178), *Enterobacter roggemkampii* (4/178), *Klebsiella aerogenes* (6/178), *Klebsiella oxytoca* (1/178), *Klebsiella pneumoniae* (33/178), *Klebsiella variicola* (2/178), *Serratia marcescens* (10/178) *e Serratia nematodiphila* (4/178). O restante representado por *Pseudomonas* são cinco espécies: *Pseudomonas aeruginosa* (8/178), *Pseudomonas otitidis* (1/178), *Pseudomonas montellii* (2/178), *Pseudomonas putida* (11/178), *Pseudomonas stutizeri* (3/178).

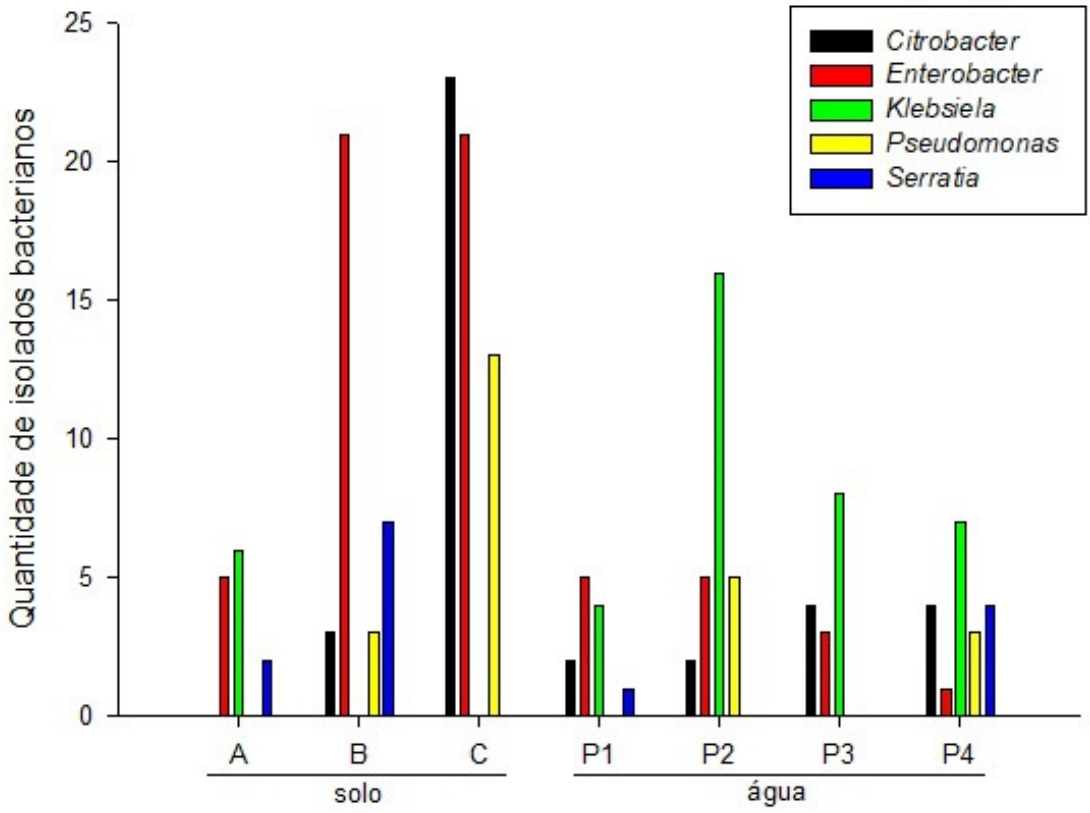

Figura 4. Distribuição de gêneros dentro do ambiente solo e água. Solo: A – área de floresta, B – propriedade a montante do abatedouro, C – propriedade a jusante do abatedouro. Água: P1 – Córrego, P2 – Efluente bruto, P3 – Efluente tratado e P4 – Estação de tratamento.

A espécie *Klebsiella pneumoniae* foi comum às quatro amostras de água, enquanto *Enterobacter bugandensis* foi comum às três amostras de solo (Figura 5). É interessante observar que *E. bugandensis* foi a espécie isolada em quase todos os pontos de coleta, ficando de fora apenas no efluente bruto. Houve uma sobreposição de seis espécies entre os ambientes água e solo (Figura 6), representadas por *Citrobacter braakii, Citrobacter freundii, Enterobacter asburiae, Serratia marcescens, Serratia nematodiphila* e *Enterobacter bugandensis*, equivalente a 53,3% do total de isolados (95/178).

A espécie *Klebsiella pneumoniae* foi a mais encontrada nas amostras de água, com 33 isolados, principalmente no efluente bruto, mas com presença na água do córrego, na estação de tratamento e na saída do efluente tratado (Tabela 2). A água e a vegetação têm sido descritas como ambientes nativos desta espécie (ROCHA et al., 2022; BRISSE & GRIMONT, 2006), e de fato é uma espécie capaz de prosperar em compartimentos ambientais diferentes como água, solos e plantas, mas, também, em animais e seres humanos, podendo, então, ser considerada como contaminantes ambientais (ROCHA et al., 2022).

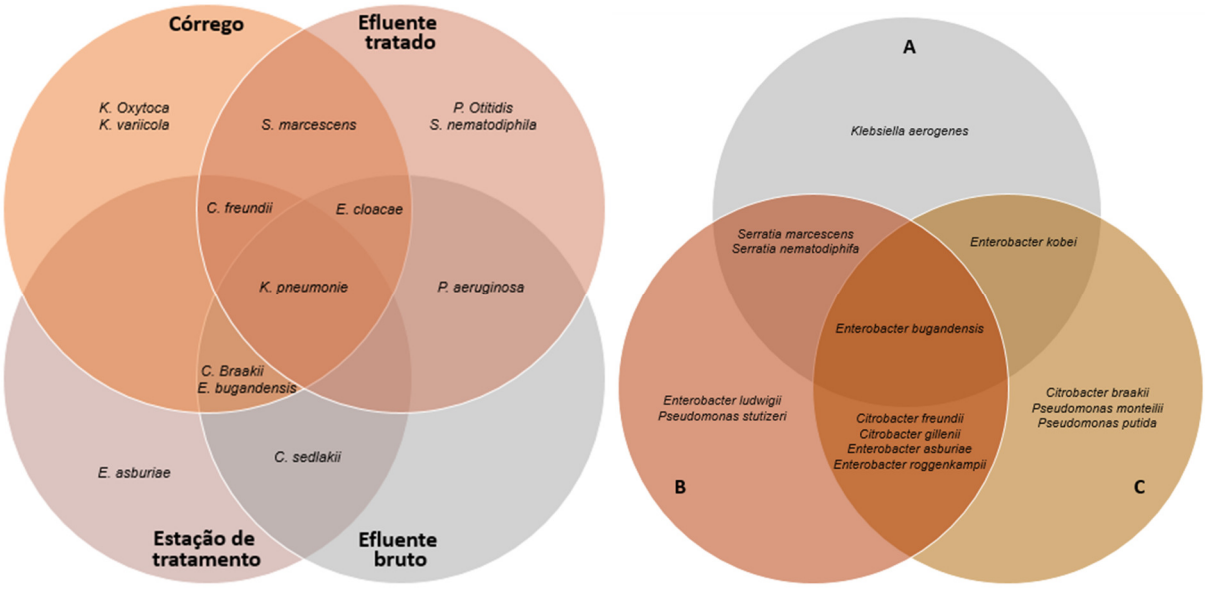

Figura 5. Espécies em comum isoladas em cada ambiente. À esquerda, espécies em comum nas amostras de água. À direita, espécies em comum em amostras de solo: A – área florestal, B – propriedade a montante do abatedouro, C – propriedade a jusante ao abatedouro

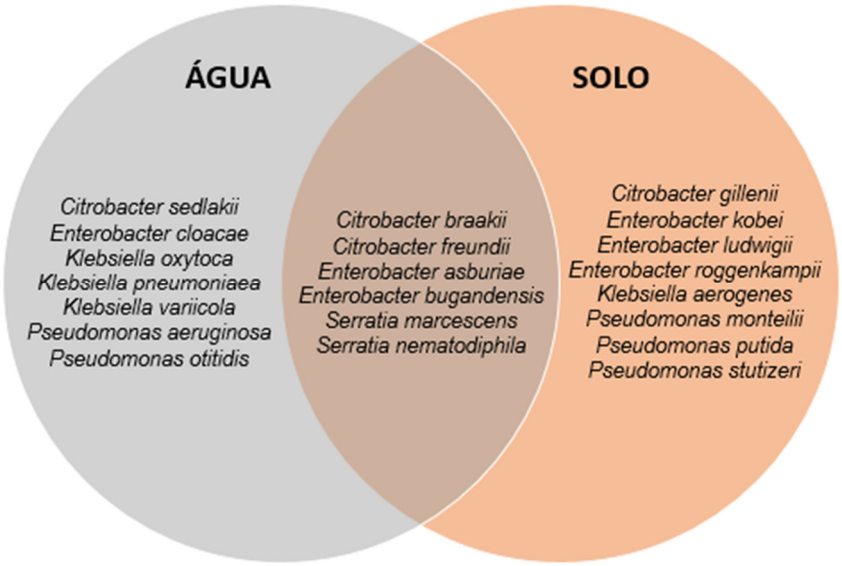

Figura 6. Espécies isoladas em comum das amostras de água e solo.

A *Pseudomonas aeruginosa* é um microrganismo ubíquo, associado à água e ambiente úmido e sujo (VIOLA et al., 2011). No estudo, foi isolada em dois pontos de coleta, o efluente bruto e o tratado. No entanto, a abundância dessa bactéria no efluente tratado é reduzida a menos que a metade, além de não ter sido isolada em nenhuma amostra de solo. A partir disso, podemos inferir que o tratamento químico na estação de tratamento do abatedouro pode ter surtido efeito na redução de carga microbiana, como observado na análise microbiológica de

água. Reconhecida como patógeno oportunista, tem sido isolada de água tratada e possui importante papel em surtos de gastroenterites veiculadas pela água e por colonizar transitoriamente os tratos respiratórios de pacientes hospitalizados (PERESI et al., 2011).

Nos solos, a espécie *Pseudomonas putida* teve abundância relativamente alta. É uma bactéria saprófita ubíqua da rizosfera, frequentemente encontrada em ambientes contaminados, que evoluiu para suportar condições ambientais de estresse físico e químico, além manter a capacidade de sobreviver e prosperar em ambientais de solo natural. Devido a sua capacidade de crescer em substratos complexos, tem sido reconhecida como um agente de biorremediação (VOLKE & CALERO, 2020; WEIMER et al., 2020). Devido ao seu metabolismo versátil, *P. putida* é capaz de tolerar valores extremos de pH, altas temperaturas assim como um alto nível de substância toxicas, como xenotobióticos, sendo extremamente interessante para processos biotecnológicos (POBLETE-CASTRO et al., 2017).

Tabela 2. Prevalência bacteriana nas amostras de água e solo (continua)

Ambiente	Ponto de coleta	Família	Espécie
Água (n=74)	Córrego (n=12)	*Enterobacteriaceae*	*Citrobracter braakii (1)* *Citrobracter freundii (1)* *Enterobacter asburiae (1)* *Enterobacter bugandensis (3)* *Enterobacter cloacae (1)* *Klebsiella oxytoca (1)* *Klebsiella pneumoniae (2)* *Klebsiella variicola (1)* *Serratia marcescens (1)*
	Efluente bruto (n=28)	*Enterobacteriaceae*	*Citrobracter braakii (1)* *Citrobacter sedlakii (1)* *Enterobacter bugandensis (4)* *Enterobacter cloacae (1)* *Klebsiella pneumoniae (16)*
		Pseudomoneaceae	*Pseudomonas aeruginosa (5)*
	Estação de tratamento (n=15)	*Enterobacteriaceae*	*Citrobracter braakii (2)* *Citrobracter freundii (1)* *Citrobacter sedlakii (1)* *Enterobacter asburiae (1)* *Enterobacter bugandensis (2)* *Klebsiella pneumoniae (8)*
	Efluente tratado (n=19)	*Enterobacteriaceae*	*Citrobracter freundii (4)* *Enterobacter cloacae (1)* *Klebsiella pneumoniae (7)* *Serratia marcescens (3)* *Serratia nematodiphila (1)*
		Pseudomoneaceae	*Pseudomonas aeruginosa (2)* *Pseudomonas otitidis (1)*

Tabela 2. Continuação

	Área de floresta (n=13)	*Enterobacteriaceae*	*Enterobacter kobei* (1) *Enterobacter bugandensis (4)* *Klebsiella aerogenes (6)* *Serratia marcescens (1)* *Serratia nematodiphila (1)*
Solo (n=104)	Propriedade a montante do abatedouro (n=34)	*Enterobacteriaceae*	*Citrobracter freundii (2)* *Citrobacter gillenii (1)* *Enterobacter asburiae (5)* *Enterobacter bugandensis (8)* *Enterobacter ludwigii (5)* *Enterobacter roggenkampii (3)* *Serratia marcescens (5)* *Serratia nematodiphila (2)*
		Pseudomoneaceae	*Pseudomonas stutizeri (3)*
	Propriedade a jusante do abatedouro (n=57)	*Enterobacteriaceae*	*Citrobracter braakii (6)* *Citrobracter freundii (16)* *Citrobacter gillenii (1)* *Enterobacter asburiae (5)* *Enterobacter bugandensis (14)* *Enterobacter kobei (1)* *Enterobacter roggenkampii (1)*
		Pseudomoneaceae	*Pseudomonas monteilii (2)* *Pseudomonas putida (11)*

4.3. Resistência Bacteriana e Perfil de Resistência

Além da disseminação de bactérias com potencial patogênico, outra abordagem importante a ser levada em consideração é a contribuição ao fenômeno da resistência aos antimicrobianos (FERREIRA, et al., 2021). Os ambientes aquáticos que recebem efluentes domésticos e industriais representam um cenário único na aquisição e disseminação de genes de resistência e a proliferação de bactérias resistentes aos antimicrobianos (SANT'ANNA et al., 2021; CHEN et al., 2019).

No presente trabalho foi observado uma alta prevalência de fenótipos resistentes a amoxicilina+ácido clavulânico e cefoxitina, representados na Figura 7. Os resultados apresentados estão em concordância com Amador et al. (2014), onde encontrou 53,5 % de resistência à cefoxitina e 43,5% resistente à amoxicilina+ácido clavulânico em isolados de *Enterobacteriaceae* provenientes de águas residuais. Farias et al. (2021) verificou o perfil de sensibilidade na microbacia em Rio Branco e observou, assim como neste trabalho, alto percentual de resistência à amoxicilina+ácido clavulânico e cefoxitina, não obstante, também verificou sensibilidade ao imipenem e meropenem. No entanto, em contraposição ao nosso trabalho, verificou resistência à CIP em 20% do isolados.

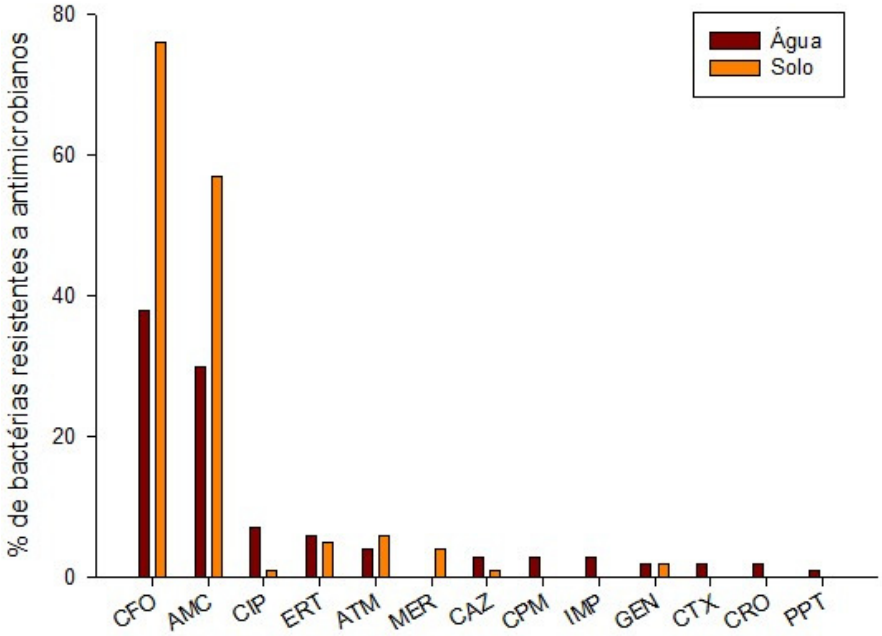

Figura 7. Percentual de resistência bacteriana observada em cada ambiente. AMC- Amoxicilina+ácido clavulânico, CAZ – Ceftazidima, CPM- Cefepime, CTX – Cefotaxima, CRO – Ceftriaxona, CFO – Cefoxitina, ATM – Aztreonam, PPT – Piperacilina+Tazobactam, ETP – Ertapenem, IMP – Imipenem, MER – Meropenem, GEN – Gentamicina, CIP – Ciprofloxacina.

Além da alta resistência aos betalactâmicos, nas amostras de água a resistência mais encontrada foi à ciprofloxacina, sendo expressa em cinco espécies diferentes (*C. freundii, E. bugandensis, K. oxytoca, K. variicola e K. pneumoniae),* observados na Tabela 3.

Isolados de *K. pneumoniae* apresentaram resistência aos betalactâmicos, aminoglicosídeo e fluoroquinolona, e se expressados num mesmo isolado é considerado multidroga resistente – MDR. A CDC (*Center for Disease Prevention and Control*) categoriza a resistência em três principais classes: *extensive-drug resistance* (XDR) quando há resistência em pelo menos um antimicrobiano de todas as classes; *pan drug resistance* (PDR), definida quando há resistência em todos os antimicrobianos de todas as classes, e *multidrug resistance* (MDR), quando há resistência a um antimicrobiano de, pelo menos, três classes diferentes (JUBAIR et al., 2021; CDC, 2019). Num estudo realizado por Homeier-Bachmann e colaboradores (2021), foram isoladas 10 cepas de *K. pneumoniae* MDR de matadouro. Uma vez que o ambiente é um importante reservatório de *K. pneumoniae* que alberga características clinicamente relevantes (ROCHA et al., 2022), essas cepas são consideradas uma grande ameaça a saúde global pois têm uma propensão a adquirir múltiplos determinantes de resistência, como ESBL e/ou carbapenemase (JUBAIR et al., 2021; TANG et al., 2020).

Tabela 3. Percentual de resistência observado por espécie, nos isolados de água.

Espécies	Betalactâmicos											Aminog	Flu
	AMC	**CAZ**	**CPM**	**CTX**	**CRO**	**CFO**	**ATM**	**PPT**	**ETP**	**IMP**	**MER**	**GEN**	**CIP**
Citrobracter braakii (4)	25	0	0	0	0	75	0	0	0	0	0	0	0
Citrobracter freundii (6)	17	0	0	0	0	33	0	0	0	0	0	0	17
Citrobacter sedlakii (2)	100	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0
Enterobacter asburiae (2)	50	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0
Enterobacter bugandensis (9)	67	0	0	0	0	67	8	0	0	0	0	0	8
Enterobacter cloacae (3)	0	0	0	0	0	67	0	0	0	0	0	0	0
Klebsiella oxytoca (1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Klebsiella pneumoniae (33)	15	3	6	3	3	21	6	0	12	6	0	3	6
Klebsiella variicola (1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33
Serratia marcescens (4)	75	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0	0	0
Serratia nematodiphila (1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pseudomonas aeruginosa (7)	*	0	0	*	*	*	0	0	*	0	0	*	0
Pseudomonas otitidis (1)	*	0	0	*	*	*	0	0	*	0	0	*	0

*Não testados. Antimicrobianos: AMC-Amoxicilina+ácido clavulânico, CAZ – Ceftazidima, CPM- Cefepime, CTX – Cefotaxima, CRO – Ceftriaxona, CFO – Cefoxitina, ATM – Aztreonam, PPT – Piperacilina+Tazobactam, ETP – Ertapenem, IMP – Imipenem, MER – Meropenem, GEN – Gentamicina, CIP – Ciprofloxacina. Aminog – Aminoglicosídeo. Flu – Fluoroquinolona.

Nos solos, *Pseudomonas putida* apresentou resistência a ceftazidima, aztreonam, meropenem e Ciprofloxacina (Tabela 4). Os dados relativos à resistência a agentes antimicrobianos em isolados clínicos desta espécie ainda são bem limitados. No entanto, segundo Zhong e colaboradores (2022), isolados desta espécie, proveniente de águas residuais, apresentaram resistência ao meropenem por uma metalo-betalactamase e atribuíram este fato ao estresse causado por cadmio, inclusive constatou que essa espécie pode ser usada para biorremediação sem transferir resistência ao meropenem. Na clínica hospitalar, infecções causadas por esse patógenos são, geralmente, tratadas com carbapenemas, fluoroquinolona, algumas cefalosporinas e aminoglicosídeos (MESAROS et al., 2007; HORII et al., 2005). Kim e colaboradores (2012), verificou uma alta resistência a carbapenêmicos em isolados desta espécie. Um estudo realizado por Horii e colaboradores (2005) verificou resistência a metalo-betalactamase na grande maioria dos isolados. Levando em consideração ao que foi dito anteriormente sobre essa espécie ser utilizada na indústria biotecnológica como biorremediador, torna-se preocupante o aparecimento a cepas resistentes em ambientes não-hospitalares, uma vez que os genes resistentes podem ser transferidos para espécies sensíveis, além de outras espécies de relevância clínica.

Além disso, foi observado também resistência a gentamicina em isolados de *C. freundii e E. asburiae*e a ao ertapenem em isolados e *E. bugandensis, E. kobei, E. ludwigii e C. freundii.* A família *Enterobacteriaceae*, a mais frequente dentro das amostras avaliadas, apresentou resistência a grande parte dos antimicrobianos testados. Bactérias dessa família fazem parte da microbiota intestinal de animais saudáveis (HOMEIER-BACHMANN, 2021), no entanto, é importante considerar que podem ser um importante reservatório de resistência, e o contato com seres humanos e animais pode acarretar a falha do tratamento. Inclusive, a disseminação desses patógenos ainda pode modificar o resistoma ambiental, além de contaminar os vegetais que por sua vez, ao serem ingeridos *in natura,* vindo a causar infecções em seres humanos e animais (FERREIRA et al., 2021).

A partir dos 178 isolados, 69 perfis de resistência foram identificados (Tabela 5). A classe dos betalactâmicos foi a que mais apresentou isolados resistentes, tanto nas amostras de água quanto de solo, podendo observar isolados resistentes às várias subclasses em todos os pontos de coleta. Esse resultado é esperado, uma vez que os betalactâmicos são os antimicrobianos mais utilizados no mundo, tanto na medicina humana quanto na medicina animal.

Enterobacter possui resistência intrínseca à ampicilina, amoxicilina, cefalosporinas de primeira geração e a cefoxitina, por expressar construtivamente a enzima AmpC (DAVIN-REGLI et al., 2019). Isso explica o fato desse gênero como um todo expressar um percentual de resistência tão grande à cefoxitina avaliados neste trabalho. As infecções mais comuns causadas por *Enterobacter* são bacteremia, infecções do trato respiratório, infeções do trato urinário, infecções de sítio cirúrgico e infecções associadas a dispositivos intravascular. São infecções graves que, mesmo se tratadas adequadamente, podem levar à morte (RAMIREZ & GERON, 2022).

Tabela 4. Percentual de resistência observado por espécie, nos isolados de solos.

Espécies	Betalactâmicos											Aminog	Flu
	AMC	**CAZ**	**CPM**	**CTX**	**CRO**	**CFO**	**ATM**	**PPT**	**ERT**	**IMP**	**MER**	**GEN**	**CIP**
Citrobracter braakii (6)	67	17	0	0	0	0	17	0	0	0	0	0	0
Citrobracter freundii (18)	39	0	0	0	0	78	11	0	5	0	0	5	0
Citrobacter gillenii (2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Enterobacter asburiae (10)	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0
Enterobacter bugandensis (26)	69	0	0	0	0	100	0	0	4	0	0	0	0
Enterobacter kobei (2)	50	0	0	0	0	100	0	0	50	0	0	0	0
Enterobacter ludwigii (5)	100	20	0	0	0	100	20	0	20	0	0	0	0
Enterobacter roggenkampii (4)	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0
Klebsiella aerogenes (6)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Serratia marcescens (6)	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Serratia nematodiphila (3)	34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pseudomonas monteilii (2)	**	0	0	**	**	**	50	0	**	0	0	**	0
Pseudomonas putida (11)	**	9	0	**	**	**	9	0	**	0	36	**	9
Pseudomonas stutizeri (3)	**	0	0	**	**	**	0	0	**	0	0	**	0

*Não testados. AMC-Amoxicilina+ácido clavulânico, CAZ – Ceftazidima, CPM- Cefepime, CTX – Cefotaxima, CRO – Ceftriaxona, CFO – Cefoxitina, ATM – Aztreonam, PPT – Piperacilina+Tazobactam, ETP – Ertapenem, IMP – Imipenem, MER – Meropenem, GEN – Gentamicina, CIP – Ciprofloxacina. Aminog – Aminoglicosídeo. Flu – Fluoroquinolona.

Tabela 5. Fenótipo de resistência e suspeita do mecanismo de resistência em todas as espécies dos isoladas de acordo com seu ambiente (continua).

Ambiente	Espécie	Fenótipo	Freq.	Suspeita
Água (n=74)	*Citrobracter braakii* (4)	-	1	-
		CFO	2	-
		AMC – CFO	1	-
	Citrobracter freundii (6)	-	2	-
		CFO	1	-
		CIP	1	-
		CIP*	1	-
		AMC – CFO	1	-
	Citrobacter sedlakii (2)	AMC	1	-
		AMC – CFO	1	-
	Enterobacter asburiae (2)	AMC – CFO	2	-
	Enterobacter bugandensis (9)	-	3	-
		AMC	1	-
		AMC – CFO	3	-
		AMC – CFO – CIP*	1	-
		AMC – CAZ* – CRO* – CFO – ATM – CIP	1	-
	Enterobacter cloacae (3)	CFO	3	-
	Klebsiella oxytoca (1)	CIP	1	-
	Klebsiella pneumoniae (33)	-	18	
		CFO	2	-
		ERT	1	-
		ERT*	1	-
		AMC – CFO	1	pAmpC
		AMC – CFO*	1	-
		CFO – CIP	1	-
		CFO – ERT*	1	-
		CFO – PPT	1	-
		CFO* – IMP	1	-
		ERT – GEN	1	-
		AMC – CFO – ATM	1	pAmpC
		AMC – PPT* – ERT*	1	-
		CPM – CRO* – IMP – CFO* – ERT – CIP*	1	KPC
		AMC – CAZ – CPM –CTX – CRO – ATM – ERT – CIP	1	KPC
	Klebsiella variicola (1)	AMC*	1	-
	Serratia marcescens (4)	-	4	-
		AMC	2	-
		AMC – CFO	1	-
	Serratia nematodiphila (1)	-	2	
	Pseudomonas aeruginosa (7)	-	7	-
	Pseudomonas otitidis (1)	-	1	-

Tabela 5. Continuação

Solo (n=104)	*Citrobracter braakii* (6)	AMC – CFO	3	-
		AMC – CFO – ATM	1	-
		AMC – CFO – CAZ*	1	-
		AMC* – CFO – GEN*	1	-
	Citrobracter freundii (18)	-	1	
		CFO	8	-
		GEN	1	-
		AMC – CFO	4	-
		ATM – ERT	1	-
		AMC – ATM – GEN*	1	-
		AMC – CFO – CAZ*	1	-
		AMC – CFO – CIP*	1	-
	Citrobacter gillenii (2)	-	2	-
	Enterobacter asburiae (10)	CFO	2	-
		AMC – CFO	7	-
		AMC – CFO – GEN	1	-
	Enterobacter bugandensis (26)	CFO	8	-
		AMC – CFO	16	-
		AMC – CFO – ERT	1	-
		AMC – CFO – GEN*	1	-
	Enterobacter kobei (2)	AMC – CFO – ATM*	1	-
		AMC – CFO – ERT	1	-
	Enterobacter ludwigii (5)	AMC – CFO	3	-
		AMC – CFO – ERT	1	-
		AMC – CFO – CAZ – ATM – ERT*	1	-
	Enterobacter roggenkampii (4)	AMC – CFO	2	-
		AMC – CFO – GEN*	2	-
	Klebsiella aerogenes (6)	-	6	-
	Serratia marcescens (6)	-	5	
		AMC	1	-
	Serratia nematodiphila (3)	-	2	-
		AMC	1	-
	Pseudomonas monteilii (2)	-	1	
		ATM	1	-
	Pseudomonas putida (11)	-	4	-
		ATM*	1	-
		MER	2	-
		MER*	1	-
		ATM*– MER	2	-
		ATM – CAZ – CIP	1	-

*Sensível com exposição aumentada. Antimicrobianos: AMC - Amoxicilina+ácido clavulânico, ATM – Aztreonam, CAZ – Ceftazidima, CIP – Ciprofloxacina, CFO – cefoxitina, CPM – Cefepime, CTX – Cefotaxima, CRO – Ceftriaxona ERT – Ertapenem, GEN – Gentamicina, IMP – Imipenem, MER – meropenem, PPT – piperacilina+tazobactam. Freq. – frequência; pAmpC – AmpC plasmidial; KPC – *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*

Espécies de *Citrobacter, Enterobacter, Serratia e Providencia*, agrupadas no grupo CESP, são assim agrupadas por produzirem AmpC, uma betalactamase cromossômica induzível, capaz de hidrolisar cefalosporinas de terceira geração, penicilinas de amplo espectro e monobactâmicos, mas não são inibidas pelos inibidores de betalactamase, como o ácido

clavulânico. A expressão de AmpC cromossômica pode estar desreprimida em isolados com gene *ampC* cromossômico induzível, devido a mutações nos genes reguladores, resultando na hiperprodução de AmpC (JACOBY, 2009). Ou seja, espécies teoricamente sensíveis quando expostas a antimicrobianos que possam induzir a produção dessa enzima, assim o fazem, fazendo com que essas bactérias desenvolvam resistência durante o tratamento na clínica, e, consequentemente, resultando numa falha terapêutica. Portanto, é recomendado que todas as *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp., *Serratia* sp. e *Providencia* sp. sejam reportadas como resistente às cefalosporinas de terceira geração (LIVERMORE & BROWN, 2001).

Para além da enzima cromossômica, há também a possibilidade de genes de resistência serem transmitidos via plasmídeo (pAmpC), comumente encontradas em *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* (LIVERMORE; BROWN, 2001), mas também encontradas em isolados de *Escherichia coli, Salmonella* spp*., Citrobacter freundii, Enterobacter aerogenes* (SANTIAGO et al., 2016). São transferidas por elementos genéticos móveis, e constitutivas, ou seja, não são induzidas na presença de antimicrobianos indutores. AmpC codificadas por plasmídeos tem uma relação íntima com as enzimas determinadas cromossomicamente, pois, pAmpC carregam consigo genes que codificam outras resistências, como a aminoglicosídeos, quinolonas, bem como para outras betalactamases (JABOBY, 2009; ALVAREZ et al, 2004). No entanto, distinguir a produção de ESBL de uma AmpC plasmidial não é uma tarefa fácil pelo teste de sensibilidade aos antimicrobianos devido à ausência de métodos preconizados. A resistência à cefoxitina indica a possibilidade de resistência mediada por AmpC, mas também indica permeabilidade reduzida da membrana externa (PAI et al., 2004; LIVERMORE; BROWN, 2001). Segundo Livermore & Brown (2004), a maioria das *Enterobacter* sp. e *Citrobacter freundii*, apenas, podem ser reconhecidas resistentes à cefoxitina, mas susceptíveis as cefalosporinas de terceira geração, enquanto espécies sem níveis significativos de AmpC são susceptíveis ao antimicrobiano citado. Alternativamente, AmpC induzível pode ser reconhecida em teste de antagonismo de cefoxitina e ceftazidima. Já o BrCast (2022) preconiza que a diferenciação para AmpC plasmidial induzível seja feita através do disco aproximação entre ceftazidima e imipenem. Porém, testes genotípicos são a melhor alternativa para diferenciá-los, sendo PCR multiplex considerado padrão ouro (SANTIAGO et al., 2016).

Apesar do estudo de Amador et al. (2014), onde identificou 44% de seus isolados como produtores de AmpC, pode-se perceber que não há uma literatura que aprofunde na detecção dessa betalactamase em amostras ambientais. O rastreio da disseminação de patógenos resistentes em ambientes aquáticos, águas residuais e estações de tratamento é necessário até para se ter uma previsão de quais tipos de infecções a população está exposta e possíveis tratamentos. Além disso, o conhecimento sobre a disseminação de bactérias resistentes para que possamos pensar formas eficientes de minimizar o impacto desses patógenos no ambiente, uma vez que a transferência por elementos móveis pode ocorrer entre espécies de importância clínica, como alguns isolados deste trabalho, ou não-clínicas.

Klebsiella pneumoniae também apresentou fenótipos resistentes ao ertapenem, principalmente. Apesar da resistência adquirida aos carbapenêmicos em *Enterobacteriaceae* ser rara (WOODFORD et al., 2007), neste trabalho foi observada tanto em isolados de água quanto no solo, mais prevalente ao ertapenem, 6% e 5% respectivamente. A OMS (2017) classifica a família *Enterobacteriaceae* produtora de carbapenemase como nível crítico, devido os riscos que a disseminação de bactérias com esse perfil de resistência apresenta à saúde pública. Os carbapenêmicos são usados na clínica para tratar infecções causadas por bactérias Gram-negativa MDR e a aparição crescente de resistência a essa antimicrobiano restringe opções terapêuticas, ameaçando a saúde humana (YUAN et al., 2022; TILAHUN et al., 2021). Sua resistência pode ser mediada pela produção de carbapenemases do tipo KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*) e Metalo-betalactamase (YUAN et al., 2022; TILAHUN et al., 2021; WOODFORD et al., 2007), além de produção de ESBL e/ou AmpC com perda da porina

(enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos não-produtoras de carbapenemase – CP-CRE) (BOURLES et al., 2023).

Woodford e colaboradores (2007) realizaram uma pesquisa em um hospital do Reino Unido onde isolaram 95 cepas de *Klebsiella* sp. e 76 de *Enterobacter* sp. resistentes ao ertapenem. Eles identificaram um aumento na resistência ao ertapenem no país, onde supuseram que houve uma combinação de ESBL em *Klebsiella* sp. ou AmpC em *Enterobacter* sp., somado a impermeabilidade e/ou aumento de efluxo. Baseados na susceptibilidade ao ertapenem, Bourles e colaboradores (2023) realizaram um estudo com amostras clínicas e ambientais (efluentes de hospitais) e verificou em todas as amostras de efluentes hospitalares a presença de CP-CRE. Um estudo realizado em 2020 por Reinke e colaboradores procurou quantificar bactérias resistentes aos carbapenêmicos em águas residuais tratadas e não tratadas. As enterobactérias foram as mais abundantes e todas apresentaram resistência aos carbapenêmicos com as maiores concentrações obtidas no meio de ertapenem seguido por doripenem e meropenem.

A disseminação global de patógenos prioritários resistentes a antimicrobianos além do ambiente hospitalar é uma questão crítica dentro do contexto *One Health* que integra as interfaces homem-animal-ambiente. Os problemas de saúde de hoje são frequentemente complexos, transfronteiriços, multifatoriais e entre espécies, e se abordados de um ponto de vista puramente médico, veterinário ou ecológico, é improvável que estratégias sustentáveis de mitigação sejam produzidas(MACKENZIE&JEGGO, 2019)

5. CONCLUSÕES

Mesmo após o tratamento, as águas residuais apresentaram alta carga de coliformes totais e termotolerantes, indicando que estão impróprias para o uso na irrigação de culturas herbácea. Melhorias durante o processo devem ser implementadas para que a água seja utilizada de forma segura.

As águas e os solos apresentaram altos níveis de resistência à amoxicilina com ácido clavulânico e cefoxitina, resultado esperado uma vez que grande parte dos isolados são produtores naturais da betalactamase do tipo AmpC, que confere resistência a esses antimicrobianos. Com uma taxa menor, mas ainda alarmante, a resistência aos carbapenêmicos pôde ser observada em inúmeros isolados, inclusive em *Klebsiella pneumoniae*, uma bactéria de extrema importância clínica, isolada unicamente em amostras de água. *Klebsiella pneumoniae* foi a espécie que mais apresentou fenótipos de resistência diversos, incluindo a produção de AmpC plasmidial e KPC.

A busca da integração entre a saúde animal, saúde humana e saúde ambiental se faz necessário nesse cenário, uma vez que determinantes de resistência a antimicrobianos presentes em ambientes aquáticos e nos solos podem ser transferidos para bactérias patogênicas do homem e animal, o que pode aumentar o risco de falhas nos tratamentos, se tornando um problema de saúde pública.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL, Relatório Anual 2022. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2023/04/Relatorio-Anual-2023.pdf> Acessado em: 20 de maio de 2023.

ABRANTES, J. A.; NOGUEIRA, J. M. da R. Utilização de testes fenotípicos para a pesquisa de carbapenamases em enterobactérias: uma ferramenta para orientação clínica. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, vol. 49, no. 3, 2017. https://doi.org/10.21877/2448-3877.201700607.

ALLEN, H. K.; DONATO, J.; WANG, H. H.; CLOUD-HANSEN, K. A.; DAVIES, J.; HANDELSMAN, J. Call of the wild: Antibiotic resistance genes in natural environments. **Nature Reviews Microbiology**, 8, 251–259, 2010.

ALVAREZ, M.; JH TRAN, N. CHOW E GA JACOBY. Epidemiologia de AmpC β-lactamases mediadas por plasmídeo conjugado nos Estados Unidos. Antimicrobiano. **Agentes Chemother**. 48 : 533-537, 2004.

AMADOR, P. P.; FERNANDES, R. M.; PRUDÊNCIO, M. C.; BARRETO, M. P.; DUARTE, I. M. 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, Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering**, vol. 50, no. 1, p. 26–39, 2015.

AMBLER, R. P. The structure of β-lactamases. PhilosophicalTransactions of the Royal Society of London. B, **Biological Sciences**, v. 289, n. 1036, p. 321-331, 1980.

AMINOV, RUSTAM I. The role of antibiotics and antibiotic resistance in nature. **Environmental microbiology,** v. 11, n. 12, p. 2970-2988, 2009.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS E SANEAMENTO BÁSICO (ANA). Base Nacional de Usos da Água e as Resoluções ANA nº 92 e nº 93/2021. **Boletim do SNIRH, n.1, 2022**. Acessado em: 10 de março de 2023.

ANDRADE, L. N; DARINI, A. L. C. Bacilos gram-negativos produtores de beta-lactamases: que bla blabla é esse?. **Journal of Infection Control**, v. 6, n. 1, p. 16-25, 2017.

APHA; AWWA; WEF. Multiple-tube fermentation technique for members of the coliform group: standard total coliform fermentation technique. In: _____. Standard methods for the examination of water and wastewater: online. Washington, DC, c2017. Part 9221B. **Approvedby Standard Methods Committee**, 2014. Disponível em: <http://www.standardmethods.org/store>. Acesso em: dez. 2022

APHA; AWWA; WEF. Quality assurance/quality control. In: _____. Standard methods for the examination of water and wastewater: online. Washington, DC, c2017. Part 9020. **Approvedby Standard Methods Committee**, 2015.

ARSAND, J. B.; HOFF, R. B.; JANK, L.; BUSSAMARA, R.; DALLEGRAVE, A.; BENTO, F. M.; KMETZSCH, L.; FALÇÃO, D. A.; DO CARMO RUARO PERALBA, M.; DE ARAUJO GOMES, A.; PIZZOLATO, T. M. Presence of antibiotic resistance genes and its

association with antibiotic occurrence in Dilúvio River in southern Brazil. **The Science of the Total Environment**, vol. 738, p. 139781, 30 May 2020.

BADGLEY, B. D.; STEELE, M. K.; CAPPELLIN, C.; BURGER, J.; JIAN, J.; NEHER, T. P.; ORENTAS, M.; WAGNER, R. Fecal indicator dynamics at the watershed scale: Variable relationships with land use, season, and water chemistry. **The Science of the Total Environment**, vol. 697, p. 134113, 20 Dec. 2019.

BALKHAIR, K. S. Microbial contamination of vegetable crop and soil profile in arid regions under controlled application of domestic wastewater. **Saudi journal of biological sciences**, vol. 23, no. 1, p. S83-92, Jan. 2016. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.10.029.

BEZERRA, W. G. A.; HORN, R. H.; SILVA, I. N. G.; TEIXEIRA, R. S. C.; LOPES, E. S.; ALBUQUERQUE, Á.H. E CARDOSO, W.C. Antibióticos no setor avícola: uma revisão sobre a resistência microbiana. **Arquivos de zootecnia**, v. 66, n. 254, p. 301-307, 2017.

BLAIR, J. M. A.; WEBBER, M. A.; BAYLAY, A. J.; OGBOLU, D. O.; PIDDOCK, L. J. V. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature Reviews. Microbiology**, vol. 13, no. 1, p. 42–51, Jan. 2015. https://doi.org/10.1038/nrmicro3380.

BOURLES, A.; KAINIU, M.; UKEIWE, D.; BRUNET, N.; DESPAUX, C.; BIRON, A.; GOURINAT, A. C.; GOARANT, C.; COLOT, J. Ertapenem Supplemented Selective Media as a New Strategy to Distinguish β-Lactam-Resistant Enterobacterales: Application to Clinical and Wastewater Samples. **Antibiotics**, v. 12, n. 2, p. 392, 2023.

BRADFORD, P. A. Extended-spectrum β-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. **Clinical microbiology** reviews, v. 14, n. 4, p. 933-951, 2001.

BRAGA, M. B.; LIMA, C. E. P. (Ed.). Reuso de água na agricultura. Brasília: **Embrapa**, 2014.

BRASIL, Ministério Da Agricultura E Pecuária (MAPA). **Instrução Normativa GM nº 26, de 9 de julho de 2009.** Aprovar O Regulamento Técnico Para A Fabricação, O Controle De Qualidade, A Comercialização E O Emprego De Produtos Antimicrobianos De Uso Veterinário, na forma dos Anexos a presente Instrução Normativa. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil - Imprensa Nacional, 10 jul. 2009.

BRASIL, Ministério Da Agricultura E Pecuária (MAPA). **Instrução Normativa GM nº 45, de 22 de dezembro de 2016.** Proibir, em todo o território nacional, a importação e a fabricação da substância antimicrobiana sulfato de colistina, com a finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal, na forma desta Instrução Normativa. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil - Imprensa Nacional, 30 nov. 2016.

BRASIL, Ministério Da Agricultura E Pecuária (MAPA). **Instrução Normativa SDA nº 1, de 13 de janeiro de 2020.** Proibir, em todo território nacional, a importação, a fabricação, a comercialização e o uso de aditivos melhoradores de desempenho que contenham os antimicrobianos tilosina, lincomicina, e tiamulina, classificados como importantes na medicina humana, na forma desta Instrução Normativa. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil - Imprensa Nacional, p. 6, 23 jan. 2020.

BRASIL, Ministério Da Agricultura E Pecuária (MAPA)**. Instrução Normativa SDA nº 14, de 17 de maio de 2012.** Proibir em todo o território nacional a importação, fabricação e o uso das substâncias antimicrobianas espiramicina e eritromicina com finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil - Imprensa Nacional, 18 maio 2012.

BRASIL, Ministério Da Agricultura E Pecuária (MAPA). **Portaria GM nº 52, de 15 de março de 2021.** Estabelece o Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção e as listas de substâncias e práticas para o uso nos Sistemas Orgânicos de Produção. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil - Imprensa Nacional, 23 mar. 2021.

BRASIL, Ministério Da Agricultura E Pecuária (MAPA). **PORTARIA nº 171, de 13 de dezembro de 2018.** Informa sobre a intensão de proibição de uso de antimicrobianos com a finalidade de aditivos melhoradores de desempenho de alimentos e abre prazo manifestação. Diário Oficial da União, 19 dez. 2018.

BRASIL, Ministério Da Agricultura E Pecuária (MAPA)**. Portaria SDA nº 210, de 10 de novembro de 1998.** Aprovar o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil - Imprensa Nacional, 11 nov. 1998.

BRASIL. Ministério Da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Plano de ação nacional de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos no âmbito da saúde única 2018-2022 (PAN-BR) /** Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2018.

BRASIL, Ministério Da Saúde. Secretaria De Vigilância Em Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de Salmonella spp.: diagnóstico laboratorial do gênero Salmonella**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL, Ministério Da Saúde. **Portaria GM nº 36, de 19 de janeiro de 1990.** Aprovar, na forma do Anexo a esta Portaria, normas e o padrão de Potabilidade da Água destinada ao Consumo Humano, a serem observadas em todo o território nacional. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil - Imprensa Nacional, 23 jan. 1990.

BRASIL, Ministério Da Saúde. **Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021.** Procedimentos De Controle E De Vigilância Da Qualidade Da Água Para Consumo Humano E Seu Padrão De Potabilidade. [S. l.], 7 maio 2021.

BRASIL, Ministério Do Meio Ambiente. **Portaria CNHR nº 121, de 16 de dezembro de 2010.** Estabelece diretrizes e critérios para a prática de reúso direto não potável de água na modalidade agrícola e florestal, definida na Resolução CNRH no 54, de 28 de novembro de 2005. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil - Imprensa Nacional, 16 mar. 2011.

BRASIL, Ministério Do Meio Ambiente. **Portaria CONAMA 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: República Federativa do Brasil - Imprensa Nacional, 18 mar. 2005.

BRASIL, Ministério Do Meio Ambiente. **Portaria 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 Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil - Imprensa Nacional, 16 maio 2011.

BRASIL, Ministério Do Meio Ambiente. **Portaria CONAMA nº 481, de 3 de outubro de 2017.** Estabelece critérios e procedimentos para garantir o controle e a qualidade ambiental do processo de compostagem de resíduos orgânicos, e dá outras providências. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil - Imprensa Nacional, 4 out. 2017.

BRASIL, Ministério Do Meio Ambiente**. Resolução CONAMA nº 274, de 29 de novembro de 2000.** Classifica as águas doces, salobras e salinas e determina os limites e categorias de balneabilidade. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil - Imprensa Nacional, 8 jan. 2001.

BRASIL, Ministério Da Agricultura E Pecuária. **Resolução CONAMA nº 420, de 28 de dezembro de 2009.** Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. [S. l.]: República Federativa do Brasil - Imprensa Nacional, 30 dez. 2009.

BRASIL, Ministério Do Meio Ambiente. **Resolução CNRH nº 54, de 28 de novembro de 2005.** Estabelece modalidades, diretrizes e critérios gerais para a prática de reuso direto não potável de água, e dá outras providências. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil - Imprensa Nacional, 9 mar. 2006.

BRAZILIAN COMMITTEE FOR ANTIMICROBIAL SENSITIVITY TESTS (BrCAST). 2022. **EUCAST Guidelines for the detection of specific resistance mechanisms and resistances of clinical and/or epidemiological importance.** Disponível em: < http://brcast.org.br/documentos/ >. Acesso 10 de fevereiro de 2022.

BRENNER, D. J.; FARMER III, J. J. Enterobacteriaceae. **Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria**, p. 1-24, 2015.

BRISSE, S.; GRIMONT, F.; GRIMONT, P. A. D. Prokaryotes. **Journal of Chemical Information and Modeling** vol. 53, 2006.

BUSH, K. Past and present perspectives on β-lactamases. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 62, n. 10, 2018.

BUSH, K.; BRADFORD; PATRICIA, A. Epidemiology of β-lactamase-producing pathogens. **Clinical microbiology reviews**, v. 33, n. 2, p. e00047-19, 2020.

BUSH, K.; JACOBY, G. A. Updated functional classification of β-lactamases. **Antimicrobial Agents Chemother**, v. 54, n. 3, p. 969-976, 2010.

CARDOSO, E. J. B. N. ; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do Solo.** 2016.

CARVALHO, A. C. F. B.; CORTEZ, A. L. L.; SALOTTI, B. M.; BÜRGER, K. P.; VIDAL-MARTINS, A. M. C. Presença de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas. **Arquivos do Instituto Biológico**, 72, 303-307, 2005.

CDC, Antibiotic Resistance Threats in the United States, U.S. **Department of Health and Human Services,** CDC, Atlanta, GA, USA, 2019.

CHEN, H.; BAI, X.; JING, L.; CHEN, R.; TENG, Y. Characterization of antibiotic resistance genes in the sediments of an urban river revealed by comparative metagenomics analysis. **Science of the Total Environment**, v.653, p.1513-1521, 2019. DOI: v.653, p.1513-1521, 2019.

COMPANHIA, DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). Apêndice E-Significado Ambiental e Sanitário das Variáveis de Qualidade das Águas e dos Sedimentos e Metodologias Analíticas e de Amostragem. 2019.

DA COSTA, A. L. P.; JUNIOR, A. C. S. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP),** v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.

DAVIN-REGLI, A.; LAVIGNE, J. P.; PAGÈS, J. M. Enterobacter spp.: update on taxonomy, clinical aspects, and emerging antimicrobial resistance. **Clinical microbiology reviews**, v. 32, n. 4, p. e00002-19, 2019.

De SÁ, M. F. **Dinâmica da população de coliformes após a aplicação de dejetos de suínos no solo e durante a sua compostagem automatizada.** 2012. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul. 2012.

DOI, Y.; PATERSON, D. L. Carbapenemase-producing enterobacteriaceae. **In: Seminars in respiratory and criticalcare medicine**. Thieme Medical Publishers, p. 074-084, 2015.

ECDC, EFSA. EMEA and SCENIHR (European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority, European Medicines Agency and European Commission's Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks), 2009. **Joint Opinion on antimicrobial resistance (AMR) focused on zoonotic infections. EFSA Journal**, v. 7, n. 11, p. 1372, 2009.

EMATER-RIO. **RELATÓRIO DE PEQUENOS E MÉDIOS ANIMAIS ANO 2020**. Anual. Disponível em: http://www.emater.rj.gov.br/areaTecnica/pequenosemediosanimais2020.pdf. Acesso em: 8 de fevereiro de 2022.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos.** Brasília: Embrapa -SPI; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306p.

ESPÍNDOLA, C. J. Trajetórias do progresso técnico na cadeia produtiva de carne de frango do Brasil. **Geosul**, v. 27, n. 53, p. 89-114, 2012.

FARHADKHANI, M.; NIKAEEN, M.; YADEGARFAR, G.; HATAMZADEH, M.; POURMOHAMMADBAGHER, H.; SAHBAEI, Z.; RAHMANI, H. R. Effects of irrigation with secondary treated wastewater on physicochemical and microbial properties of soil and

produce safety in a semi-arid area. **Water Research**, vol. 144, p. 356–364, 1 Nov. 2018. https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.07.047.

FARIAS, L. R.; VITAL, M. J. S.; CORREA, A. P. F.; RISS, J. S. P.; TORMENTE, F. V. Perfil de susceptibilidade das bactérias na microbacia do Rio Branco, Roraima, extremo Norte da Amazônia. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, vol. 12, no. 10, p. 428–442, 20 Oct. 2021. https://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2021.010.0034.

FERREIRA, P. F. A.; XAVIER, J. F.; NUNES, J. F.; FONSECA, I. P.; COELHO, S. M. O.; SOUZA, M. M S.; COELHO, I. S. Bacteria and antimicrobial resistance profile during the composting process of wastesfrom animal production. **Brazilian Journal of Microbiology**, p. 1-11, 2023.

FORSYTHE, S. J. Microbiologia da Segurança dos Alimentos. 2ª edição ed.[s.l.] **Artmed**, 2013.

GATICA, J.; CYTRYN, E. Impact of treated wastewater irrigation on antibiotic resistance in the soil microbiome. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, p. 3529-3538, 2013.

GREGÓRIO, M. G.; BRITO, A. N. S. L.; OLIVEIRA, A. G.; MASCARENHAS, N. M. H.; PAIVA, F. J. S.; NETO, M. S. M.; SILVA, L. P. F. R.; SILVA, S. M. Fatores que influenciam na qualidade da carne de frango: uma breve revisão. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, 2020

GUIMARÃES, D.O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, p. 667-679, 2010.

HAAPAPURO, E. R.; BARNARD, N. D.; SIMON, M. Animal waste used as livestock feed dangers to human health**. Preventive medicine**, v. 26, n. 5, p. 599 602, 1997.

HELMS M.; VASTRUP, P.; GERNER-SMIDT, P., MOLBAK, K. Excess mortality associated with antimicrobial drug-resistant Salmonella Typhimurium. **Emerging Infectious Diseases.** V. 8, n. 5, p. 490–495, 2002.

HOMEIER-BACHMANN, T.; HEIDEN S. E.; LÜBCKE, P. K.; BACHMANN, L.; BOHNERT, J.A.; ZIMMERMANN, D.; SCHAUFLER, K. Antibiotic-Resistant Enterobacteriaceae in Wastewater of Abattoirs. **Antibiotics**, v.10, n.5, p.568, 2021.

HORII, T.; MURAMATSU, H.; IINUMA, Y. Mechanisms of resistance to fluoroquinolones and carbapenems in Pseudomonas putida. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy,** v. 56, n. 4, p. 643-647, 2005.

HUGAS, M.; BELOEIL, P. A. Controlling *Salmonella* along the food chain in the European Union - Progress over the last tem years. **Euro surveillance**, v. 19, n. 19, p. 1 4, 2014.

ISO 19250 - International Organization for Standardization. Water quality: Detection of Salmonella spp., 2010.

JABOBY, G. A. AmpC beta-lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 22, n. 1, p, 161-182, 2009.

JUBAIR, N.; RAJAGOPAL, M.; CHINNAPPAN, S.; ABDULLAH, N. B.; FATIMA, A. Review on the antibacterial mechanism of plant-derived compounds against multidrug-resistant bacteria (MDR). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine,** v. 2021, 2021.

KHALID, S.; SHAHID, M.; NATASHA; BIBI, I.; SARWAR, T.; SHAH, A. H.; NIAZI, N. K. A Review of Environmental Contamination and Health Risk Assessment of Wastewater Use for Crop Irrigation with a Focus on Low and High-Income Countries. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, vol. 15, no. 5, 1 May 2018.

KIM, S. E.; PARK, S.-H.; PARK, H. B.; PARK, K.-H.; KIM, S.-H.; JUNG, S.-I.; SHIN, J.-H.; JANG, H.-C.; KANG, S. J. Nosocomial Pseudomonas putida Bacteremia: High Rates of Carbapenem Resistance and Mortality. **Chonnam medical journal**, vol. 48, no. 2, p. 91–95, 2012.

LIEBANA, E.; CARATTOLI, A.; COQUE, T. M.; HASMAN, H.; MAGIORAKOS, A.-P.; MEVIUS, D.; PEIXE, L.; POIREL, L.; SCHUEPBACH-REGULA, G.; TORNEKE, K.; TORREN-EDO, J.; TORRES, C.; THRELFALL, J. Public health risks of enterobacterial isolates producing extended-spectrum β-lactamases or AmpC β-lactamases in food and food-producing animals: an EU perspective of epidemiology, analytical methods, risk factors, and control options. **Clinical Infectious Diseases**, vol. 56, no. 7, p. 1030–1037, 2013.

LIVERMORE, D. M. Minimising antibiotic resistance. **The Lancet infectiousdiseases**, v. 5, n. 7, p. 450-459, 2005.

LIVERMORE, D. M.; BROWN, D. F. J. Detection of β-lactamase-mediated resistance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, n. suppl_1, p. 59–64, 2001.

MACKENZIE, J. S.; JEGGO, M. The One Health approach—Why is it so important?. **Tropical medicine and infectious disease**, v. 4, n. 2, p. 88, 2019.

MADIGAN, T. M.; MARTINKO, M. J.; BENDER, S. K.; BUCKLEY, H. D.; STAHL, A. D. **Microbiologia de Brock**, 14ª edição. Editora Artmed, 2016.

MARTIN, G. **Comportamento de Salmonella em ovo em pó em função da Atividade de Água (Aa) e do binômio Tempo x Temperatura de Armazenamento.** 2005. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, São Paulo. 2005.

MARTÍNEZ, J. L. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. **Science**, v. 321, n. 5887, p. 365-367, 2008.

MATTOS, M. L. T. **Microbiologia do solo**. 2015.

MEDINA-PIZZALI, M. L.; HARTINGER, S. M.; SALMON-MULANOVICH, G.; LARSON, A.; RIVEROS, M.; MÄUSEZAHL, D. Antimicrobial Resistance in Rural Settings in Latin America: A Scoping Review with a One Health Lens. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, vol. 18, no. 18, 2021.

MEINI, S.; TASCINI, C.; CEI, M.; SOZIO, E.; ROSSOLINI, G. M. AmpC β-lactamase-producing Enterobacterales: what a clinician should know. **Infection**, vol. 47, no. 3, p. 363–375, 2019.

MENEGASSI, L. C. **Aspectos agronômicos do cultivo do capim-coast cross irrigado com efluente tratado de abatedouro**. 2018. 71 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", [*S. l.*], 2018.

MESAROS, N.; NORDMANN, P.; PLÉSIAT, P.; ROUSSEL-DELVALLEZ, M.; VAN ELDERE, J.; GLUPCZYNSKI, Y.; VAN LAETHEM, Y.; JACOBS, F.; LEBECQUE, P.; MALFROOT, A.; TULKENS, P. M.; VAN BAMBEKE, F. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. **Clinical Microbiology and Infection**, vol. 13, no. 6, p. 560–578, 2007.

MORAIS, M. A; NETO, M. F.; SILVA, G. F.; DE LIRA, R. B.; DE BRITO, R. F.; MIGUEL, L. C. Contaminação microbiológica no perfil do solo por águas residuárias. **HOLOS**, v. 3, p. 76–83, 2016.

MOTA, F. S.; OLIVEIRA, H. A.; SOUTO, R. C. F. Perfil e prevalência de resistência aos antimicrobianos de bactérias Gram-negativas isoladas de pacientes de uma unidade de terapia intensiva. **RBAC**, v. 50, n. 3, p. 270-277, 2018.

MURRAY, A. K.; ZHANG, L.; SNAPE, J.; GAZE, W. H. Comparing the selective and co-selective effects of different antimicrobials in bacterial communities. **International Journal of Antimicrobial Agents**, vol. 53, no. 6, p. 767–773, 2019.

O'NEILL, J. Review on AMR. Antimicrobial resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations. December, 2014. 2017.

O'NEILL, J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. 2016.

OAKLEY, B. B.; LILLEHOJ, H. S.; KOGUT, M. H.; KIM, W. K.; MAURER, J. J.; PEDROSO, A.; LEE, M. D.; COLLET, S. R.; JOHNSON, T. J.; COX, N. A. The chicken gastrointestinal microbiome. **FEMS Microbiology Letters**, v. 360, n. 2, p. 100 112, 2014.

OLIVEIRA, W. F. **Isolamento e tipificação de Salmonella da cadeia produtiva de frango de corte da Região Metropolitana de Fortaleza-CE.** 2004. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza. 2004.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (ONU). **Relatório mundial das Nações Unidas sobre desenvolvimento dos recursos hídricos - Soluções baseadas na natureza para a gestão da água**, 2018.

PAI, H.; KANG, C.-I.; BYEON, J.-H.; LEE, K.-D.; PARK, W. B.; KIM, H.-B.; KIM, E.-C.; OH, M.-D.; CHOE, K.-W. Epidemiology and clinical features of bloodstream infections caused by AmpC-type-beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, vol. 48, no. 10, p. 3720–3728, Oct. 2004.

PANDOLFI, J. R. C.; MOTA, S. C. A. O futuro da avicultura comercial no cenário de retirada de antimicrobianos como melhoradores de desempenho. 2020.

PARENTE, C. E. T.; AZEREDO, A.; VOLLÚ, R. E.; ZONTA, E.; AZEVEDO-SILVA, C. E.; BRITO, E. M. S.; SELDIN, L.; TORRES, J. P. M.; MEIRE, R. O.; MALM, O. Fluoroquinolones in agricultural soils: Multi-temporal variation and risks in Rio de Janeiro upland region. **Chemosphere**, vol. 219, p. 409–417, Mar. 2019. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.184.

PARENTE, C. E. T.; BRITO, E. M. S.; CARETTA, C. A.; CERVANTES-RODRÍGUEZ, E. A.; FÁBILA-CANTO, A. P.; VOLLÚ, R. E.; SELDIN, L.; MALM, O. Bacterial diversity changes in agricultural soils influenced by poultry litter fertilization. **Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]**, vol. 52, no. 2, p. 675–686, 2021.

PATERSON, D. L.; BONOMO, R. A. Extended-spectrum β-lactamases: a clinical update. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, n. 4, p. 657-686, 2005.

PERESI, J. T. M.; DE ALMEIDA, I. A. Z. C.; DE CARVALHO TEIXEIRA, I. S.; DE LIMA, S.; ALVES, E. C.; MARQUES, D. F.; RIBEIRO, A. K. *Pseudomonas aeruginosa*: ocorrência e suscetibilidade aos agentes antimicrobianos de isolados de amostras de água tratada utilizada em solução de diálise. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, n. 4, p. 542-547, 2011.

POBLETE-CASTRO, I.; BORRERO-DE ACUÑA, J. M.; NIKEL, P. I.; KOHLSTEDT, M.; WITTMANN, C. Host organism: *Pseudomonas putida***. Industrial Biotechnology: Microorganisms**, v. 1, p. 299-326, 2017.

PREFEITURA MUNICIPAL DE SÃO JOSÉ DO VALE DO RIO PRETO. **Informações sobre a cidade.** Disponível em: <https://www.sjvriopreto.rj.gov.br/pagina/id/3/?dados-do-municipio.html> Acesso em 21 de maio de 2023.

PRÜS-ÜSTÜN, A.; WOLF, J.; BARTRAM, J.; CLASEN, T.; CUMMING, O.; FREEMAN, M.; GORDON, B.; HUNTER, P. R.; MEDLICOTT, K.; JOHNSTON, R. Burden of Disease from inadequate water, sanitation and hygiene for selected adverse health outcomes: Na updated analysis with a focus on low- and middle-income countries. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, Vol. 222, No. 5, pp. 765–777. 2019.

RAMIREZ, D.; GIRON, M. *Enterobacter* infections. In: **StatPearls [Internet]**. Stat Pearls Publishing, (2022). Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559296/> Acesso em: 01 de abril de 2023.

REINKE, R. A.; QUACH-CU, J.; ALLISON, N.; LYNCH, B.; CRISOSTOMO, C.; PADILLA, M. A method to quantify viable carbapenem resistant gram-negative bacteria in treated and untreated wastewater. **Journal of Microbiological Methods**, , p. 106070, 2020.

ROCHA, J.; HENRIQUES, I.; GOMILA, M.; MANAIA, C. M. Common and distinctive genomic features of *Klebsiella pneumoniae* thriving in the natural environment or in clinical settings. **Scientific Reports**, vol. 12, no. 1, p. 10441, 2022.

ROGERS, L.; POWER, K.; GAORA, P. Ó.; FANNING, S. *Escherichia coli* and Other Enterobacteriaceae: Occurrence and Detection. **Encyclopedia of food and health**. [*S. l.*]: Elsevier, p. 545–551, 2016.

ROSTAGNO, M. H. Impacto da restrição de antimicrobianos na indústria avícola. **XII Simpósio Brasil Sul de Avicultura e III Brasil Sul poultry Fair. Ghapecó, Santa Catarina**, p. 121-132, 2011.

SAMPAIO, C. A. D. P.; IDE, G. M.; BATALHA, C. P.; PEREIRA, L. C.; BUENO, L. F. Análise técnica de água de fontes rurais. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 24, p. 213-217, 2019.

SANT'ANNA, G. S. L.; CUNHA, J. M. F. da; NUNES, J. F.; AVILA, I. A. F.; GONÇALVES, J. V. da S.; FERREIRA, P. F. A.; SOUZA, M. M. S. de; COELHO, S. de M. de O.; COELHO, I. da S. Antimicrobial resistance genes and bacterial diversity in sediments of Guandu River, Brazil. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, vol. 12, no. 4, p. 116–123, 2021.

SANTIAGO, G. S.; DA MOTTA, C. C.; BRONZATO, G. F.; GONÇALVES, D.; DE SOUZA, M. M. S.; COELHO, I. da S.; FERREIRA, H. N.; COELHO, S. de M. de O. A Review: AmpC β-lactamase production in Enterobacteriaceae. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, *[S. l.]*, v. 38, n. Supl. 3, p. 17–30, 2016. Disponível em: https://bjvm.org.br/BJVM/article/view/876. Acesso em: 15 de março. 2023.

SANTOS, M. A. A. dos; SCHMIDT, V.; BITENCOURT, V. C.; MAROSO, M. T. D. Esterqueiras: avaliação físico-química e microbiológica do dejeto suíno armazenado. **Engenharia Agrícola**, vol. 27, no. 2, p. 537–543, 2007.

SAVIN, M.; ALEXANDER, J.; BIERBAUM, G.; HAMMERL, J. A.; HEMBACH, N.; SCHWARTZ, T.; SCHMITHAUSEN, R.; SIB, E.; VOIGT, A.; KREYENSCHMIDT, J. Antibiotic-resistant bacteria, antibiotic resistance genes, and antibiotic residues in wastewater from a poultry slaughter house after conventional and advanced treatments. **Scientific Reports**, v.11, n.16622. 2021.

SAVIN, M.; BIERBAUM, G.; BLAU, K.; PARCINA, M.; SIB, E.; SMALLA, K.; SCHMITHAUSEN, R.; HEINEMANN, C.; HAMMERL, J. A.; KREYENSCHMIDT, J. Colistin-Resistant Enterobacteriaceae Isolated From Process Waters and Wastewater From German Poultry and Pig Slaughter houses. **Frontiers Microbiology**, v.11, n.575391. 2020.

SCHMIDT, N. S.; SILVA, C. L. da. Pesquisa e desenvolvimento na cadeia produtiva de frangos de corte no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 56, p. 467-482, 2018.

SHTULL-TRAURING, E.; COHEN, A.; BEN-HUR, M.; ISRAELI, M.; BERNSTEIN, N. NPK in treated wastewater irrigation: Regional scale indices to minimize environmental pollution and optimize crop nutritional supply. **The Science of the Total Environment**, vol. 806, no. Pt 1, p. 150387, 1 Feb. 2022. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150387.

TAKESHITA, N.; WATANABE, T.; ISHIDA-KUROKI, K.; SEKIZAKI, T. Transition of microbiota in Chicken cecal droppings from commercial broiler farms. **BMC Veterinary Research**, v. 17, n. 1, p. 1-11, 2021.

TAMMA, P. D.; DOI, Y.; BONOMO, R. A.; JOHNSON, J. K.; SIMNER, P. J.; ANTIBACTERIAL RESISTANCE LEADERSHIP GROUP. A Primer on AmpC β-Lactamases: Necessary Knowledge for an Increasingly Multidrug-resistant World. **Clinical Infectious Diseases**, vol. 69, no. 8, p. 1446–1455, 2019.

TAYLOR, N. G. H.; VERNER-JEFFREYS, D. W.; BAKER-AUSTIN, C. Aquatic systems: maintaining, mixing and mobilising antimicrobial resistance? **Trends in Ecology & Evolution**, vol. 26, no. 6, p. 278–284, 2011.

TILAHUN, M.; KASSA, Y.; GEDEFIE, A.; ASHAGIRE, M. Emerging Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infection, Its Epidemiology and Novel Treatment Options: A Review. **Infection and drug resistance**, vol. 14, p. 4363–4374, 2021.

UNESCO, World Water Assessment Programme. O Valor da Água. Fatos e Dados. **In: Relatório Mundial das Nações Unidas sobre Desenvolvimento dos Recursos Hídricos 202,** 2021. Disponível em: <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000375751_por> Acesso em: 8 de fevereiro de 2022.

VALENTIM, J. K.; RODRIGUES, R. F. M.; BITTENCOURT, T. M.; RESENDE, G. A. Implicações sobre o uso de promotores de crescimento na dieta de frangos de corte. **Nutritime Revista on-line**, Viçosa, v. 15, n. 04, p. 8191-8199, 1 ago. 2018. Disponível em: http://www.nutritime.com.br. Acesso em: 12 mar. 2023.

VASCONCELOS, C. V. **Caracterização e tratamento do composto orgânico de resíduos urbanos de Belo Horizonte-MG para a utilização em ações de Agricultura Urbana.** 2019. 62 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura orgânica) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2019

VIOLA, E. S.; VIOLA, T. H.; LIMA, G. J. M. M. de; AVILA, V. S de. Água na avicultura: importância, qualidade e exigências: manejo ambiental na avicultura. **Concórdia: EMBRAPA**, p. 149, 2011

VOLKE, D. C.; CALERO, P.; NIKEL, P. I. Pseudomonas putida. **Trends in Microbiology**, vol. 28, no. 6, p. 512–513, 2020.

WEIMER, A.; KOHLSTEDT, M.; VOLKE, D. C.; NIKEL, P. I.; WITTMANN, C. Industrial biotechnology of *Pseudomonas putida*: advances and prospects**. Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, p. 7745-7766, 2020.

WOODFORD, N.; DALLOW, J. W. T.; HILL, R. L. R.; PAPELOU, M. F. I.; PIKE, R.; WARD, M. E; WARNER, M.; LIVERMORE, D. M. Ertapenem resistance among *Klebsiella* and *Enterobacter* submitted in the UK to a reference laboratory. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 29, n. 4, p. 456–459, 1 abr. 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial resistance global report on surveillance: 2014 summary**. World Health Organization, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **OMS publica lista de bactérias para as quais se necessitam novos antibióticos urgentemente (2017).** Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5357:oms-

publica-lista-de-bacterias para-as-quais-se-necessitam-novos-antibioticos-urgentemente&Itemid=812. Acesso em: 01 de fevereiro de 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO report on surveillance of antibiotic consumption: 2016-2018 early implementation**. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Critically Important Antimicrobials for Human Medicine: Ranking of Medically Important Antimicrobials for Risk Management of Antimicrobial Resistance dueto Non-Human Use**. Geneva, 2019.

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH. PartnershiptoAddressHuman-Animal-Environment Health RisksGets a Boost; **OIE—World Organisation for Animal Health n.d**.: Paris, France, 2018.

WRIGHT, G. D. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. **Nature Reviews Microbiology**, v. 5, n. 3, p. 175-186, 2007.

YUAN, P. B.; LING, J. H.; ZHU, J. H.; PENG, C.; CHEN, E. Z.; ZHONG, Y. X; LIU, W. T.; WANG, L. J.; YANG, L. Proteomics profiling of ertapenem challenged major porin deficiente carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. **Journal of Proteomics**, v. 268, p. 104715, 30 set. 2022.

ZHONG, C.; ZHOU, Y.; FU, J.; QI, X.; WANG, Z.; LI, J.; ZHANG, P.; ZONG, G.; CAO, G. Cadmium stress efficiently enhanced meropenem degradation by the meropenem- and cadmium-resistant strain Pseudomonas putida R51. **Journal of hazardous materials**, vol. 429, p. 128354, 5 May 2022. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128354.

7. ANEXOS

Anexo A. Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais e Termotolerantes da Água (continua)

Coleta	Origem	Diluição	Caldo Lauril	Coliformes totais	Coliformes termotolerantes
Primeira coleta	Córrego	-1	5	5	5
		-2	5	5	3
		-3	1	1	0
		-4	1	1	0
		-5	0	0	0
	Efluente bruto	-6	5	5	5
		-7	5	5	4
		-8	0	0	0
		-9	0	0	0
		-10	0	0	0
	Efluente tratado	-3	5	5	5
		-4	5	5	5
		-5	4	4	2
		-6	2	2	1
		-7	0	0	0
Segunda coleta	Córrego	-1	3	3	3
		-2	1	0	0
		-3	0	0	0
		-4	0	0	0
		-5	0	0	0
	Efluente bruto	-5	5	5	5
		-6	1	1	1
		-7	0	0	0
		-8	0	0	0
		-9	0	0	0
	Efluente tratado	-1	5	5	0
		-2	5	5	0
		-3	5	5	0
		-4	4	4	0
		-5	1	0	0
		-6	0	--	--
		-7	0	--	--
		-8	0	--	--

Anexo A. Continuação

Terceira coleta	Córrego	-1	4	4	2
		-2	0	0	0
		-3	0	0	0
		-4	0	0	0
		-5	0	0	0
	Efluente bruto	-5	5	5	0
		-6	5	5	0
		-7	5	5	0
		-8	1	1	0
		-9	1	1	0
		-10	0	--	--
	Efluente tratado	-6	5	5	3
		-7	1	0	1
		-8	0	0	0
		-9	0	0	0
		-10	0	0	0

Anexo B. Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais e Termotolerantes dos Solos (continua)

Origem	Diluição	Caldo Lauril	Coliformes totais	Coliformes termotolerantes
A1	-3	5	5	0
	-4	0	0	0
	-5	0	0	0
A2	-3	2	2	0
	-4	0	0	0
	-5	0	0	0
A3	-3	0	0	0
	-4	0	0	0
	-5	0	0	0
B1	-3	5	5	0
	-4	4	4	0
	-5	1	1	0
B2	-3	5	5	0
	-4	4	4	0
	-5	0	0	0

Anexo B. Continuação

B3	-3	5	5	0
	-4	5	5	0
	-5	4	3	0
C1	-3	5	5	0
	-4	5	5	0
	-5	5	5	0
C2	-3	5	5	0
	-4	5	5	0
	-5	5	5	0
C3	-3	4	5	0
	-4	5	4	0
	-5	2	2	0

A1, A2, A3 – Área de Floresta
B1, B2, B3 – Área a montante do abatedouro
C1, C2, C3 – Área a jusante do abatedouro

Anexo C. Identificação das espécies bacterianas da Água pela técnica de MALDI-TOF (continua)

Analyte ID	Organism (best match)	Score Value
11	*Klebsiella oxytoca*	2,37
14	*Serratia marcescens*	2,25
19	*Klebsiella pneumoniae*	2,08
20	*Klebsiella pneumoniae*	2,19
22	*Klebsiella pneumoniae*	2,21
23	*Citrobacter braakii*	2,21
24	*Klebsiella pneumoniae*	2,19
26	*Enterobacter bugandensis*	2,42
28	*Klebsiella pneumoniae*	2,28
32	*Klebsiella pneumoniae*	2,40
33	*Citrobacter freundii*	2,32
46	*Enterobacter bugandensis*	2,30
47	*Enterobacter asburiae*	2,13
49	*Klebsiella pneumoniae*	2,23
53	*Serratia marcescens*	2,33
54	*Serratia marcescens*	2,22
47	*Enterobacter asburiae*	2,25

Anexo C. Continuação

64	*Enterobacter bugandensis*	2,12
66	*Klebsiella variicola*	2,21
70	*Klebsiella pneumoniae*	2,07
71	*Enterobacter bugandensis*	2,13
73	*Klebsiella pneumoniae*	2,19
74	*Klebsiella pneumoniae*	2,16
75	*Enterobacter bugandensis*	2,20
78	*Klebsiella pneumoniae*	2,05
98	*Enterobacter bugandensis*	2,08
99	*Klebsiella pneumoniae*	2,52
100	*Klebsiella pneumoniae*	2,12
105	*Enterobacter bugandensis*	2,03
113	*Klebsiella pneumoniae*	1,87
119	*Enterobacter cloacae*	1,80
123	*Klebsiella pneumoniae*	2,11
128	*Klebsiella pneumoniae*	2,19
137	*Klebsiella pneumoniae*	1,78
143	*Klebsiella pneumoniae*	2,33
163	*Klebsiella pneumoniae*	2,43
164	*Enterobacter asburiae*	2,38
164	*Enterobacter asburiae*	2,05
166	*Citrobacter braakii*	2,09
167	*Enterobacter bugandensis*	2,05
169	*Enterobacter bugandensis*	2,52
175	*Klebsiella pneumoniae*	2,50
180	*Klebsiella pneumoniae*	2,17
187	*Klebsiella pneumoniae*	2,40
188	*Klebsiella pneumoniae*	2,29
189	*Klebsiella pneumoniae*	2,16
190	*Klebsiella pneumoniae*	2,39
192	*Citrobacter braakii*	2,32
194	*Citrobacter freundii*	2,43
200	*Serratia nematodiphila*	2,35
205	*Enterobacter bugandensis*	2,53
209	*Pseudomonas aeruginosa*	2,33
210	*Pseudomonas aeruginosa*	2,08
118j	*Pseudomonas aeruginosa*	2,04
121	*Klebsiella pneumoniae*	2,21

Anexo C. Continuação

124j	*Serratia nematodiphila*	2,39
129j	*Klebsiella pneumoniae*	2,37
130j	*Klebsiella pneumoniae*	2,21
148j	*Citrobacter freundii*	2,06
156j	*Citrobacter freundii*	2,10
157j	*Citrobacter freundii*	2,01
212	*Citrobacter braakii*	2,21
220	*Pseudomonas aeruginosa*	2,07
221	*Pseudomonas aeruginosa*	2,03
222	*Enterobacter cloacae*	2,01
225	*Enterobacter cloacae*	2,10
230	*Pseudomonas aeruginosa*	2,15
231	*Pseudomonas aeruginosa*	2,23
238	*Citrobacter freundii*	2,20
240	*Klebsiella pneumoniae*	2,37
251	*Klebsiella pneumoniae*	2,16
253	*Klebsiella pneumoniae*	2,17
256	*Klebsiella pneumoniae*	2,26
266	*Citrobacter sedlakii*	2,26
273	*Citrobacter sedlakii*	2,12
241	*Pseudomonas otitidis*	1,91

Anexo D. Identificação das espécies bacterianas de Solo pela técnica de MALDI-TOF (continua)

Analyte ID	**Organism (best match)**	**Score Value**
1	*Klebsiella aerogenes*	2,06
2	*Enterobacter kobei*	2,13
3	*Klebsiella aerogenes*	2,27
4	*Enterobacter bugandensis*	2,14
5	*Serratia marcescens*	1,80
6	*Enterobacter bugandensis*	2,21
7	*Klebsiella aerogenes*	2,25
8	*Klebsiella aerogenes*	2,17
9	*Klebsiella aerogenes*	2,17
10	*Enterobacter bugandensis*	1,98
11	*Klebsiella aerogenes*	2,00
12	*Serratia nematodiphila*	1,98

Anexo D. Continuação

13	*Enterobacter bugandensis*	2,17
14	*Enterobacter asburiae*	2,29
15	*Serratia nematodiphila*	2,06
16	*Enterobacter asburiae*	2,24
17	*Enterobacter roggenkampii*	1,90
18	*Serratia marcescens*	1,86
19	*Citrobacter freundii*	2,16
20	*Enterobacter bugandensis*	2,19
21	*Serratia marcescens*	2,11
22	*Serratia marcescens*	2,02
23	*Enterobacter bugandensis*	2,19
24	*Enterobacter asburiae*	2,27
25	*Enterobacter bugandensis*	2,23
26	*Enterobacter bugandensis*	2,14
27	*Citrobacter gillenii*	2,17
28	*Enterobacter asburiae*	2,21
29	*Enterobacter bugandensis*	2,06
30	*Serratia marcescens*	2,36
31	*Enterobacter bugandensis*	2,01
32	*Serratia nematodiphila*	2,25
33	*Pseudomonas stutzeri*	2,26
34	*Pseudomonas stutzeri*	2,26
35	*Enterobacter roggenkampii*	2,36
36	*Serratia marcescens*	2,15
37	*Enterobacter roggenkampii*	2,12
38	*Enterobacter asburiae*	2,22
39	*Enterobacter bugandensis*	2,15
40	*Enterobacter bugandensis*	2,03
41	*Enterobacter ludwigii*	2,32
42	*Enterobacter ludwigii*	2,32
43	*Pseudomonas stutzeri*	2,24
44	*Citrobacter braakii*	2,23
45	*Enterobacter bugandensis*	2,20
46	*Citrobacter braakii*	2,18
47	*Enterobacter asburiae*	2,13
48	*Enterobacter bugandensis*	2,11

Anexo D. Continuação

49	*Citrobacter freundii*	2,34
50	*Citrobacter freundii*	2,33
51	*Enterobacter bugandensis*	2,36
52	*Citrobacter freundii*	2,27
53	*Pseudomonas putida*	2,13
54	*Pseudomonas monteilii*	2,02
55	*Enterobacter roggenkampii*	2,22
57	*Enterobacter asburiae*	2,26
58	*Enterobacter bugandensis*	2,18
59	*Enterobacter bugandensis*	2,06
60	*Citrobacter freundii*	2,09
61	*Enterobacter bugandensis*	2,11
62	*Enterobacter bugandensis*	2,23
63	*Enterobacter asburiae*	2,14
64	*Pseudomonas putida*	1,87
65	*Citrobacter braakii*	2,25
66	*Citrobacter freundii*	2,20
67	*Enterobacter asburiae*	2,24
69	*Citrobacter braakii*	1,81
70	*Enterobacter bugandensis*	1,97
71	*Citrobacter freundii*	1,95
72	*Citrobacter braakii*	2,31
73	*Pseudomonas putida*	1,80
74	*Citrobacter freundii*	2,04
75	*Pseudomonas putida*	1,85
76	*Citrobacter freundii*	2,19
77	*Pseudomonas putida*	1,98
78	*Citrobacter braakii*	2,21
79	*Enterobacter bugandensis*	2,32
81	*Citrobacter freundii*	2,17
82	*Enterobacter kobei*	2,30
83	*Enterobacter bugandensis*	2,02
84	*Enterobacter bugandensis*	2,17
87	*Enterobacter bugandensis*	2,14
88	*Pseudomonas putida*	1,82
89	*Pseudomonas putida*	2,06
90	*Enterobacter bugandensis*	2,13

Anexo D. Continuação

91	*Citrobacter freundii*	2,12
92	*Citrobacter freundii*	2,15
93	*Citrobacter freundii*	2,29
94	*Pseudomonas monteilii*	2,04
95	*Citrobacter freundii*	2,32
96	*Enterobacter asburiae*	1,74
97	*Pseudomonas putida*	2,05
98	*Pseudomonas putida*	1,90
99	*Citrobacter freundii*	2,20
100	*Citrobacter freundii*	2,28
101	*Pseudomonas putida*	2,04
102	*Pseudomonas monteilii*	1,96
104	*Pseudomonas putida*	2,04
105	*Citrobacter freundii*	2,18
106	*Citrobacter gillenii*	2,08
107	*Enterobacter ludwigii*	2,47
108	*Enterobacter ludwigii*	2,31
109	*Enterobacter ludwigii*	2,40
110	*Citrobacter freundii*	2,32