



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**INSTITUTO DE PESQUISAS HIDRÁULICAS**  
**CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL**

**HEITOR SEMLER FRÖHLER**

**OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA AVANÇADA PARA TRATAMENTO DE  
EFLUENTES CONTAMINADOS COM ENTEROCOCOS RESISTENTES**

**PORTO ALEGRE**

**2022**

HEITOR SEMLER FRÖHLER

**OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA AVANÇADA PARA TRATAMENTO DE  
EFLUENTES CONTAMINADOS COM ENTEROCOCOS RESISTENTES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao programa de graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Salatiel Wohlmuth da Silva

Co-orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Ana Paula Guedes Frazzon

PORTO ALEGRE

2022

SEMLER FRÖHLER, HEITOR  
OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA AVANÇADA PARA TRATAMENTO DE  
EFLUENTES CONTAMINADOS COM ENTEROCOCOS RESISTENTES /  
HEITOR SEMLER FRÖHLER. -- 2022.

59 f.

Orientador: SALATIEL WOHLMUTH DA SILVA.

Coorientador: ANA PAULA GUEDES FRAZZON.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto  
de Pesquisas Hidráulicas, Curso de Engenharia  
Ambiental, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Resistência. 2. antimicrobianos. 3. esgoto. 4.  
oxidação eletroquímica avançada. I. WOHLMUTH DA SILVA,  
SALATIEL, orient. II. GUEDES FRAZZON, ANA PAULA,  
coorient. III. Título.

**HEITOR SEMLER FRÖHLER**

**OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA AVANÇADA PARA TRATAMENTO DE  
EFLUENTES CONTAMINADOS COM ENTEROCOCOS RESISTENTES**

**Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de  
Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do  
grau de bacharel(a).**

**Aprovado em: Porto Alegre, 05 de agosto de 2022.**

---

**Me. Aline Silveira Barreto – SEMAE/São Leopoldo/RS**

**Examinador**

---

**Dra. Jéssica Weiler – UFRGS/EE/PPGE3M**

**Examinador**

---

**Profa. D**

*Dedico esse trabalho a todos que me auxiliaram na  
composição desse: meus orientadores, colegas de  
laboratório, amigos e familiares.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a minha mãe, Janaina, por ter oferecido alento nos períodos em que enfrentei dificuldades, por ter apoiado minhas decisões e por ter sido exímia acolhedora e conselheira. Sou grato também ao meu pai, Thomas, que sempre me serviu de exemplo de trabalho, foco, dedicação, seriedade e honestidade. Ao meu padrasto, Sérgio pelos conselhos e questionamentos que me fizeram enxergar a realidade de outra maneira. E ao meu irmão, Vicente, pela ajuda e trabalho nos diversos projetos que participei ao longo da graduação – inclusive desse.

Agradeço também aos meus grandes amigos - em ordem alfabética para não haver questionamentos futuros - Carolina, Luana e Rodrigo, por serem meus grandes apoiadores, conselheiros e companheiros. Obrigado, Carolina, por ter sempre compreendido e apoiado minhas ambições, por mais absurdas e utópicas que fossem. Obrigado, Luana, por ter sido a voz da razão nos meus momentos de dúvida e minha inspiração de determinação e força. Obrigado, Rodrigo, que sempre entende meus anseios e sentimentos profundos. Aos três agradeço demais a paciência, o carinho e respeito que sempre tiveram por mim.

Agradeço o acolhimento, paciência e dedicação de meus orientadores. Obrigado prof. Salatiel por ter embarcado nessa parceria improvável entre o Instituto de Pesquisas Hidráulicas (IPH) e o Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS). Também, um agradecimento especial à prof.<sup>a</sup> Ana Paula Frazzon por ter permitido a realização de minha pesquisa no ICBS. Sou muito grato a esse acolhimento.

Agradeço muito a ajuda e paciência de Raquel Mocellin e Camila Coutinho, mestrandas que trabalham no laboratório em que realizei meus experimentos. Sem dúvida o auxílio e a paciência delas foram essenciais para o cumprimento de meu plano experimental.

Obrigado prof.<sup>a</sup> Gertrudes Corção, do Departamento de Microbiologia por ter permitido a minha frequência nas aulas práticas. O conhecimento adquirido durante as aulas me auxiliou na elaboração deste trabalho.

*"There is something infinitely healing in the repeated refrains of nature - the assurance that dawn comes after night, and spring after winter."*

- Rachel Carson, 'Silent Spring'.

## RESUMO

A resistência a antimicrobianos tem despertado preocupações da comunidade científica, visto que novas bactérias resistentes, com novos perfis de resistência, surgem de forma mais acelerada que o descobrimento de novos antibióticos, potencializando os riscos associados a infecções bacterianas. Além disso, o aumento no uso de antibióticos para evitar infecções secundárias durante a pandemia da Covid-19 acelerou o processo de aparecimento de cepas resistentes. Ainda assim, a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima que o consumo global de antibióticos aumentará aproximadamente 67% até 2030, reforçando que a resistência bacteriana tende continuar a crescer. Devido a esse cenário, buscou-se avaliar a presença de *Enterococos* resistentes em efluente hospitalar, em afluentes e efluente em estação de tratamento de esgoto (ETE) e propor uma alternativa tecnológica de tratamento que viesse a reduzir a recorrência desses organismos resistentes e contaminantes em efluentes. Assim, esse trabalho avalia o processo de oxidação eletroquímica avançada (OEA) como polimento em ETE, visando a remoção de *Enterococos* resistentes e antibiótico. Os resultados demonstraram que foi constatada em amostras de efluentes provenientes da saída da ETE a presença de cepas de *Enterococos* resistentes a Tetraciclina. O tratamento avançado proposto garantiu a remoção completa desses microrganismos com o tempo de operação de 15 min, a uma densidade de corrente de 10 mA/cm<sup>2</sup>. Nessa mesma condição, o processo foi capaz de remover 75% do antibiótico Sulfametoxazol (SMX) em 60 min, fatores que atestam a eficácia da tecnologia em inativar microrganismos e degradar fármaco. Portanto, infere-se que a OEA pode ser uma alternativa viável para o polimento de efluentes.

**Palavras-chave:** Resistência, antimicrobianos, esgoto, oxidação eletroquímica avançada.

## ABSTRACT

Antimicrobial resistance has raised the scientific community's concerns as new resistant bacteria, with new resistance profiles, appear faster than the discovery of new antibiotics, increasing bacterial infections risks. In addition, the increase usage of antibiotics to prevent secondary infection during Covid19 has accelerated the process of emergence of resistant bacteria. Still, the World Health Organization (WHO) estimates that global antibiotic consumption will increase by approximately 67% by 2030, reinforcing that bacterial resistance tends to continue to grow. Due to this scenario, an attempt was made to evaluate the presence of resistant Enterococci in hospital effluent, city sewage, and sewage treatment plant (STP) effluent. It was proposed an alternative treatment technology that could reduce the recurrence of these resistant organisms and contaminants in effluents. Thus, this work evaluated the process of advanced electrochemical oxidation (AEO) as a "polishing" method (tertiary treatment), aiming at the removal of antibiotic and resistant Enterococci. Tetracycline-resistant strains of Enterococci was found in effluent samples from the STP outlet. The advanced treatment proposed ensured the complete removal of these microorganisms with an operating time of 15min, at a current density of 10 mA/cm<sup>2</sup>. In this same condition, the process was able to remove 75% of the antibiotic Sulfamethoxazole (SMX) in 60 min, factors that attests the effectiveness of the technology in inactivating microorganisms and degrading the drug. Therefore, even considering the high implementation cost, AEO may be a viable alternative for the treatment of contaminated effluents.

**Keywords:** Resistance, antimicrobials, sewage, advanced electrochemical oxidation.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Processo convencional de tratamento.	18
Figura 2 – Número de mortes atribuídas e associadas à resistência bacteriana, classificadas por tipo de síndrome infecciosa (2019).	21
Figura 3 - Resumo-esquema dos processos de oxidação eletroquímica de compostos orgânicos	29
Figura 4 - Danos às células durante POEA.	31
Figura 5 - Plano de amostragem.	32
Figura 6 - Estação de Tratamento de Esgotos Vicentina (São Leopoldo – RS).	33
Figura 7 - Sistema de tratamento avançado (OEA),.	34
Figura 8 - Esquema experimental da análise microbiológica	36
Figura 9 - Concentração de SMX ao longo do tempo de tratamento	39
Figura 10 - Valores de pH e condutividade ( $\sigma$ ) ao longo do tratamento de efluente por OEA.	41
Figura 11 - Caldo Azida Dextrose após tempo de crescimento	43
Figura 12 - Ágar BHI 4,5% NaCl com colônias bacterianas	44
Figura 13 - Antibiograma dos isolados 11 e 53	46

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Consumo energético do sistema.	41
Tabela 2 - Valores de DDP, temperatura e pH ao longo do tratamento de efluente por OEA	42
Tabela 3 - Contagem de UFCs	43
Tabela 4 - NMP para as amostras, utilizando a tecnologia IDEXX Quanti-Tray 2000®.	44
Tabela 5 - Identificação das espécies dos isolados.	45
Tabela 6 - Diâmetro dos halos formados para cada antibiótico.	46
Tabela 7 - Susceptibilidade a antimicrobianos dos isolados.	47

## LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

AMP – Ampicilina

BHI – gar *Brain Heart Infusion*

CIM – Concentrao Inibitória Mínima

CIP – Ciprofloxacina

CLO – Clororanfenicol

CPE – Contaminantes de Preocupao Emergente

DDB – Diamante dopado com Boro

DDP – Diferena de Potencial (Elétrico)

DDT – Diclorodifeniltricloroetano

ERI – Eritromicina

EST – Estreptomicina

ETEs – Estao de Tratamento de Efluentes

GEN – Gentamicina

LNZ – Linezolida

NIT – Nitrofuratona

NMP – Número Mais Provvel

NOR – Norfloxacino

OEA – Oxidao Eletroquímica Avanada

POE – Processo de Oxidao Eletroquímica

POEA – Processo de Oxidao Eletroquímica Avanada

RAM – Resistência Microbiana

RIF – Rifampicina

SMX - Sulfametoxazol

SNC – Sistema Nervoso Central

TET - Tetraciclina

THG – Transferência Horizontal de Genes

TVG – Transmissão Vertical de Genes

UFC – Unidades Formadora de Colônia

VAN – Vancomicina

## SUMÁRIO

1.	15	
2.	16	
2.1.	16	
2.2.	16	
3.	17	
3.1.	17	
3.2.	17	
3.3.	18	
3.3.1.	Pesticidas	19
3.3.2.	Fármacos	20
3.4.	RESISTÊNCIA MICROBIANA	20
3.4.1.	Mecanismo de Transmissão Horizontal e Vertical de Genes entre bactérias	22
3.4.2.	Co-resistência e Resistência Cruzada	23
3.5.	23	
3.6.	PROCESSOS OXIDATIVOS E AVANÇADOS	26
3.6.1.	Luz Solar e UV	26
3.6.2.	Cloração	27
3.6.3.	Ozonização	27
3.6.4.	Oxidação Eletroquímica Avançada	27
4.	31	
4.1.	COLETA DE AMOSTRAS	32
4.2.	SISTEMA DE TRATAMENTO CONVENCIONAL	33
4.3.	SISTEMA DE TRATAMENTO AVANÇADO (OEA)	34
4.4.	ANÁLISES	35
4.4.1.	Análises Microbiológicas	36

5.	37	
5.1.	TRATAMENTO AVANÇADO DO EFLUENTE	38
5.1.1.	Degradação de Sulfametoxazol	38
5.1.2.	Inativação Microbiológica	41
___	<i>5.1.2.1 Unidades Formadoras de Colônias</i>	42
___	<i>5.1.2.2. Seleção de isolados e identificação por MALDI-TOF</i>	44
___	<i>5.1.2.3. Antibiograma e análise de resistência</i>	45
6.	CONCLUSÃO	49
7.	49	

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização indevida de antibióticos na medicina e pecuária tem aumentado os índices de resistência bacteriana ao redor do mundo (DE BRITO, 2021). As bactérias que apresentam genes de resistência, sejam eles adquiridos ou natos do organismo, limitam – devido à perda de eficácia – a utilização de determinados fármacos para o tratamento de doenças (DA COSTA, 2017). Esse cenário é preocupante, visto que a ciência não tem conseguido desenvolver novos antibióticos a uma taxa minimamente necessária para acompanhar a demanda causada pelo surgimento de resistências aos antibióticos mais antigos (GOULD, 2013). Segundo a *Antimicrobial Resistance Fighter Coalition* (2022), somente 15 novos antibióticos foram aprovados pelo CDC (Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos) desde o ano 2000, comparados aos 63 que foram aprovados para uso clínico entre 1980 e 2000. Portanto, há uma clara redução do desenvolvimento de novas drogas. Tendo esse cenário em vista, é imprescindível que a comunidade científica, de forma unificada, integrando diferentes áreas, busque soluções para essa problemática que ameaça a saúde global.

Ademais, alguns gêneros bacterianos, como *Escherichia* e *Enterococos*, por serem organismos entéricos, são lançados no ambiente através de esgotos sanitários, assim apresentando capacidade de disseminação de eventuais características de resistência no ambiente (FUENTEFRIA *et al.*, 2008). Considerando o cenário brasileiro, essa preocupação deveria ser maior, visto a baixa cobertura de tratamento de esgotos, que pode reforçar a disseminação dessas cepas. Além disso, o tratamento convencional de efluentes, que é, em sua maioria, a tecnologia implementada nos municípios que apresentam sistemas de tratamento coletivos, podem corroborar também com a intensificação do processo de aparecimento de resistências (SILVA, 2020).

Portanto, objetivou-se, dentre outras finalidades, averiguar a eficiência do tratamento convencional na inativação de bactérias resistentes. Entretanto, sabendo que o tratamento convencional não tem capacidade de completa aniquilação de microrganismos, propôs-se a realização de uma etapa de refinamento do tratamento, com a tecnologia de Oxidação Eletroquímica Avançada com eletrodo de diamante dopado com boro, descrito e experimentado por Wohlmuth da Silva (2018). Avaliou-se, também, nesse processo, diferentes densidades de correntes elétricas, a fim de averiguar o melhor custo-benefício por meio da análise de consumo energético e eficiência geral do processo de tratamento.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1.OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficiência de remoção/inativação de do organismo sentinela – Enterococos –e remoção de sulfametoxazol através da tecnologia de oxidação eletroquímica avançada a fim de constatar a eficácia do sistema para tal finalidade.

### 2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a degradação de sulfametoxazol para diferentes densidades de corrente elétrica
- Determinar a cinética das reações
- Determinar gasto energético das etapas distintas de tratamento;
- Traçar os perfis de resistência dos isolados de Enterococos;
- Avaliar e propor um valor de densidade de corrente elétrica ideal para o sistema;
- Verificar a existência (ou não) de cepas resistentes nas alíquotas de efluentes coletados.



### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1. POLUIÇÃO AMBIENTAL NO LAGO GUAÍBA

O Lago Guaíba é localizado na região metropolitana da cidade de Porto Alegre (29°55'–30°24' S; 51°01'–51°20' W), Rio Grande do Sul (RS), Brasil. O Lago é o principal manancial de abastecimento público para uma população aproximada de 1,5 milhão de habitantes (DMAE, 2022), além de ser usado para a recreação, pesca, irrigação e navegação. Apesar de sua importância, há histórico descaso com a qualidade da água do corpo hídrico, visto que este manancial recebe elevada carga de resíduos domésticos e industriais dos municípios da bacia diariamente, o que vem comprometendo a qualidade das suas águas (ANDRADE *et al.*, 2019).

Os afluentes do Lago Guaíba contribuem muito para a degradação ambiental local, visto que os principais rios que ali desaguam são extremamente poluídos (JOBIN, 2012). O rio Jacuí, o principal afluente, contribui com 85% da água do Lago Guaíba e, portanto, o torna vital na compreensão das características do Lago. Além do rio Jacuí, os rios dos Sinos, Caí e Gravataí contribuem, respectiva e aproximadamente por 7,5%, 5% e 2,5% das descargas do Lago (JOBIN, 2012).

Os rios que constituem a bacia hidro-geográfica do Guaíba, devido a sua contaminação, contribuem negativamente para a qualidade da água do Lago. As atividades econômicas da região, bem como a descarga considerável de efluentes domésticos não tratados favorecem a potencial contaminação por pesticidas e fármacos (PERIN *et al.*, 2021) - bem como por carga orgânica (ANDRADE; GIROLDO, 2014). Estudos recentes, inclusive, confirmam a contaminação do Lago Guaíba por contaminantes de preocupação emergente (CPE) e metais tóxicos (PERIN *et al.*, 2021). A presença destes químicos desperta alerta quanto a eficiência de tratamento de efluentes por métodos convencionais da região, bem como a seleção de bactérias resistentes devido à exposição constante a estes contaminantes que oferecem pressão seletiva sobre as comunidades microbianas.

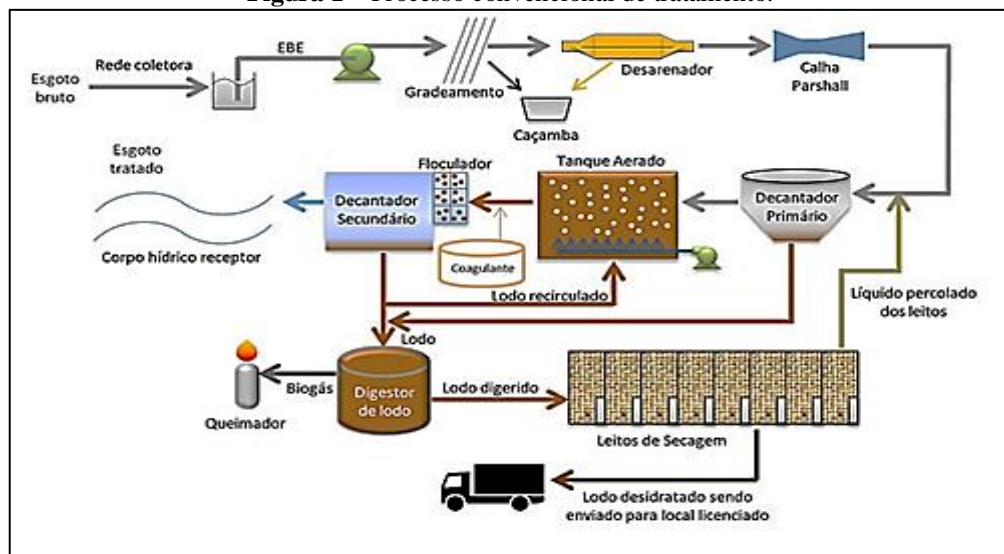
#### 3.2. PROCESSOS CONVENCIONAIS DE TRATAMENTO DE EFLUENTES

O tratamento convencional de efluentes sanitários é baseado principalmente em distintos processos biológicos, físico-químicos ou combinados. Esses processos consistem em sistemas biológicos aeróbicos ou anaeróbicos, como os de lodo ativado, biorreatores a membrana e reatores anaeróbicos de manta de lodo de fluxo ascendente. Estes sistemas,

entretanto, são influenciáveis por fatores operacionais, como demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), carga de sólidos, tempo de retenção hidráulica (CLARA *et al.*, 2005), pH, temperatura e pluviosidade (VON SPERLIN, 1996).

Estações de tratamento convencionais não foram originalmente projetadas para a eliminação de CPE (WOHLMUTH DA SILVA, 2018), fator preocupante, tendo em vista que estes contaminantes são frequentemente detectados em efluentes, águas superficiais, águas subterrâneas e até mesmo em água potável (SCHNOOR, 2014). Além disso, ainda não há completo entendimento do potencial de remoção destes contaminantes por estas estações. Geralmente, a implementação de tecnologias avançadas antes do processo biológico – ou posteriormente, ou seja, antes do despejo do efluente no ambiente – é vista como a solução compensatória para a ineficiência de sistemas tradicionais de tratamento. O esquema de tratamento convencional pode ser compreendido de forma esquemática na Figura 1.

**Figura 1** – Processo convencional de tratamento.



Fonte: Adaptado de <https://www.aguaeefluentes.com.br/> acesso em 05/07/2022.

### 3.3. CONTAMINANTES DE PREOCUPAÇÃO EMERGENTE

A ocorrência de compostos a nível traço, geralmente orgânicos, conhecidos como contaminantes de preocupação emergente (CPE), ou simplesmente contaminantes emergentes (CE), tem se tornado foco de preocupação entre cientistas e público em geral, visto que estes químicos apresentam impacto negativo ao ambiente aquático e terrestre e, conseqüentemente, à vida humana (GOGOI *et al.*, 2018).

Os CPE podem ter origem industrial, doméstica, agrícola, hospitalar ou laboratorial. (GOGOI *et al.*, 2018). Geralmente, este grupo de contaminantes inclui fármacos (antibióticos,

anti-inflamatórios, hormônios, entre outros), pesticidas e produtos de cuidado pessoal (produtos de beleza), bem como seus metabólitos. Esses contaminantes têm sido largamente detectados em águas superficiais, como estuários, lagos e rios do mundo. Inclusive, a presença de CPE em água potável é documentada no Brasil (MACHADO *et al.*, 2016).

### 3.3.1. Fármacos

Fármacos são compostos biologicamente ativos – e geralmente altamente potentes para a função designada. Habitualmente, esses químicos são fabricados para seres resistentes a biodegradação, pois a estabilidade metabólica frequentemente acentua a desejada ação farmacológica no organismo receptor da droga. Essa característica, entretanto, contribui para a persistência desses químicos no ambiente. Por esta razão, também, os fármacos tornam-se muito distintos dos pesticidas (FATTA-KASSINOS; MERIC; NIKOLAOU, 2011).

Animais e humanos excretam parte dos fármacos que os são administrados (BILA; DEZOTTI, 2003). Entretanto, mesmo drogas com baixa proporção de excreção também apresentam grandes concentrações em ambientes aquáticos, algo que sugere que baixas proporções de excreção podem apresentar eventualmente altas taxas de recalcitração (JJEMBA, 2006).

O uso excessivo/descontrolado destes medicamentos tem sido associado diretamente ao aumento de cepas com perfil de resistência aos antimicrobianos (ARSAND *et al.*, 2020). Antibióticos, bem como seus metabólitos, também foram anteriormente detectados em corpos hídricos do Brasil (MACHADO *et al.*, 2016), bem como nos corpos hídricos que circundam Porto Alegre – RS, Brasil (ARSAND *et al.*, 2018, 2020; PERIN *et al.*, 2021). Perin *et al.* (2019) em seu estudo voltado à quantificação de CPE no Lago Guaíba – RS, Brasil identificaram a presença de 13 fármacos (ácido mefenâmico, atenolol, cefalexina, ciprofloxacina, clindamicina, diclofenaco, lidocaína, metoprolol, paracetamol, propranolol, sotalol, sulfamethoxazol e trimetoprim), do total de 41 analisados. Essa colocação, dentro de demais constatações, reforça a necessidade de estudos quanto ao comportamento destes químicos no ambiente, através da elucidação das estruturas de metabólitos, bem como sua ecotoxicidade (FATTA-KASSINOS; MERIC; NIKOLAOU, 2011; JJEMBA, 2006).

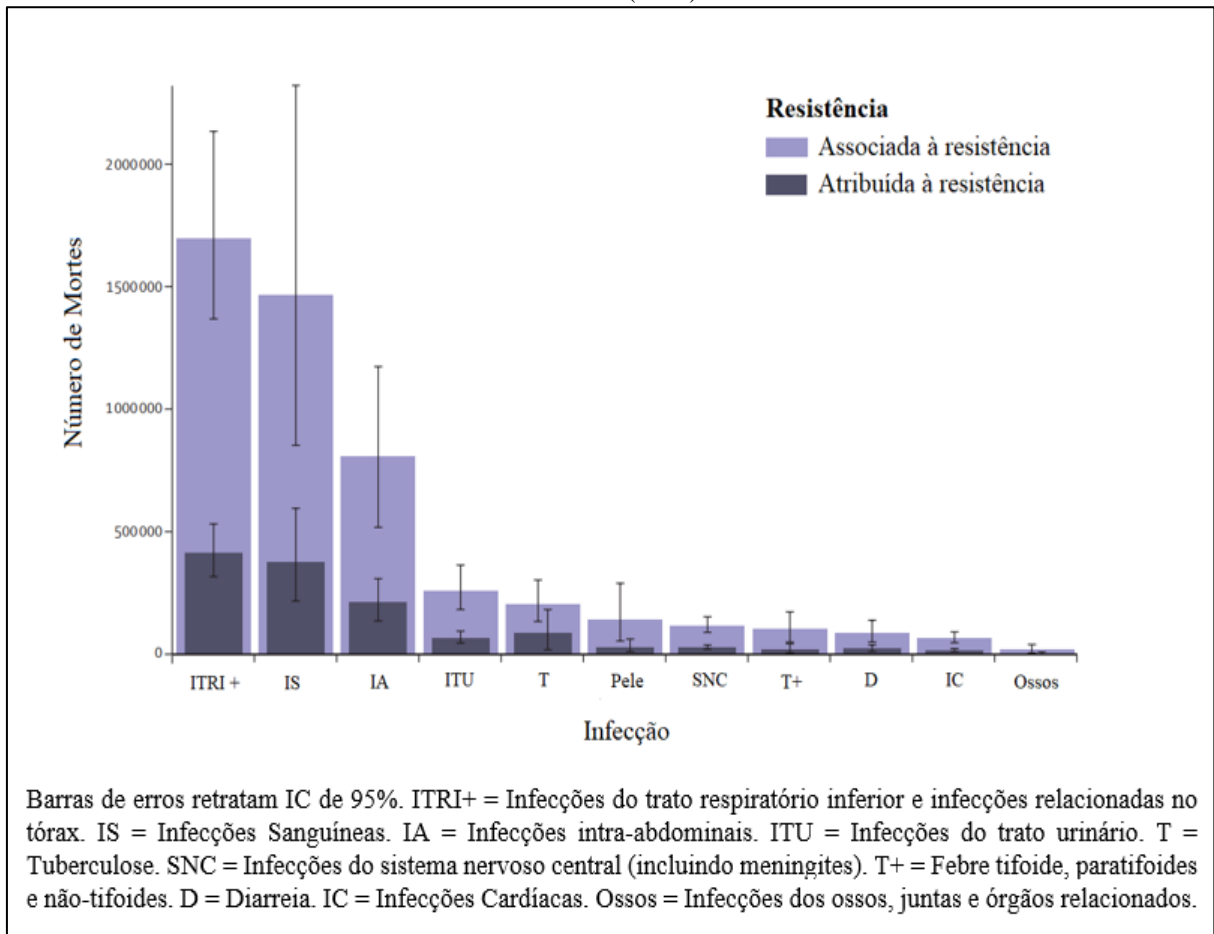
### 3.4. RESISTÊNCIA MICROBIANA

A resistência a antimicrobianos (RAM), ocorre quando os microrganismos (incluindo bactérias, fungos, vírus e parasitas) resistirem aos medicamentos, tornando-os inefetivos para o tratamento de infecções, sendo uma das principais preocupações de saúde pública global do século XXI (MURRAY *et al.*, 2022). Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde, o número de mortes causadas por bactérias resistentes poderá chegar a 10 milhões por ano até 2050.

Bactérias resistentes a antibióticos, bem como genes de resistência a antibióticos no ambiente, são grandes preocupações da comunidade científica devido ao seu potencial risco à saúde humana (CHEN *et al.*, 2020). Estima-se que em 2019 aproximadamente 1,27 milhões (IC 0,911 – 1,71) de pessoas morreram em decorrência direta ou indireta de bactérias resistentes a antibióticos. As principais infecções relacionadas e atribuídas a RAM são: infecções do trato respiratório inferior, infecções sanguíneas, infecções peritoneais e intra-abdominais, meningite (incluindo outras infecções do sistema nervoso central), febre tifoide (paratifoide e não-tifoide invasiva *Salmonella spp*), infecções do trato urinário, diarreias, tuberculose, infecções bacterianas do sistema tegumentar (também subcutâneo), infecções dos ossos, gonorreia e, por fim, clamídia (MURRAY *et al.*, 2022). O número de mortes associadas e atribuídas diretamente à RAM pode ser verificada de forma mais evidente na Figura 2.

Sabe-se, entretanto, que o aumento de resistência bacteriana não se deve exclusivamente ao uso inconsequente de antibióticos, relativos à medicina humana/animal, mas também pode ser influenciada por outros tipos de compostos encontrados no ambiente – como os demais CPE – que também contribuem para a seleção e disseminação de resistência microbiana (BUELOW; PLOY; DAGOT, 2021). A constatação de fármacos e de pesticidas em corpos hídricos é preocupante não somente considerando os efeitos destes mesmos ao ambiente e à vida humana, mas também dos efeitos a longo prazo que esta poluição pode vir a causar. Os CPE, mesmo não sendo necessariamente antimicrobianos, podem aumentar a disponibilidade e transmissão de genes de resistência no ambiente (WANG *et al.*, 2020).

**Figura 2** – Número de mortes atribuídas e associadas à resistência bacteriana, classificadas por tipo de síndrome infecciosa (2019).



**Fonte:** Adaptado e traduzido de Murray et al. (2022).

Quando expostas a ambientes com pressão seletiva, as bactérias, bem como outros microrganismos, conseguem se adaptar rapidamente, seja por aquisição de genes ou por mutações aleatórias (JUTKINA *et al.*, 2018). Essa pressão seletiva pode ser desencadeada principalmente pelo despejo dos mais diversos compostos de origem antrópica no ambiente, como biocidas, metais tóxicos, substâncias potencialmente tóxicas e resíduos de fármacos (incluindo antibióticos) (BUELOW; PLOY; DAGOT, 2021). Os traços de resistência propagam-se na presença de fatores de estresse, que, conseqüentemente, selecionam populações bacterianas com sobrevivência acentuada. Quando selecionados, estes traços genéticos podem ser transferidos entre indivíduos, assim criando resistomas (coleção de resistência latente ou ativa em uma comunidade) mais complexos. Diante destes fatores, a resistência microbiana pode ser disseminada entre microrganismos uma vez que o gene tenha entrado no sistema – seja por transmissão horizontal (THG) ou por transmissão vertical (TVG) (RODGERS *et al.*, 2019).

### 3.4.1. Mecanismo de Transmissão Horizontal e Vertical de Genes entre bactérias

Em muitas comunidades microbianas, como em biofilmes, a proximidade entre os organismos possibilita a THG. Este processo pode ocorrer por diferentes formas: (1) por transformação, que consiste na assimilação de DNA livre liberado por células lisadas; (2) por transdução, onde geralmente bacteriófagos (vírus) adquirem fragmentos de DNA de um organismo e o transporta para o próximo infectado; e (3) por conjugação, que é a troca direta de plasmídeos entre as células (RODGERS *et al.*, 2019). Por outro lado, a TVG envolve o crescimento dos traços de resistência por meio de pressões seletivas e passagem deste material genético às gerações futuras de organismos. Nesse sentido, a resistência aprimorada parte da replicação e da consequente sobrevivência de específicas populações que apresentem estes genes de resistência (RODGERS *et al.*, 2019).

Alguns fármacos muito utilizados para uso medicinal, como gentamicina (GEN) e sulfametoxazol (SMX), mesmo estando em concentrações abaixo da Concentração Inibitória Mínima (CIM) no ambiente, podem desencadear THG, – fato que atesta que, mesmo em concentrações baixas em efluentes, determinados fármacos contribuem para o aumento e disseminação de genes de resistência (JUTKINA *et al.*, 2018). Portanto, a disseminação desses genes, por meios de THG, é afetada pelas condições ambientais do entrono, bem como também de diferentes fatores de estresse/seleção (JUTKINA *et al.*, 2018). A THG, como postulado, é uma das principais maneiras de disseminação de genes de resistência (VON WINTERSDORFF *et al.*, 2016) e que, por conseguinte, apresenta considerável ameaça à saúde global referente ao aparecimento de cepas bacterianas resistentes.

### 3.4.2. Co-resistência e Resistência Cruzada

Recentemente tem-se observado que outras substâncias, além de antibióticos, podem selecionar cepas bacterianas resistentes no ambiente. Poluição por metais tóxicos e/ou compostos orgânicos persistentes co-selecionam genes de resistência a antibióticos. O processo de co-resistência ocorre quando a seleção fenotípica, simultaneamente, seleciona genes no mesmo elemento genético. Por outro lado, a resistência cruzada ocorre quando o contaminante percorre o mesmo caminho metabólico no organismo. Por exemplo: antibióticos e metais, quando adentram a célula bacteriana, possuem caminhos metabólicos similares e, portanto, quando há ativação da resposta a estes compostos xenobióticos, o organismo desenvolve defesa efetiva para metais pesados e antibióticos ao mesmo tempo (RODGERS *et al.*, 2019). Destaca-

se que metais são largamente encontrados no ambiente e podem potencialmente providenciar uma pressão seletiva para seleção de bactérias resistentes a longo prazo (RODGERS *et al.*, 2019). Essa observação é pertinente, tendo em mente que esses elementos não são passíveis de degradação. Sendo assim, a poluição ambiental, seja ela por metais ou demais CPE, pode ser interpretada como intensificadora do processo de seleção de bactérias resistentes (BUELOW; PLOY; DAGOT, 2021; RODGERS *et al.*, 2019).

### 3.5. ENTEROCOCOS COMO SENTINELAS PARA ACOMPANHAR TENDÊNCIAS DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS NO AMBIENTE

Enterococos são organismos Gram-positivos que se apresentam microscopicamente na forma de cocos arrançadas em pares ou correntes curtas. São não esporulantes, fermentadores obrigatórios, quimiorganotróficos e apresentam teste catalase negativa. Geralmente apresentam-se como homofermentadoras, produzindo, assim, ácido láctico (HARDIE; WHILEY, 1997; MURRAY, 1990). Os Enterococos crescem em uma faixa de temperatura de 10°C a 45°C, toleraram altas concentrações de NaCl (6,5%), suportam uma ampla faixa de pH (4,0 a pH 9,6) e toleram temperaturas em torno de 60 ° C por até meia hora.

A habilidade destes microrganismos de crescer e sobreviver a uma gama diversificada de condições ambientais, incluindo temperaturas e salinidade extremas, provavelmente são os fatores que tornam a distribuição deste gênero quase que onipresente (HARDIE; WHILEY, 1997). Bactérias deste gênero também foram isoladas do solo, comida, água e plantas. O gênero compreende mais de 50 espécies, sendo *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* as mais frequentemente encontradas nas fezes de animais e humanos. De maneira geral, Enterococos são bactérias comensais, potencialmente ajudando na digestão, além também de outras rotas metabólicas (BYAPPANAHALLI *et al.*, 2012). Inclusive, algumas espécies, como *E. faecalis* e *E. faecium*, são usadas em medicamentos probióticos para tratamento de diarreias e aumento de imunidade do paciente (FRANZ *et al.*, 2011), fato que atesta os efeitos benéficos destes seres. Entretanto, algumas espécies como *E. faecalis* e *E. faecium* são patógenos oportunistas. Essas espécies são agentes etiológicos de infecções associadas ao ambiente hospitalar, incluindo infecções do trato urinário, endocardites, bacteremia, infecções neonatais, infecções do sistema nervoso central SNC e infecções abdominais (BYAPPANAHALLI *et al.*, 2012; MURRAY, 1990). Atualmente, os Enterococos são considerados germes de difícil tratamento, especialmente quando se tratando de infecções graves (MENA *et al.*, 2011). Estes micróbios evoluíram a ponto de se tornarem ótimos

organismos patogênicos e comensais, majoritariamente devido à acumulação de elementos genéticos móveis, via THG (JOHNSON *et al.*, 2021).

A emergência desse patógeno nas últimas duas décadas se deve, entre outros fatores, à sua resistência intrínseca a vários antimicrobianos (ex. aminoglicosídeos e cefalosporinas), e também à resistência adquirida a antimicrobianos comumente empregados na clínica humana. Os mecanismos de THG fornecem aos enterococos a capacidade de adquirir genes de resistência via transposon e/ou plasmídeos (MURRAY, 1990). A emergência desse patógeno no ambiente hospitalar, pode ser atribuída ao fato da exposição a diferentes antimicrobianos. A utilização de antibióticos no ambiente hospitalar elimina ou suprime as bactérias suscetíveis, assim providenciando a seleção de organismos resistentes. Hospitais, portanto, são potenciais meios de disseminação de enterococos resistentes entre os pacientes – e também para o ambiente (MURRAY, 1990).

Em adição ao ambiente hospitalar, enterococos resistentes aos antimicrobianos têm sido isolados de outros ambientes. No estudo realizado por Riboldi *et al.* (2009) enterococos resistentes foram isolados de diversos alimentos vendidos em Porto Alegre. Resistência a antimicrobianos utilizados na agricultura, como bacitracina e lincomicina, mostraram relativa frequência. A emergência de RAM em enterococos presentes em alimentos sugerem uma situação de risco para a comunidade e uma possível correlação entre as cepas presentes em hospitais com as isoladas em alimentos (RIBOLDI *et al.*, 2009). Enterococos resistentes já foram também isolados de amostras de águas. Por serem bactérias colonizadoras de trato intestinal, a poluição ambiental fecal também pode evidenciar, eventualmente, cepas resistentes. Praias poluídas podem funcionar como reservatórios de microrganismos patogênicos. A presença de cepas resistentes em praias recreativas, com altas taxas de contaminação fecal – fato que é realidade em boa parte do Brasil – podem contribuir para a disseminação da RAM entre bactérias, o que pode vir a causar a ineficiência de certos antibióticos (DE OLIVEIRA; WATANABE PINHATA, 2008).

Os enterococos, quando comparados aos coliformes fecais, apresentam maior persistência em ambientes aquáticos expostos à luz solar. As razões para tal diferença ainda não está clara. Especula-se que o tamanho e o formato dos enterococos podem vir a conferir vantagem sobre o grupo dos coliformes fecais. Células de *E. coli* (a principal espécie dos coliformes fecais) possuem formato de bastão, com diâmetros que variam de 1,1 a 1,5  $\mu\text{m}$ , enquanto os enterococos são esféricos e possuem diâmetro inferior a 2,0  $\mu\text{m}$ . Conseqüentemente, uma suspensão de *E. coli* pode apresentar maior área superficial do que a



um número equivalente de células de enterococos, que permite ao *E. coli* maior exposição aos raios solares. Ademais, coliformes fecais tendem a existir sós, enquanto geralmente os enterococos organizam-se em pares ou correntes (SINTON; DAVIES-COLLEY; BELL, 1994). Estas observações reforçam os argumentos de que os enterococos, por serem mais resistentes a estressores ambientais, apresentam-se como possíveis melhores indicadores de contaminação fecal (BYAPPANAHALLI *et al.*, 2012).

### 3.6. PROCESSOS OXIDATIVOS E AVANÇADOS

Durante as últimas décadas, houve um aumento de pesquisas que tivessem como objetivo encontrar processos efetivos de degradação dos CPE (SIRÉS *et al.*, 2014). A oxidação biológica configura uma alternativa convencional de tratamento de efluentes majoritariamente orgânicos, mas a presença de contaminantes recalcitrantes e/ou tóxicos pode comprometer esse sistema de tratamento (SIRÉS *et al.*, 2014). Além do postulado, já foi detectado CPE em efluentes de Estações de Tratamento de Esgotos (ETE) (BILA; DEZOTTI, 2003), fato que pode atestar a ineficácia do tratamento convencional na remoção destes contaminantes (KÖCK-SCHULMEYER *et al.*, 2013). Portanto, processos alternativos de tratamento de efluentes são necessários quando desejamos a degradação de CPE e concomitante desativação de microrganismos resistentes. Os processos alternativos mais difundidos são baseados em radiação UV/luz solar, cloro, ozônio e oxidação eletroquímica avançada (OEA) (SIRÉS *et al.*, 2014).

Os processos de OEA foram aplicados, com sucesso, principalmente em usinas de tratamento de esgoto, mas também tem sido utilizado em diversos outros campos, como remediação de solo, tratamento de água subterrânea, bem como na eliminação de odor e cheiro de água potável (SIRÉS *et al.*, 2014). Ademais, essa técnica, apesar de eficiente para a remoção de CPE, pode eventualmente gerar produtos biologicamente mais ativos que os reagentes. Integração tecnológica, por conseguinte, é essencial para tratarmos corretamente efluentes que venham a conter estes contaminantes (FATTA-KASSINOS; MERIC; NIKOLAOU, 2011).

#### 3.6.1. Luz Solar e UV

Há evidências que atestam que a luz do sol é um fator determinante no controle da sobrevivência de bactérias entéricas em ambientes aquáticos. Além disso, já foi constatado que

altas concentrações de sais, não são necessárias para a atividade bactericida da luz solar (FUJIOKA *et al.*, 1981). Estas contatações são significantes, dado que o período do dia em que a contaminação fecal acontece influencia significativamente na sobrevivência destas bactérias em seu segundo habitat (FUJIOKA *et al.*, 1981).

A utilização do método de desinfecção por luz ultravioleta (UV) foi constatada como eficiente na redução de bactérias em efluentes de ETE (MARTINS DA COSTA; VAZ-PIRES; BERNARDO, 2006). Entretanto, a desinfecção por via UV ou luz visível provou-se ineficaz na remoção completa de genes de resistência a antimicrobianos (CHEN *et al.*, 2020), fato que constata limitações da técnica.

### **3.6.2. Cloração**

Enterococos, de maneira geral, são mais resistentes à desinfecção por cloração do que *E. coli*, particularmente em concentrações baixas de cloreto; entretanto, apesar de maior resistência, são completamente desativados dentro de 15 min de exposição (TREE; ADAMS; LEES, 2003). Grande vantagem da cloração é o cloreto residual que é mantido no influente, o que garante a continuação da inativação das bactérias vegetativas em efluente (TYRRELL; RIPPEY, S.; WATKINS, W., 1995). No entanto, dependendo do corpo superficial de água onde esse efluente será lançado, não poderá haver lançamento de cloro residual, o que dá preferência, nesse caso específico, a outras metodologias de desinfecção que contem com oxidantes não residuais.

### **3.6.3. Ozonização**

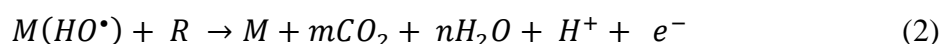
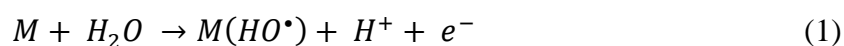
O ozônio é uma rota de desinfecção alternativa à cloração. Apesar do ozônio ter se demonstrado efetivo desinfetante viral – especialmente quando comparado com a cloração -, ele não é particularmente efetivo na eliminação de bactérias vegetativas do efluente (TYRRELL; RIPPEY, S.; WATKINS, W., 1995). Como a ozonização não é efetiva o suficiente para a remoção de bactérias de efluentes, porém ótima como desinfetante viral, a combinação da cloração com a ozonização para determinados casos pode ser benéfica e viável técnica e economicamente.

### 3.6.4. Oxidação Eletroquímica Avançada

A inativação de bactérias pode ser obtida por meio de processos de oxidação eletroquímica avançada (OEA). Ademais, como dissertado acima, os métodos de desinfecção mais difundidos demonstraram-se ineficazes na remoção de bactérias resistentes e genes de resistência a antibióticos. Alguns microrganismos são resistentes à cloração e à radiação UV e, por isso, existe uma clara demanda por tecnologias mais verdes e seguras (CHEN *et al.*, 2021). Recentes estudos (WANG *et al.*, 2020) também buscam combinar diversas técnicas – nesse caso a oxidação eletroquímica com auxílio de luz UV – para aumentar a eficácia de remoção destes possíveis patógenos. Entretanto, a otimização e a possibilidade de implementação da técnica ainda são discutíveis devido aos altos custos associados.

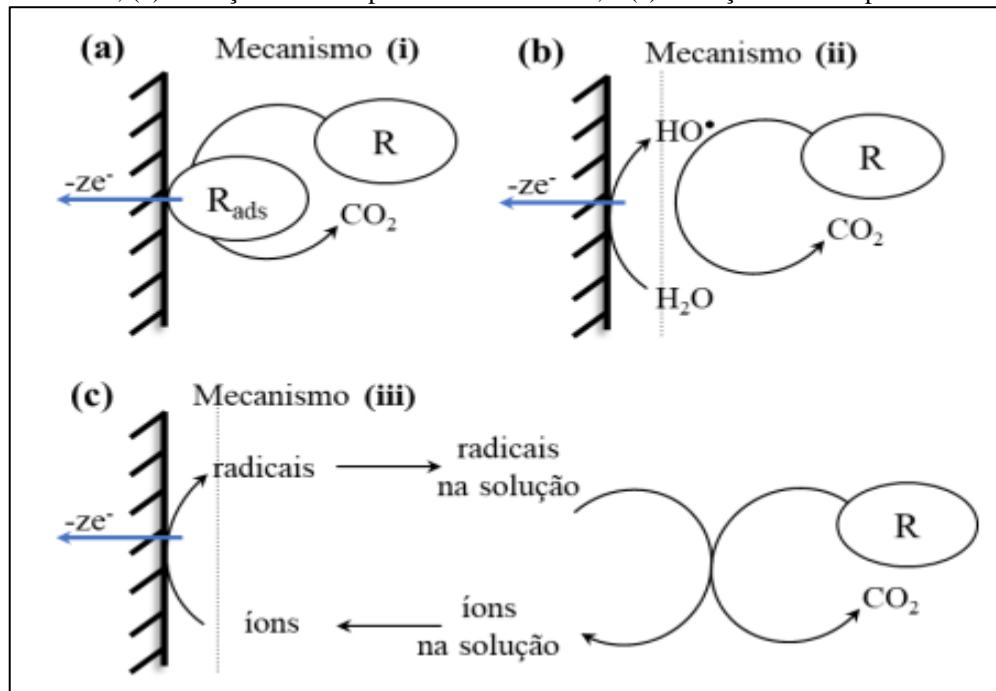
O chamado processo de oxidação eletroquímica consiste na aplicação de diferença de potencial em uma célula eletrolítica, composta por um par (ou diversos pares) de eletrodos. Os pares de eletrodos polarizados atuam, em conjunto, nas reações de oxirredução. Intrinsecamente, a OE não se configura como processo de oxidação eletroquímica avançada, visto que é necessário a utilização de materiais específicos nos eletrodos para que haja a geração eletroquímica de radicais hidroxilas (HO<sup>•</sup>) (COMNINELLIS, 1994).

O mecanismo de degradação de contaminantes desta técnica envolve praticamente duas etapas: (a) a geração de radicais hidroxilas (HO<sup>•</sup>) *in-situ* (Eq. 1); (b) a oxidação dos contaminantes pela ação dos radicais HO<sup>•</sup> (Eq. 2) (MARTÍNEZ-HUITLE; FERRO, 2006).



O processo de OEA pode envolver oxidação direta ou indireta; a oxidação direta refere-se à transferência de elétrons do contaminante com a superfície do ânodo. Já na reação indireta, por outro lado, pode envolver: (a) espécies reativas de oxigênio, incluindo radical hidroxila (HO<sup>•</sup>) adsorvido na superfície do material; (b) oxidação por peróxido de hidrogênio – formada por dimerização do HO<sup>•</sup> no ânodo e o ozônio a partir de descarga de água na superfície do ânodo; e, por fim, (c) outros agentes oxidantes, como íons existentes em solução. O esquema dessas reações possíveis é mostrado na Figura 3.

**Figura 3** - Resumo-esquema dos processos de oxidação eletroquímica de compostos orgânicos (R). (a) oxidação direta; (b) oxidação mediada por radicais hidroxila; e (c) oxidação mediada por íons.



Fonte: Figura de Wohlmuth da Silva (2018).

O processo de OEA possui diversas vantagens: eficiência energética, fácil manuseio - devido ao simples equipamento necessário -, segurança e versatilidade (SIRÉS *et al.*, 2014). Apresenta-se como mais versátil quanto a faixa de aplicação considerando valores de DQO, demonstrando eficiência de redução de DQO de efluentes com valores de demanda entre aproximados 0,01 g/L e 100 g/L; mesmo assim, há ressalvas: a técnica apresenta superior eficiência quando aplicada em efluentes com concentrações de DQO que variam entre 100 mg/L a 25 g/L (FRYDA *et al.*, 2003). Há, inclusive, a uma vantagem industrial conferida a OEA pois existe a possibilidade de degradação da DQO e carbono orgânico total (COT) partindo de várias centenas de gramas de oxigênio por litro para pouquíssimos miligramas de oxigênio por litro, com ainda redução de compostos orgânicos aproximada de 99% (SIRÉS *et al.*, 2014).

A OEA de compostos orgânicos em meio aquoso pode ser obtida sem a incrustação de eletrodos, fato que também confere grande vantagem industrial à técnica. Esse estado de não incrustação é obtido através da realização da eletrólise a alto potencial anódico, que favorece a participação de intermediários das reações de evolução do oxigênio (PANIZZA; CERISOLA, 2009). Geralmente, a eficiência geral tem sido restritamente associada a condições de operação e, acima de tudo, aos tipos de eletrodos utilizados no processo (PANIZZA; CERISOLA, 2009).

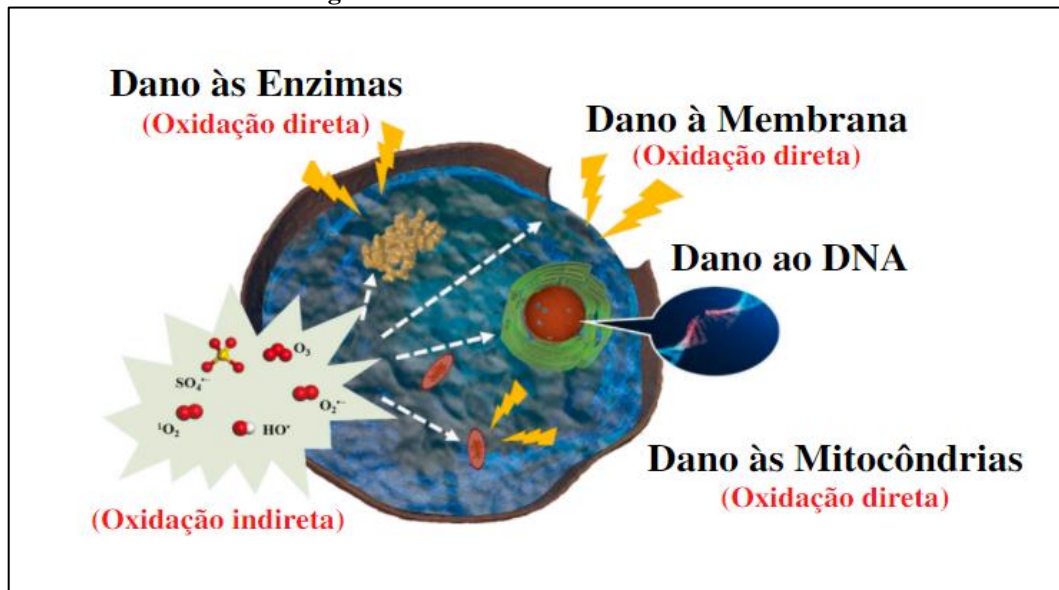
O eletrodo de diamante dopado com boro (DDB) possui várias vantagens tecnológicas, que o distingue dos eletrodos convencionais. Dentre as vantagens estão: alta resistência a corrosão – mesmo em ambientes ácidos na presença de ácido fluorídrico; superfície inerte, com baixas propriedades de adsorção; e elevada reatividade para a oxidação de compostos orgânicos, o que possibilita eficaz tratamento de água (CHEN *et al.*, 2021; PANIZZA; CERISOLA, 2009).

Destaca-se, entretanto, que o material base do eletrodo pode afetar taxas de decaimento de DQO. Wohlmuth da Silva (2018) comparou diversos eletrodos em sua tese, onde concluiu-se que o DDB apresentou os melhores resultados para decaimento de DQO e norfloxacino (NOR). Ademais, no mesmo trabalho, também foi pontuado que o eletrodo de DDB com base de nióbio possuiu vantagens tecnológicas (como custo de operação) em relação ao DDB com base de silício – fator que pode contribuir para a ampliação do processo a nível industrial. Mesmo assim, a maior eficiência de remoção do processo é conferida ao material com base em silício, que apresentou ~95% de redução de DQO e NOR.

A OEA mostra-se como uma tecnologia extremamente eficaz na inativação de células bacterianas. A deformação celular causada pelo ataque dos radicais HO<sup>•</sup> é tamanha que causa o rompimento da membrana celular e conseqüente vazamento do conteúdo intracelular (RAJASEKHAR *et al.*, 2020). Durante a oxidação direta, os microrganismos reagem diretamente com o ânodo, perdendo elétrons, levando à inativação. A desinfecção por oxidação direta é um processo de duas etapas, que incluem a adsorção do microrganismo no eletrodo e oxidação do mesmo através da transferência de elétrons. O processo, portanto, interrompe o transporte transmembrana de elétrons do organismo, desencadeando o estresse oxidativo celular (CHEN *et al.*, 2021).

Os regimes primários de desinfecção por meio da OEA incluem a destruição da membrana celular, enzimas, parede celular e material genético intracelular (CHEN *et al.*, 2021). Estes processos podem ser visualizados na Figura 4.

**Figura 4** - Danos às células durante POEA.



**Fonte:** Adaptado de Chen et al. (2021).

Análises morfológicas de células ao longo do processo de tratamento por OEA mostram que as primeiras espécies de oxigênio reativo atacam primeiramente o envelope celular bacteriano, algo que, gradualmente, resulta em alteração de forma da célula. Posteriormente, a membrana é destruída, ocasionando a perda de permeabilidade e vazamento de potássio  $K^+$ . Assim, ao longo do procedimento de tratamento, a espessura da membrana celular vai se tornando cada vez mais fina e grupos funcionais da membrana começam a degradar-se por efeito da oxidação (CHEN *et al.*, 2021).

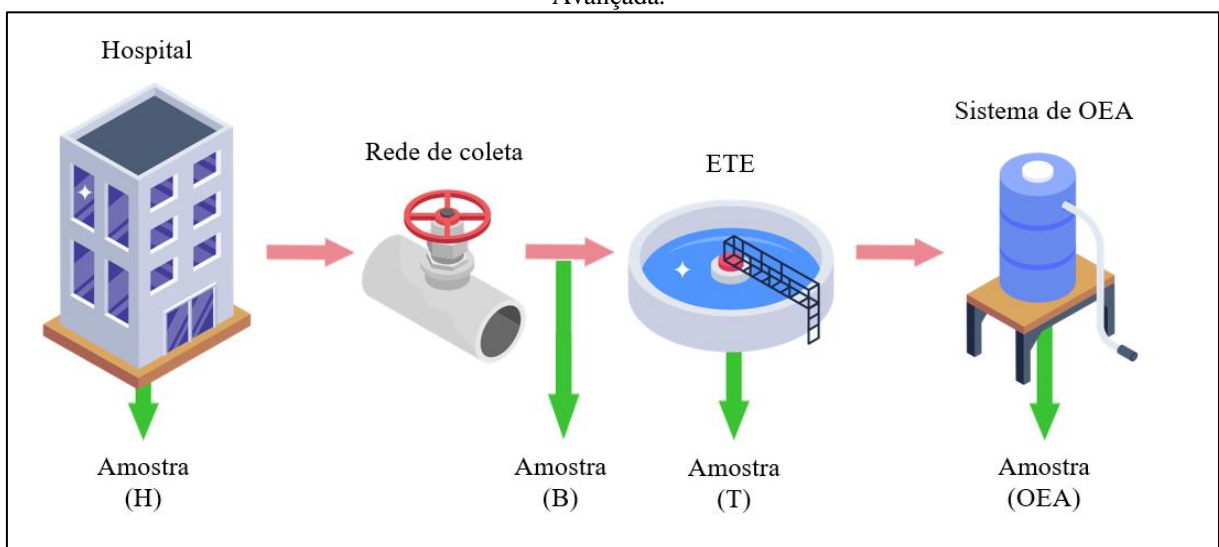
## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. COLETA DE AMOSTRAS

Para a realização deste estudo, quatro amostras foram coletadas para avaliar a presença de Enterococos e antibiótico em diferentes estágios do efluente: diretamente do ponto de despejo, antes e depois do tratamento convencional na ETE e após a aplicação do OEA como polimento. As amostras foram coletadas em frascos plásticos de 1 L, devidamente autoclavados. A amostra do Hospital (H) foi retirada no ponto de despejo do efluente hospitalar no sistema público de coleta, localizado aproximadamente em  $29^{\circ}46'30.8''S$   $51^{\circ}09'00.4''W$ , na cidade de São Leopoldo, Rio Grande do Sul. Esse efluente, após despejo na rede, é encaminhado para a ETE Vicentina (SEMAE), localizada na mesma cidade, na Av. João Alberto, 1019, com coordenadas aproximadas  $29^{\circ}46'26.0''S$   $51^{\circ}09'24.3''W$ . Na estação, foi feita a coleta de amostras antes e após o tratamento do efluente. A temperatura do ar local era em torno de  $22^{\circ}$ , variando pouco ao longo do dia – que teve chuvas leves no período inicial da manhã. As coletas foram feitas no dia 02/05/2022, no período da manhã, entre as 8h30min e 11h.

Seguido destes procedimentos, foi realizado, com o esgoto tratado da ETE (Amostra T), o tratamento terciário por OEA. Essa etapa foi realizada no mesmo dia, poucas horas após a coleta, para que não houvesse possibilidade de desvios nos resultados causados pela replicação bacteriana. Para o monitoramento do processo de tratamento avançado (OEA) ao longo do tempo, fez-se coletas com intervalo de 15 min durante 60 min. O esquema didático da amostragem é explicado na Figura 5.

**Figura 5** - Plano de amostragem, onde (H) refere-se ao Hospital; (B), ao efluente que chega a estação de tratamento (T), ao efluente tratado na ETE e (OEA), ao efluente após o tratamento por Oxidação Eletroquímica Avançada.



**Fonte:** Autoria própria do autor, com utilização de recursos gratuitos de *Flaticon*.



#### 4.2. SISTEMA DE TRATAMENTO CONVENCIONAL

O sistema de tratamento da ETE Vicentina é do tipo convencional, de reator anaeróbio seguido por aeróbio, que possui uma eficiência adotada oficial de 92,2% (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS, 2013), com vazão afluente, no dia, de aproximados 43 L/s na entrada da estação. Na Figura 6 é possível verificar a ETE por meio de algumas fotografias tiradas no dia da coleta e também os pontos de amostragem da amostra B (foto b) a amostra T (foto c).

**Figura 6** - Estação de Tratamento de Esgotos Vicentina (São Leopoldo – RS), onde: (a) fachada da entrada, (b) calha Parshall, onde foi realizada a coleta de efluente bruto, (c) local de coleta de amostras pós-tratamento e (d) vista geral da ETE.



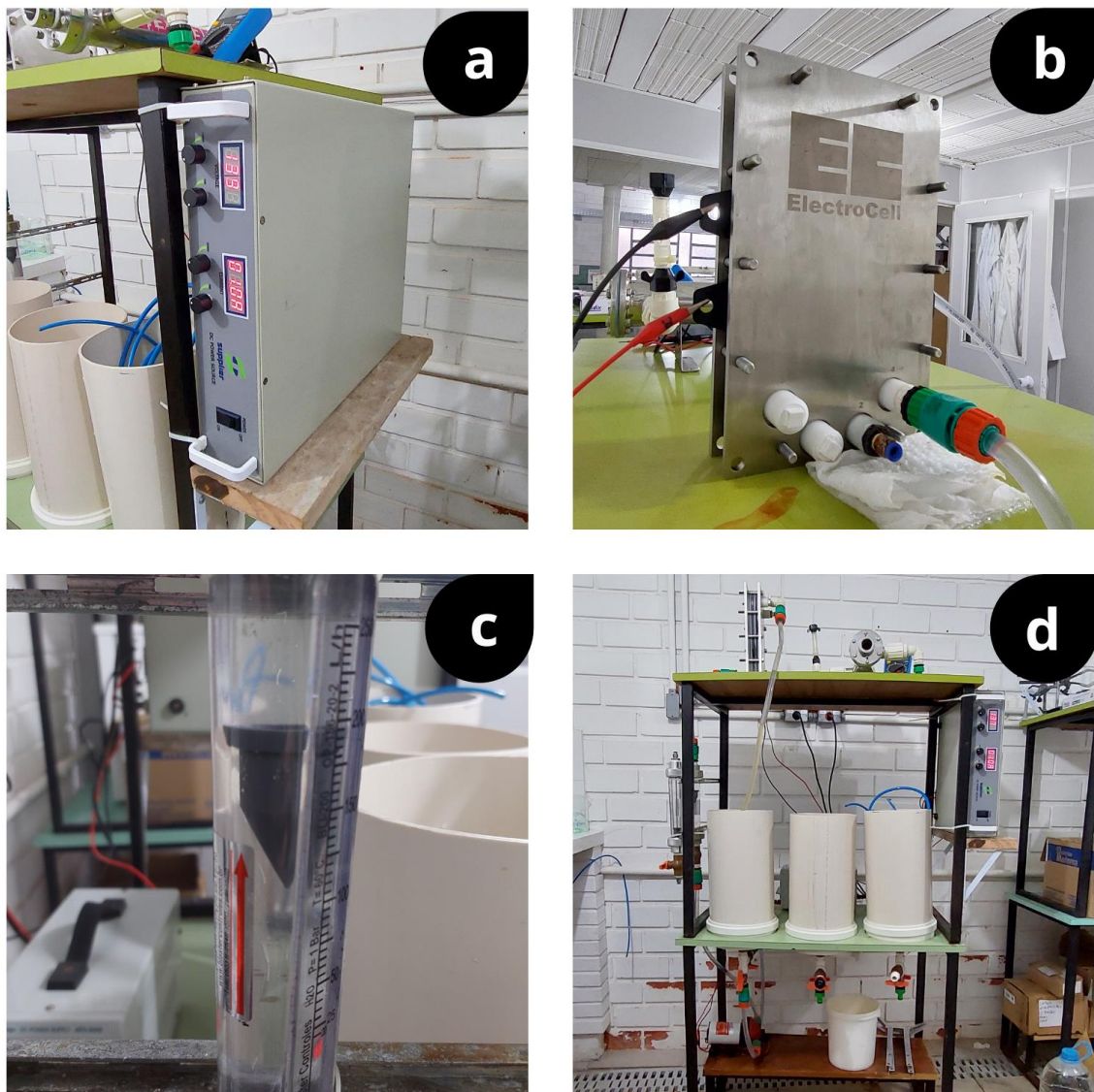
Fonte: Própria do autor.



### 4.3. SISTEMA DE TRATAMENTO AVANÇADO (OEA)

O sistema de tratamento avançado, utilizado como polimento, é um sistema em batelada que utiliza como cátodo uma chapa de grafite e como ânodo uma placa de diamante dopado com boro (DDB). O sistema piloto, desenvolvido por Wohlmuth da Silva (2018) pode ser melhor entendido através da Figura 7.

**Figura 7** - Sistema de tratamento avançado (OEA), onde: (a) fonte de corrente e potencial, (b) célula eletrolítica, (c) medidor de vazão e (d) vista geral do equipamento. O sistema é montado no IPH – UFRGS.



**Fonte:** Própria do autor.

Os ensaios foram realizados em dois momentos distintos e avaliando dois diferentes objetivos, sendo o primeiro de verificar a eficiência de remoção de *Enterococos* e, posteriormente, avaliou-se a remoção de antibiótico. Assim, foram realizados, em primeiro momento, dois ensaios, em duplicada – totalizando quatro –, em que a única variável alterada

foi a densidade de corrente ( $j$ ) elétrica aplicada no sistema. Duas bateladas foram realizadas com  $j = 1 \text{ mA/cm}^2$  e as restantes com  $j = 20 \text{ mA/cm}^2$ . Por ser um sistema fechado, fixou-se o volume a ser tratado em cada batelada em 2 L. A vazão em todos os experimentos também foi constante, fixada em 200 L/h (Figura 7 (c)). Esse experimento inicial teve como finalidade avaliar a remoção de bactérias resistentes do efluente da ETE.

Em outro momento, realizou-se experimentos com condições e metodologias similares (dois experimentos em duplicata) para a verificação da degradação do antibiótico sulfametoxazol (SMX), que foi adicionado artificialmente ao sistema. Vale destacar que toda análise microbiológica foi realizada com o efluente que não teve a adição deste fármaco.

O tempo de tratamento estipulado, para todos ensaios, foi de 60 min, com coletas previstas a cada 15 min. Assim, com as coletas realizadas ao longo do tempo de tratamento, abriu-se a possibilidade de averiguação das mudanças dos parâmetros físicos-biológicos em função do tempo.

#### 4.4. ANÁLISES

As amostras coletadas nos diferentes tempos de tratamento foram submetidas às análises de temperatura, potencial hidrogeniônico, condutividade, monitoramento da remoção do SMX por cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês HPLC) e microbiológicas.

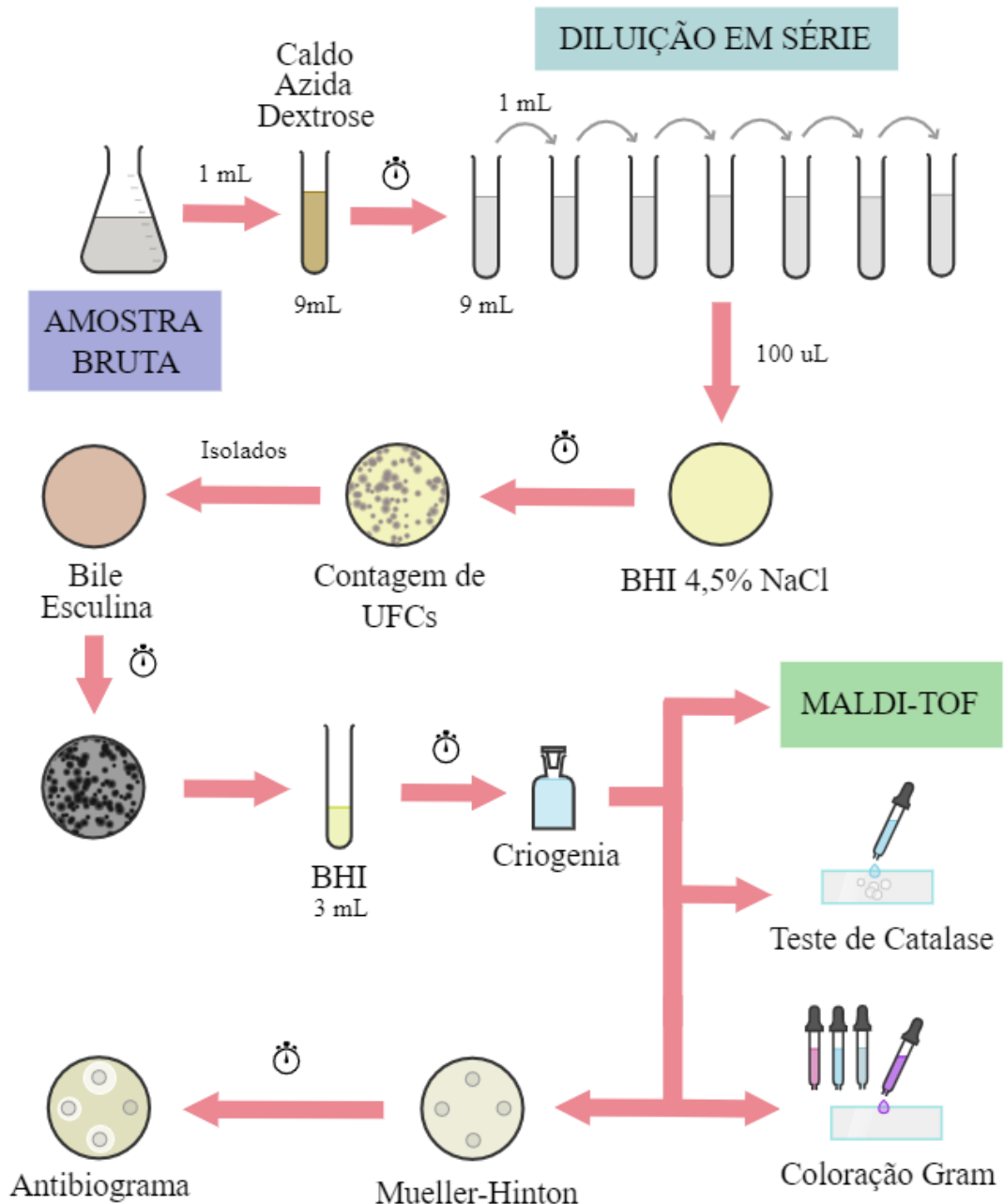
As análises de pH e condutividade foram realizadas utilizando uma sonda multiparâmetros Lutron WA-2015 previamente calibrada com os respectivos padrões de acordo com o manual do fabricante.

As análises de monitoramento da concentração do SMX foram determinadas utilizando um HPLC modelo LC20A da Shimadzu, equipado com um detector UV-VIS de arranjo de diodos (do inglês *Diode Array Detector, DAD*) modelo SPD 20AV e amostrador automático modelo SIL-20A. Para a separação do SMX foi utilizada uma coluna *Shim-pack XR ODS C18* (3,0 mm ID x 50 mm, Shimadzu). Como fase móvel A foi utilizado tampão fosfato 0,025 M (pH 2,5; 2,5 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  Merck P.A.; 0,65 mL de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  Synth P.A. 85%) e como fase móvel B foi utilizada acetonitrila (Merck, grau HPLC). O sistema foi operado em modo isocrático (50% fase móvel A e 50% fase móvel B) com vazão de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ , volume de injeção de 20  $\mu\text{L}$ , detecção no DAD em  $\lambda = 210 \text{ nm}$  e temperatura de 25 °C; resultando em um tempo de retenção de 4,53 min.

#### 4.4.1. Análises Microbiológicas

A análise microbiológica foi realizada com a utilização de meios de cultura seletivos. Para fins de entendimento, a Figura 8 traz um resumo esquemático dos procedimentos adotados para a análise microbiológica.

**Figura 8** - Esquema experimental da análise microbiológica



**Fonte:** Próprio autor.

No mesmo dia da coleta, foi colocada uma alíquota de 1 mL de cada um dos pontos de amostragem em 9 mL de Caldo Azida Dextrose, um caldo seletivo utilizado para identificação presuntiva e enumeração de enterococos em água. A presença destes microrganismos é indicada pela turvação do caldo.

Passadas as 18 h, realizou-se diluição em série com água peptonada para que, posteriormente, fosse realizada a semeadura em superfície para a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), através da deposição de 100 µL da diluição referida à placa contendo o meio de cultura. Nesse caso, o meio de cultura utilizado foi o Ágar *Brain Heart Infusion* (BHI) com concentração de 4,5 % m/v de NaCl. A concentração de sal no meio garante o crescimento seletivo de enterococos, que apresentam alta resistência à salinidade, como comentado anteriormente nesse trabalho.

Após a contagem de UFC, fez-se uma seleção aleatória de colônias isoladas nas placas de BHI, a fim de se realizar o antibiograma e a identificação de espécie por meio do MALDI-TOF.

O teste de susceptibilidade a antibióticos, chamado de antibiograma, tem como finalidade identificar a resistência bacteriana de forma econômica e prática. Esse método foi aplicado a todos os isolados de enterococos, a fim de apontar as resistências e susceptibilidades das espécies a determinados antibióticos. O padrão utilizado nesse trabalho foi a 28ª edição, datada de 2018, do documento intitulado “*Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*”, elaborado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Os enterococos isolados foram avaliados quanto ao perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos através da técnica de difusão de disco em meio Ágar Muller Hilton, como preconiza o método Kirby-Bauer. Os isolados foram testados para os seguintes antimicrobianos: Estreptomicina (300 µg), Ampicilina-AMP (10 µg), Vancomicina-VAN (30 µg), Rifampicina-RIF (5 µg), Tetraciclina-TET (30 µg), Ciprofloxacina-CIP (5 µg), Norfloxacina-NOR (10 µg), Cloranfenicol-CLO (30 µg), Nitrofurantoína-NIT (300 µg), Linezolida-LNZ (30 µg), Eritromicina-ERI (15 µg) e Gentamicina-GEN (200 µg).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. TRATAMENTO AVANÇADO DO EFLUENTE

Como mencionado anteriormente, houve dois momentos de tratamento do efluente da ETE. Primeiramente, serão apresentados os resultados de degradação do antibiótico SMX e posteriormente serão apresentados e discutidos os resultados de caráter biológico.

#### 5.1.1. Degradação de Sulfametoxazol

A degradação de antibióticos em processos avançados aplicados como polimento de efluentes sanitários é um passo importante para a diminuição de seu lançamento no ambiente, e assim, de maneira direta reduzir a possibilidade de resistência microbiana em matrizes ambientais.

Para tanto, uma concentração conhecida do antibiótico SMX de 20 mg/L foi adicionada ao efluente coletado após o decantador secundário da ETE e encaminhado ao processo de OEA. Cabe destacar, inclusive, que o SMX já detectado nas águas superficiais da região metropolitana de Porto Alegre/RS (PERIN *et al.*, 2021), portanto a discussão torna-se pertinente tendo em vista essa observação.

Observa-se na Figura 9 dois regimes distintos de degradação do SMX, a depender da densidade de corrente ( $j$ ) aplicada, 10 ou 20 mA/cm<sup>2</sup>. Wohlmuth da Silva *et al.* (2019), por meio de experimentos realizados no mesmo sistema de OEA utilizado nesse trabalho, que visavam a avaliação da degradação do fármaco atenolol, verificou que, dependendo da densidade de corrente aplicada no efluente, os meios de degradação se alteravam, levando a diferentes subprodutos inorgânicos e orgânicos.

Ademais, as diferentes densidades de corrente conferem distintas leis cinéticas. Quando aplicadas densidades baixas, pode-se considerar a reação de ordem zero, gerando boas aproximações (DA SILVA *et al.*, 2019). Para a densidade de corrente de 10 mA/cm<sup>2</sup>, seguindo a Lei de ordem zero, podemos integrar da seguinte forma, na Equação 3:

$$[SMX] = [SMX]_0 - k_z \cdot t \quad (3)$$

onde  $[SMX]$  é a concentração do antibiótico ao longo do tempo;  $[SMX]_0$  é a concentração inicial do antibiótico adicionada no sistema;  $k_z$  é a constante cinética de ordem zero e  $t$  é o tempo de tratamento.

Com base na equação 3, chegou-se a uma constante cinética de 0,012 1/min e um ajuste de  $R^2 = 0,99$ .

Já para densidades de correntes maiores, como é o caso de 20 mA/cm<sup>2</sup>, considera-se que ocorre uma reação que obedece a Lei de primeira ordem podendo ser integrada da seguinte forma, descrita na equação 4.

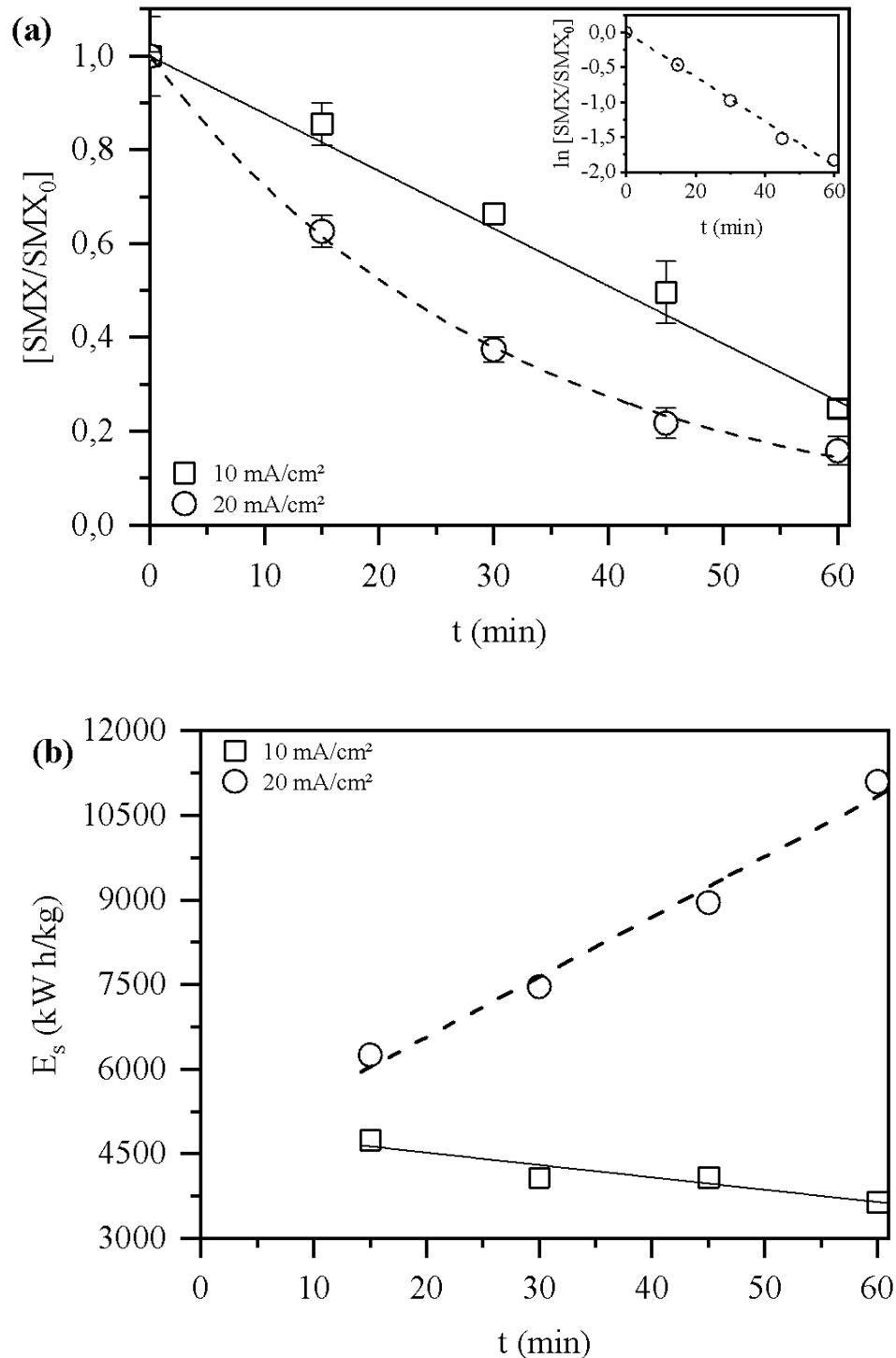
$$[SMX] = [SMX]_0 \cdot e^{-k_p \cdot t} \quad (4)$$

onde  $k_p$  é a constante cinética de primeira ordem.

Esta relação matemática pode ser confirmada por meio da linearização do sistema, de acordo com o gráfico inserido na Figura 9. Com base na equação da reta do gráfico inserido, chegou-se a uma constante cinética de 0,032 1/min e um ajuste de  $R^2 = 0,99$ . Isso significa que ao aplicar uma densidade de corrente maior, mais rápida será a degradação do SMX via radicais hidroxila, radicais sulfato e espécies de cloro geradas no ânodo (DA SILVA *et al.*, 2019).

Já na Figura 9(b) está demonstrado o consumo energético específico em kWh para degradar um quilograma de SMX. A equação utilizada para o cálculo do consumo está descrita no trabalho de Heberle et al. (HEBERLE *et al.*, 2022).

**Figura 9** - Concentração de SMX ao longo do tempo de tratamento (a) e consumo energético (b) para distintas densidades de corrente.



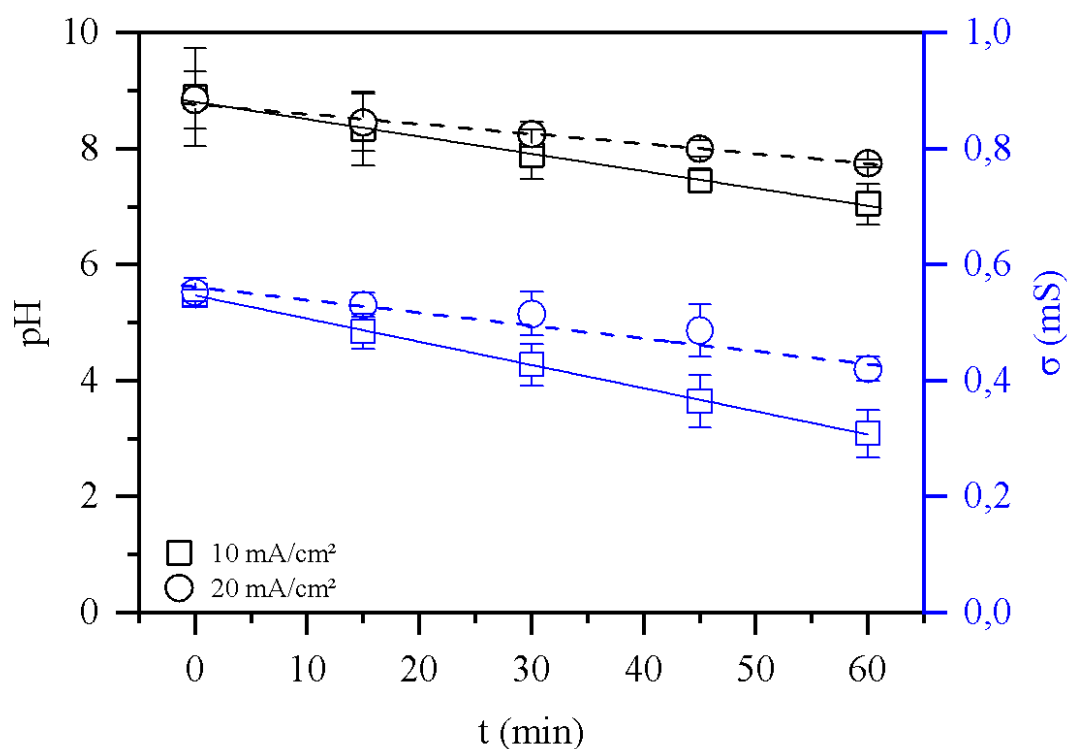
Fonte: Própria do autor.

Quando aplicado 10 mA/cm<sup>2</sup>, de acordo com Panizza et al. (2008), a eficiência do processo eletroquímico tende a ser próximo de 100%, significando que a corrente aplicada no sistema está sendo utilizada na oxidação do SMX, tendendo a apresentar menor consumo energético ao longo do tempo. Por outro lado, quando aplicado 20 mA/cm<sup>2</sup>, os compostos

orgânicos geralmente são completamente transformados em gás carbônico, configurando degradação rápida. Entretanto, reações secundárias (como evolução de oxigênio) se iniciam, resultando em uma diminuição de eficiência geral, causando maior consumo energético – algo que, do ponto de vista de aplicabilidade da tecnologia, é prejudicial.

Para ambas as densidades de corrente aplicadas, observou-se diminuição de valores de pH e condutividade. O decaimento dos valores absolutos de pH pode estar associado ao desbalanço das reações eletroquímicas, que acarreta acúmulo de  $H^+$  no meio. Já a diminuição da condutividade pode estar associada a degradação de matéria orgânica dissolvida que possui carga superficial – que pode exercer a função de transportador de carga. Pode ter havido também consumo de íons sulfato e cloreto na geração de oxidantes utilizados para degradar o SMX. A Figura 10 traz a relação destas variáveis em função do tempo.

**Figura 10** - Valores de pH e condutividade ( $\sigma$ ) ao longo do tratamento de efluente por OEA.



Fonte: Própria do autor.

### 5.1.2. Inativação Microbiológica

Conforme comentado, houve dois momentos de tratamento do efluente da ETE. Em primeiro momento foram discutidos os resultados de degradação do SMX, e agora, serão discutidos os resultados referentes à inativação de microrganismos. Espera-se, que essa



inativação seja elevada, visto a intensidade de diferença de potencial e corrente elétrica que foram propostas para a realização do experimento. Experimentos anteriores, como os apresentados por Chen et al. (2021) fundamentam a hipótese. Os regimes primários e secundários de desinfecção, por meio de OEA, incluem a destruição da membrana celular, enzimas, parede celular e material genético intracelular, ou seja, há uma degradação conjunta de todos os fatores bioquímicos essenciais para a vida bacteriana, garantindo alta eficiência para o processo.

Diferentemente do processo visando a degradação do SMX, onde é possível quantificar sua concentração no sistema, e assim, estimar o consumo energético em kWh para remover 1 kg de SMX; para a inativação microbiológica, o consumo energético global do sistema foi obtido através do produto do tempo de duração do experimento, diferença de potencial e corrente elétrica aplicados (dados na Tabela 1). Para a diferença de potencial, fez-se uma média dos valores averiguados no intervalo do experimento de 60 min, e os resultados obtidos para  $j = 10$  e  $20 \text{ mA/cm}^2$  foram de  $0,013 \pm 0,0001$  e  $0,027 \pm 0,0006 \text{ kW}$ , respectivamente.

**Tabela 1** - Valores de DDP, temperatura e pH ao longo do tratamento de efluente por OEA.

<b>Corrente Aplicada = 10 mA/cm<sup>2</sup> - Experimento 1</b>						
t (min)	Duplicata 1			Duplicata 2		
	T (°C)	pH	ddp (V)	T (°C)	pH	ddp (V)
0	22,9	7,2	13	22,0	8,14	13
15	23,1	7,2	14	22,0	8,16	13
30	21,9	7,62	14	22,0	8,13	13
45	21,9	7,65	13	22,1	8,03	13
60	27,1	7,26	13	22,0	8,02	13
<b>Corrente Aplicada = 20 mA/cm<sup>2</sup> - Experimento 2</b>						
t (min)	Duplicata 1			Duplicata 2		
	T (°C)	pH	ddp (V)	T (°C)	pH	ddp (V)
0	22,1	7,82	14	22,2	8,39	13
15	22,1	8,04	14	22,1	8,14	13
30	22,0	7,92	12	22,1	8,00	13
45	22,0	7,70	13	22,1	7,60	13
60	22,0	7,25	14	22,2	6,94	13

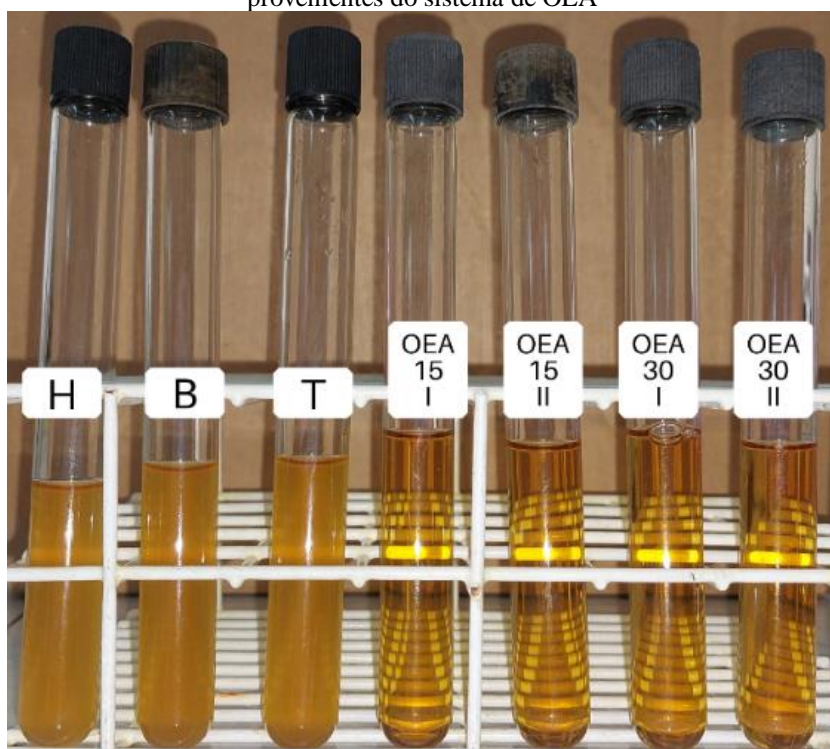
**Fonte:** Próprio autor.

### 5.1.2.1 Unidades Formadoras de Colônias

Após a inoculação da amostra em Caldo Azida Destroze, e passadas as 18 h em estufa de  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ , verificou-se a turvação dos tubos. Os meios não turvaram para as amostras

provenientes do sistema de tratamento avançado. Para se ter a certeza de que não havia presença de microrganismos nas amostras, optou-se por esperar mais 18 h em 37 °C. Mesmo assim, os caldos não turvaram. A Figura 11 exemplifica o ocorrido, o que indica a não presença de bactérias viáveis no caldo. Passadas as 18h para os tubos turvados e 36 h para os tubos translúcidos, realizou-se diluição em série das amostras, fundamental para a realização da contagem de UFCs, feita pelo método de semeadura em superfície, nesse experimento em ágar BHI 4,5 % m/v de NaCl.

**Figura 11** - Caldo Azida Dextrose após tempo de crescimento, onde todas as amostras translúcidas são provenientes do sistema de OEA



**Fonte:** Própria do autor.

Passada a realização da semeadura em superfície, pode-se, após 18h, realizar a contagem. Sendo assim, tem-se os valores de UFCs na Tabela 2. A contagem foi realizada em duplicata para cada ponto. Para os pontos OEA 45-I e OEA 45-II não foi realizada a semeadura em BHI, visto baixa possibilidade de presença de bactérias após tratamento prolongado.

**Tabela 2** - Contagem de UFCs.

<b>Amostra</b>	<b>Turvação</b>	<b>UFC</b>
Hospital (H)	Sim	$5,21 \times 10^6$
Bruto (B)	Sim	$8,6 \times 10^6$
Tratado (T)	Sim	$1 \times 10^6$
Oxidação Eletroquímica Avançada 15min de tratamento com 1A (OEA 15-I)	Não	Zero
Oxidação Eletroquímica Avançada 30min de tratamento com 1A (OEA 30-I)	Não	Zero
Oxidação Eletroquímica Avançada 45min de tratamento com 1A (OEA 45-I)	Não	-
Oxidação Eletroquímica Avançada 15min de tratamento com 2A (OEA 15-II)	Não	Zero
Oxidação Eletroquímica Avançada 30min de tratamento com 2A (OEA 30-II)	Não	Zero
Oxidação Eletroquímica Avançada 45min de tratamento com 2A (OEA 45-II)	Não	-

**Fonte:** Próprio autor.

A ausência de bactérias nas amostras provenientes do processo de oxidação eletroquímica avançada sugere alta eficiência. Esses resultados estão de acordo com o verificado na análise de coliformes totais, realizada através da tecnologia IDEXX Quanti-Tray 2000<sup>®</sup>. Os resultados obtidos de número mais provável (NMP) da análise das amostras podem ser verificados na tabela 3.

**Tabela 3** - NMP para as amostras, utilizando a tecnologia IDEXX Quanti-Tray 2000<sup>®</sup>.

<b>Amostra</b>	<b>NMP/100mL</b>
Hospital (H)	> 2419,6
Bruto (B)	> 2419,6
Tratado (T)	> 2419,6
Oxidação Eletroquímica Avançada 60min de tratamento com 1A (OEA 60-I)	< 1
Oxidação Eletroquímica Avançada 60min de tratamento com 2A (OEA 60-II)	< 1

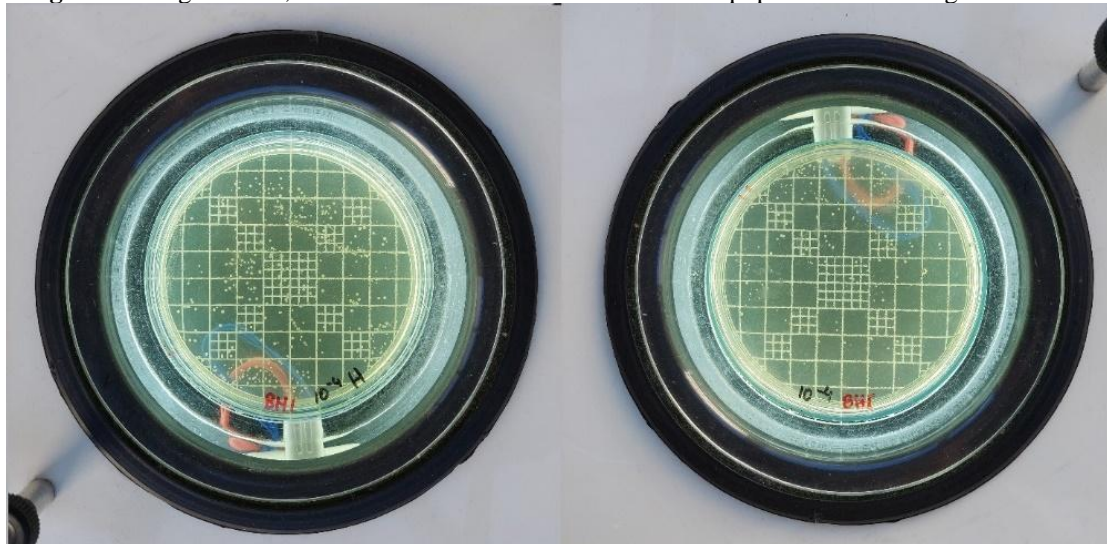
**Fonte:** Próprio autor.

### **5.1.2.2. Seleção de isolados e identificação por MALDI-TOF**

A seleção de colônias isoladas foi realizada aleatoriamente, buscando obter diferentes morfologias de colônia, a fim de se tentar alcançar o maior número de espécies distintas. As colônias foram retiradas diretamente do ágar BHI utilizado para a contagem de UFCs

(Figura 12) e logo foram semeadas em ágar Bile Esculina. No total, foram selecionadas 56 colônias bacterianas.

**Figura 12** - Ágar BHI 4,5% NaCl com colônias bacterianas em equipamento de contagem de UFCs.



**Fonte:** Próprio autor.

A passagem das colônias para a Bile Esculina permite melhor seleção das bactérias. O crescimento em ágar BHI 4,5% NaCl e posterior escurecimento do meio no ágar Bile Esculina garante boas chances de que a colônia em questão possa pertencer ao gênero enterococos.

As colônias que apresentaram capacidade de hidrolisar o glicosídeo esculina em esculetina e dextrose, causando a formação de complexo castanho-escuro – que contém sal de ferro, foram encaminhadas para análise em MALDI-TOF, para a identificação, se possível, da espécie bacteriana em questão. Concomitantemente, o teste de catalase e Coloração Gram (Anexo A) foi realizada para os isolados. Os isolados que não se mostraram gram-positivos e/ou apresentaram resultado positivo para o teste catalase foram descartados. A identificação obtida para os isolados de enterococos pode ser verificada na Tabela 4.

**Tabela 4** - Identificação das espécies ou dos gêneros dos isolados.

Isolado	Proveniência	Organismo	Descrição
3	Hospital	<i>Enterococcus faecium</i>	Provável identificação de gênero.
5	Hospital	<i>Enterococcus hirae</i>	Provável identificação de gênero.
7	Hospital	<i>Enterococcus hirae</i>	Provável identificação de gênero.
10	Hospital	<i>Enterococcus hirae</i>	Identificação segura do gênero e provável identificação de espécie.
11	Hospital	<i>Enterococcus hirae</i>	Provável identificação de gênero.
12	Hospital	<i>Enterococcus hirae</i>	Identificação segura do gênero e provável identificação de espécie.
16	Hospital	<i>Enterococcus hirae</i>	Identificação segura do gênero e provável identificação de espécie.
17	Hospital	<i>Enterococcus faecium</i>	Identificação segura do gênero e provável identificação de espécie.
18	Hospital	<i>Enterococcus hirae</i>	Provável identificação de gênero.
29	Bruto	<i>Enterococcus faecium</i>	Identificação segura do gênero e provável identificação de espécie.
30	Bruto	<i>Enterococcus hirae</i>	Alta probabilidade de identificação de espécie.
53	Tratado	<i>Enterococcus hirae</i>	Alta probabilidade de identificação de espécie.
54	Tratado	<i>Enterococcus hirae</i>	Alta probabilidade de identificação de espécie.
55	Tratado	<i>Enterococcus hirae</i>	Alta probabilidade de identificação de espécie.
56	Tratado	<i>Enterococcus hirae</i>	Identificação segura do gênero e provável identificação de espécie.

**Fonte:** Próprio autor.

Especula-se que a prevalência de espécies *Enterococcus hirae* deve-se ao fato de ter havido chuvas anteriores próximas temporalmente ao momento da coleta, tendo em vista que esse organismo habita o solo.

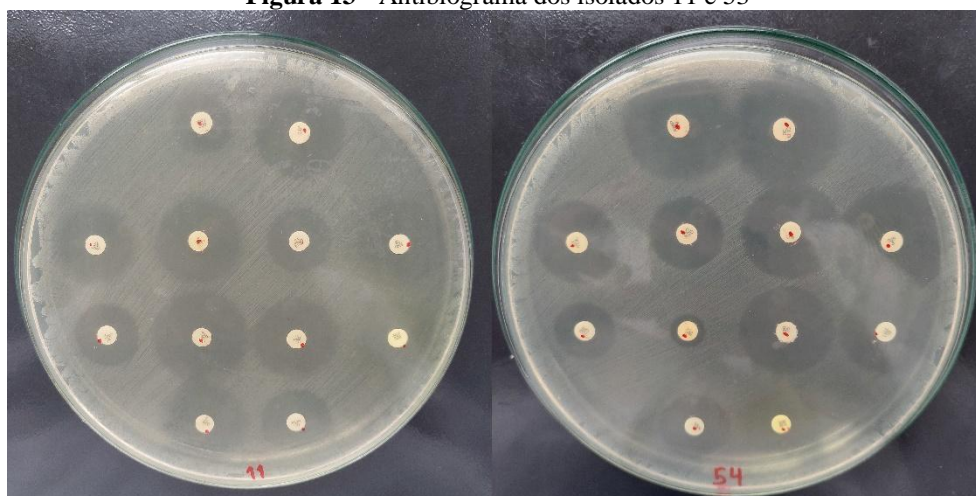
### 5.1.2.3. Antibiograma e análise de resistência

Os antibióticos utilizados para a análise do perfil de resistência foram: Ampicilina (AMP), Ciprofloxacina (CIP), Clororanfenicol (CLO), Eritromicina (ERI), Estreptomicina (EST), Gentamicina (GEN), Linezolida (LNZ), Nitrofuratoína (NIT), Norfloxacin (NOR), Rifampicina (RIF), Tetraciclina (TET) e Vancomicina (VAN). As medidas, em milímetros (mm) dos halos formados pelos discos de antibióticos são listados na Tabela 5. A figura 13 traz imagem de duas placas de antibiogramas realizados, para fins de exemplificação.

**Tabela 5** - Diâmetro dos halos formados para cada antibiótico.

Isolado	Antibiótico e respectiva diâmetro do halo formado (mm)											
	AMP	CIP	CLO	ERI	EST	GEN	LNZ	NIT	NOR	RIF	TET	VAN
3	30	23	32	12	25	26	26	24	25	34	34	26
5	29	29	26	30	17	19	23	22	26	33	27	23
7	31	26	26	26	17	19	24	21	20	21	27	22
10	35	25	31	30	22	21	30	19	21	22	34	24
11	30	26	26	27	15	18	22	22	23	21	23	19
12	36	28	27	28	17	20	26	24	24	22	28	22
16	31	25	26	26	16	18	23	24	23	26	25	21
17	26	27	30	11	22	24	30	23	24	39	29	22
18	28	29	30	21	16	22	25	19	27	31	28	21
29	30	24	32	18	22	25	27	25	21	-	27	22
30	35	30	28	29	18	20	25	21	26	18	09	22
53	30	28	27	28	19	20	25	22	23	33	08	21
54	29	29	30	29	19	21	26	22	24	32	09	22
55	32	28	32	30	18	20	25	22	26	36	09	21
56	30	23	29	28	18	21	23	16	24	32	10	21

Fonte: Próprio autor.

**Figura 13** - Antibiograma dos isolados 11 e 53

Fonte: Próprio autor.

A interpretação destes valores, conforme CSLI e BrCAST, classificando a susceptibilidade dos isolados estão apresentados na Tabela 6. A LNZ não consta no CSLI; portanto, os valores de ponto de corte para este antibiótico citado foram retirados do BrCAST.

**Tabela 6** - Susceptibilidade a antimicrobianos dos isolados.

Isolado	Antibiótico e respectiva susceptibilidade											
	AMP	CIP	CLO	ERI	EST	GEN	LNZ	NIT	NOR	RIF	TET	VAN
3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
7	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
10	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
11	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
12	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
16	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
17	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
18	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
29	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-*	S	S
30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
53	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
54	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
55	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
56	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R	S

Onde: R = Resistente, I = Resistência intermediária e S = susceptível. \*Não foi possível a realização de leitura confiável.

**Fonte:** Próprio autor.

Verifica-se, portanto, que há presença de bactérias resistentes à TET no sistema da ETE Vicentina. Tal resistência ao fármaco já foi averiguada em populações de enterococos em outras ETEs no Brasil (DA SILVA *et al.*, 2006).

Deve-se atentar, também, ao fato de que não se pode afirmar que a resistência encontrada para os organismos isolados da estação de tratamento é proveniente de cepas hospitalares. Entretanto, pode-se inferir que o ambiente da ETE – caracterizado, dentre outras variáveis, pelo alto tempo de residência e elevada concentração de microrganismos – favorece a troca de genes de resistência entre as espécies e comunidades microbianas no local, acarretando em consequente facilidade de aquisição desses genes pelos microrganismos. Essa observação põe em destaque a necessidade da realização de um tratamento posterior ao convencional, visto que esses microrganismos podem apresentar potencial risco à saúde humana.

## 6. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, foi possível verificar uma eficiência de remoção de aproximados 80% para SMX, e inativação total do organismo sentinela avaliado – Enterococos com o uso de oxidação eletroquímica avançada como polimento ao tratamento convencional da ETE. As condições que tiveram melhores resultados, pensando em gasto energético, foram: 60 min 10 mA/cm<sup>2</sup>.

Observou-se ainda, que o tratamento convencional de ETE não possui a capacidade de remover por completo a carga bacteriana do esgoto – bem como as bactérias resistentes. Portanto, a tecnologia apresentada nesse trabalho mostra-se, como uma alternativa de remoção completa de microrganismos do efluente.

Ademais, sua versatilidade e capacidade de degradação de diversos fármacos atestam a viabilidade de implementação desses sistemas eletroquímicos avançados em localidades com disposição frequente de efluentes que contenham medicamentos e bactérias patogênicas, com possível traços de resistência – como é o caso de hospitais. A utilização do enterococos como organismo sentinela possibilita afirmar, com teor maior de certeza, que boa parte das bactérias são inativadas durante o processo de OEA, visto que este microrganismo apresenta alta resistência a estressores ambientais.

O sistema mostrou-se eficaz na inativação de microrganismos - até mesmo na aplicação da menor densidade de corrente estudada, de 10 mA/cm<sup>2</sup>, por um período curto, de somente 15 minutos. Essas observações podem indicar um baixo gasto com energia elétrica que o sistema pode vir a demandar para o tratamento. Assim, o custo da tecnologia pode justificar-se devido sua alta eficiência de degradação de fármacos e da inativação de microrganismos.



## 7. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. **RELATÓRIO DE ESGOTAMENTO SANITÁRIO MUNICIPAL DE SÃO LEOPOLDO.** , 2013. Disponível em: Acesso em: 11 jun. 2022.

ANDRADE, Leonardo Capeleto de *et al.* Lago Guaíba: uma análise histórico-cultural da poluição hídrica em Porto Alegre, RS, Brasil. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, [s. l.], v. 24, n. 2, p. 229–237, 2019.

ANDRADE, Rodrigo da Rocha; GIROLDO, Danilo. Limnological characterisation and phytoplankton seasonal variation in a subtropical shallow lake (Guaiba Lake, Brazil): a long-term study. **Acta Limnologica Brasiliensia**, [s. l.], v. 26, n. 4, p. 442–456, 2014.

ARSAND, Juliana Bazzan *et al.* Presence of antibiotic resistance genes and its association with antibiotic occurrence in Dilúvio River in southern Brazil. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 738, p. 139781, 2020.

ARSAND, Juliana Bazzan *et al.* Wide-Scope Determination of Pharmaceuticals and Pesticides in Water Samples: Qualitative and Confirmatory Screening Method Using LC-qTOF-MS. **Water, Air, & Soil Pollution**, [s. l.], v. 229, n. 12, p. 399, 2018.

BILA, Daniele Maia; DEZOTTI, Márcia. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, [s. l.], v. 26, n. 4, p. 523–530, 2003.

BUELOW, Elena; PLOY, Marie-Cecile; DAGOT, Christophe. Role of pollution on the selection of antibiotic resistance and bacterial pathogens in the environment. **Current Opinion in Microbiology**, [s. l.], v. 64, p. 117–124, 2021.

BYAPPANAHALLI, Muruleedhara N. *et al.* Enterococci in the Environment. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, [s. l.], v. 76, n. 4, p. 685–706, 2012.

CHEN, Yi-di *et al.* Advanced oxidation processes for water disinfection: Features, mechanisms and prospects. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 409, p. 128207, 2021.

CHEN, Lei *et al.* Inactivation of antibiotic-resistant bacteria and antibiotic resistance genes by electrochemical oxidation/electro-Fenton process. **Water Science and Technology**, [s. l.], v. 81, n. 10, p. 2221–2231, 2020.

CLARA, M. *et al.* The solids retention time—a suitable design parameter to evaluate the capacity of wastewater treatment plants to remove micropollutants. **Water Research**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 97–106, 2005.

COMNINELLIS, Christos. Electrocatalysis in the electrochemical conversion/combustion of organic pollutants for waste water treatment. **Electrochimica Acta**, [s. l.], v. 39, n. 11–12, p. 1857–1862, 1994.

DA COSTA, Anderson Luiz Pena; JUNIOR, Antonio Carlos Souza Silva. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.

DA SILVA, Miguel Ferreira *et al.* Antibiotic resistance of enterococci and related bacteria in an urban wastewater treatment plant: Antibiotic resistance of enterococci in wastewater. **FEMS Microbiology Ecology**, [s. l.], v. 55, n. 2, p. 322–329, 2006.

DA SILVA, Salatiel Wohlmuth *et al.* Electrochemical advanced oxidation of Atenolol at Nb/BDD thin film anode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 844, p. 27–33, 2019.

DE BRITO, Guilherme Borges; TREVISAN, Márcio. O uso indevido de antibióticos e o eminente risco de resistência bacteriana. **Revista Artigos. Com**, v. 30, p. e7902-e7902, 2021.

DE OLIVEIRA, Ana Julia Fernandes Cardoso; WATANABE PINHATA, Juliana Maira. Antimicrobial resistance and species composition of *Enterococcus* spp. isolated from waters and sands of marine recreational beaches in Southeastern Brazil. **Water Research**, [s. l.], v. 42, n. 8–9, p. 2242–2250, 2008.

FATTA-KASSINOS, Despo; MERIC, Sureyya; NIKOLAOU, Anastasia. Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 399, n. 1, p. 251–275, 2011.

FRANZ, Charles M.A.P. *et al.* Enterococci as probiotics and their implications in food safety. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 151, n. 2, p. 125–140, 2011.

FRYDA, M. *et al.* Applications of DIACHEM<sup>®</sup> Electrodes in Electrolytic Water Treatment. **The Electrochemical Society Interface**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 40–44, 2003.

FUENTEFRIA, Daiane Bopp *et al.* *Pseudomonas aeruginosa*: disseminação de resistência antimicrobiana em efluente hospitalar e água superficial. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, p. 470-473, 2008.

FUJIOKA, R S *et al.* Effect of sunlight on survival of indicator bacteria in seawater. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 41, n. 3, p. 690–696, 1981.

- GOGOI, Anindita *et al.* Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review. **Groundwater for Sustainable Development**, [s. l.], v. 6, p. 169–180, 2018.
- GOULD, Ian M.; BAL, Abhijit M. New antibiotic agents in the pipeline and how they can help overcome microbial resistance. **Virulence**, v. 4, n. 2, p. 185-191, 2013.
- HARDIE, J.M.; WHILEY, R.A. Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. **Journal of Applied Microbiology**, [s. l.], v. 83, n. S1, p. 1S-11S, 1997.
- HEBERLE, Alan Nelson Arenhart *et al.* Evaluation of an electrochemical membrane reactor for the removal of  $\beta$ -blocker compound from water. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 47, p. 102830, 2022.
- JJEMBA, Patrick K. Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s. l.], v. 63, n. 1, p. 113–130, 2006.
- JOBIN, Giordano. **DISPERSÃO DE POLUENTES: SIMULAÇÃO NUMÉRICA DO LAGO GUAÍBA**. 2012. 67 f. - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/63189>. Acesso em: 24 jan. 2022.
- JOHNSON, Cydney N. *et al.* Let Me Upgrade You: Impact of Mobile Genetic Elements on Enterococcal Adaptation and Evolution. **Journal of Bacteriology**, [s. l.], v. 203, n. 21, p. e00177-21, 2021.
- JUTKINA, J. *et al.* Antibiotics and common antibacterial biocides stimulate horizontal transfer of resistance at low concentrations. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 616–617, p. 172–178, 2018.
- KÖCK-SCHULMEYER, Marianne *et al.* Occurrence and behavior of pesticides in wastewater treatment plants and their environmental impact. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 458–460, p. 466–476, 2013.
- MACHADO, Kelly C. *et al.* A preliminary nationwide survey of the presence of emerging contaminants in drinking and source waters in Brazil. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 572, p. 138–146, 2016.

MARTÍNEZ-HUITLE, Carlos A.; FERRO, Sergio. Electrochemical oxidation of organic pollutants for the wastewater treatment: direct and indirect processes. **Chem. Soc. Rev.**, [s. l.], v. 35, n. 12, p. 1324–1340, 2006.

MARTINS DA COSTA, Paulo; VAZ-PIRES, Paulo; BERNARDO, Fernando. Antimicrobial resistance in *Enterococcus* spp. isolated in inflow, effluent and sludge from municipal sewage water treatment plants. **Water Research**, [s. l.], v. 40, n. 8, p. 1735–1740, 2006.

MENA, Perozo *et al.* Resistencia a Vancomicina en Cepas de *Enterococcus faecium* Aisladas en un Hospital Universitario. [s. l.], p. 11, 2011.

MURRAY, Christopher JL *et al.* Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, [s. l.], p. S0140673621027240, 2022.

MURRAY, B E. The life and times of the *Enterococcus*. **ASM Journals: Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 3, p. 20, 1990.

PANIZZA, Marco; CERISOLA, Giacomo. Direct And Mediated Anodic Oxidation of Organic Pollutants. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 109, n. 12, p. 6541–6569, 2009.

PERIN, Maurício *et al.* Pharmaceuticals, pesticides and metals/metalloids in Lake Guaíba in Southern Brazil: Spatial and temporal evaluation and a chemometrics approach. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 793, p. 148561, 2021.

POSSAVATZ, Juliana *et al.* Resíduos de pesticidas em sedimento de fundo de rio na Bacia Hidrográfica do Rio Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 83–96, 2014.

RAJASEKHAR, Bokam *et al.* Comprehensive treatment of urban wastewaters using electrochemical advanced oxidation process. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 266, p. 110469, 2020.

RIBOLDI, Gustavo Pelicioli *et al.* Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus* spp isolated from food in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 125–128, 2009.

RODGERS, Kiri *et al.* Can the legacy of industrial pollution influence antimicrobial resistance in estuarine sediments?. **Environmental Chemistry Letters**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 595–607, 2019.

SCHNOOR, Jerald L. Re-Emergence of Emerging Contaminants. **Environmental Science & Technology**, [s. l.], v. 48, n. 19, p. 11019–11020, 2014.

SILVA, Thaisla Cristiane Borella da. Participação das estações de tratamento de esgoto na disseminação de genes de resistência. 2020.

SINTON, L W; DAVIES-COLLEY, R J; BELL, R G. Inactivation of enterococci and fecal coliforms from sewage and meatworks effluents in seawater chambers. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 60, n. 6, p. 2040–2048, 1994.

SIRÉS, Ignasi *et al.* Electrochemical advanced oxidation processes: today and tomorrow. A review. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 21, n. 14, p. 8336–8367, 2014.

TREE, Julia A.; ADAMS, Martin R.; LEES, David N. Chlorination of Indicator Bacteria and Viruses in Primary Sewage Effluent. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 69, n. 4, p. 2038–2043, 2003.

TURUSOV, Vladimir; RAKITSKY, Valery; TOMATIS, Lorenzo. Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT): ubiquity, persistence, and risks. **Environmental Health Perspectives**, [s. l.], v. 110, n. 2, p. 125–128, 2002.

TYRRELL, S; RIPPEY, S.; WATKINS, W. Inactivation of bacterial and viral indicators in secondary sewage effluents, using chlorine and ozone. **Water Research**, [s. l.], v. 29, n. 11, p. 2483–2490, 1995.

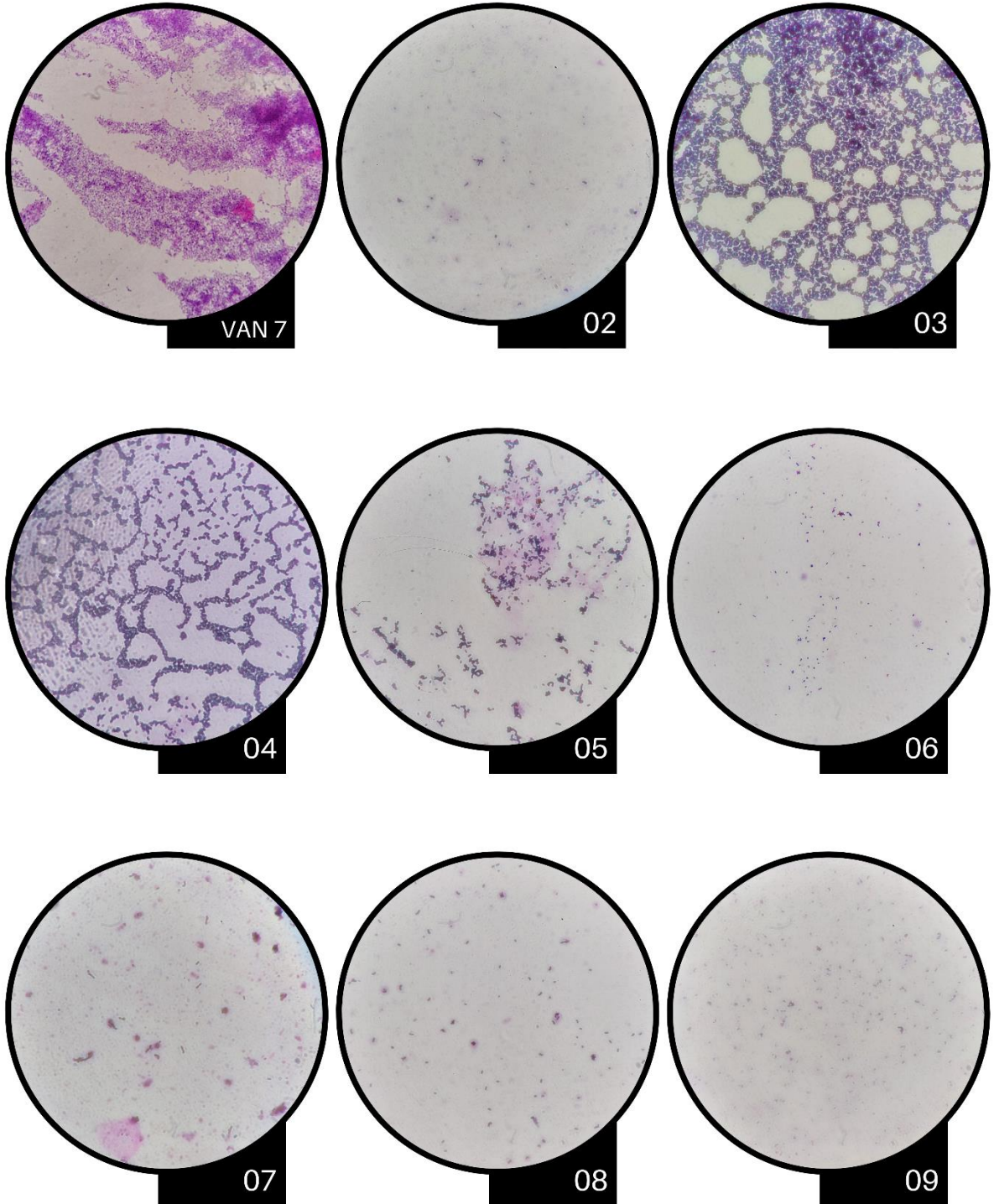
VON SPERLING, Marcos. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. Editora UFMG, 1996.

VON WINTERSDORFF, Christian J. H. *et al.* Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 7, 2016. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2016.00173/abstract>. Acesso em: 24 jan. 2022.

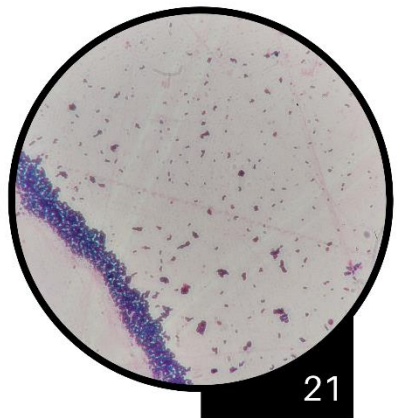
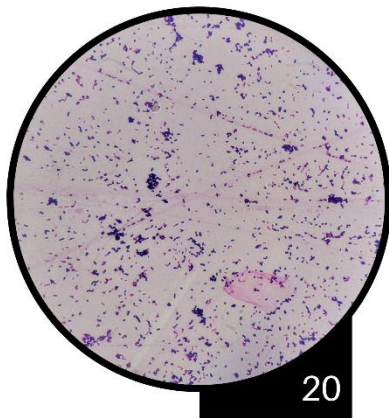
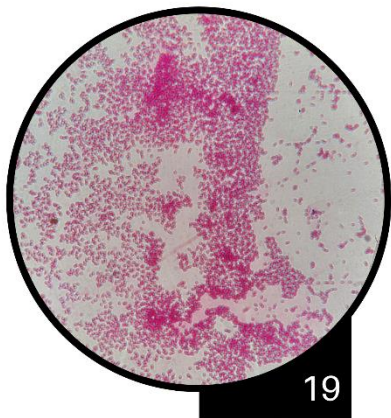
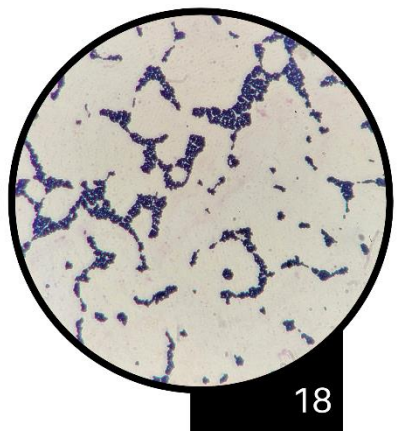
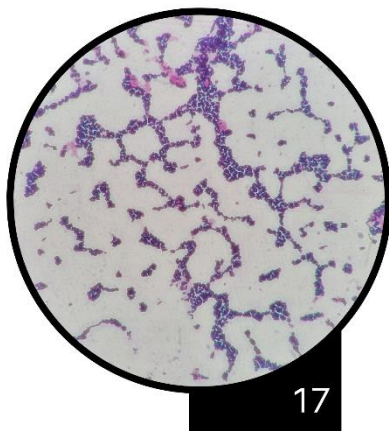
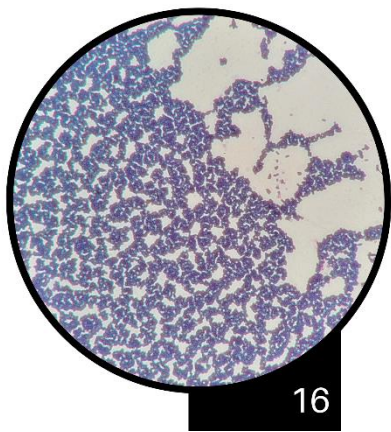
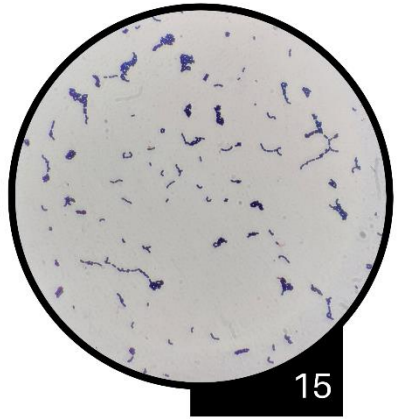
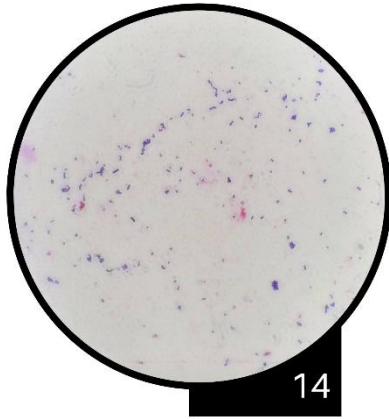
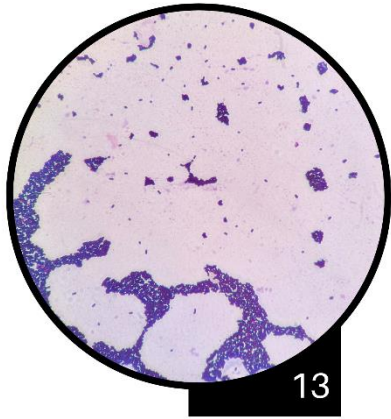
WANG, Yue *et al.* Non-antibiotic pharmaceuticals enhance the transmission of exogenous antibiotic resistance genes through bacterial transformation. **The ISME Journal**, [s. l.], v. 14, n. 8, p. 2179–2196, 2020.

WOHLMUTH DA SILVA, Salatiel. **TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS CONTAMINADAS COM POLUENTES ORGÂNICOS EMERGENTES UTILIZANDO PROCESSOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO**. 2018. - Universitat Politècnica de València, Valencia (Spain), 2018. Disponível em: <https://riunet.upv.es/handle/10251/107958>. Acesso em: 25 jan. 2022.

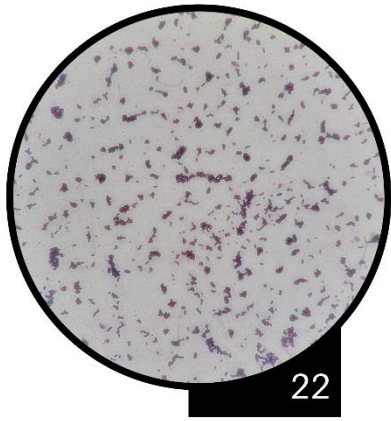
**ANEXO A – COLORAÇÃO GRAM DOS ISOLADOS**



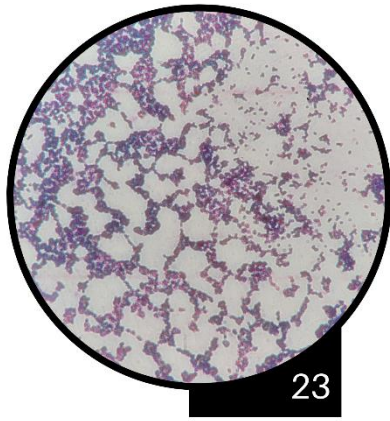




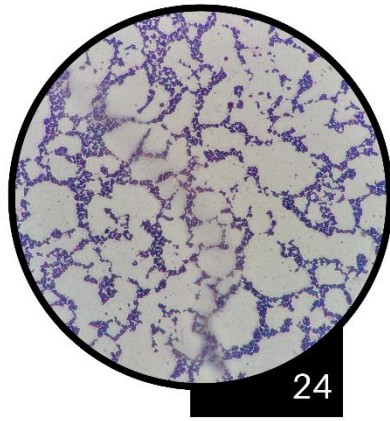




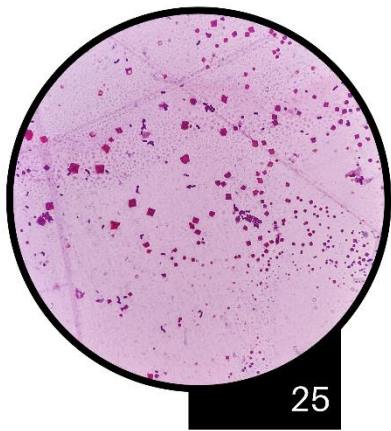
22



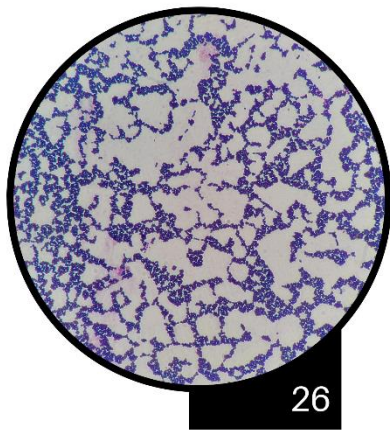
23



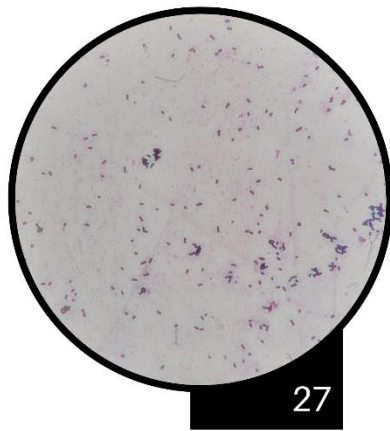
24



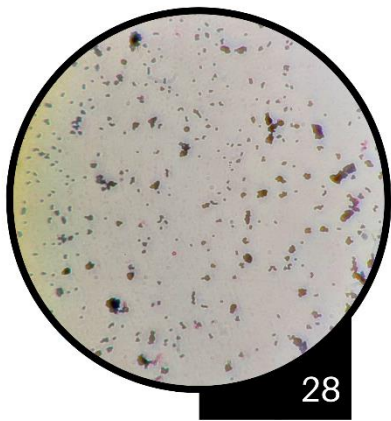
25



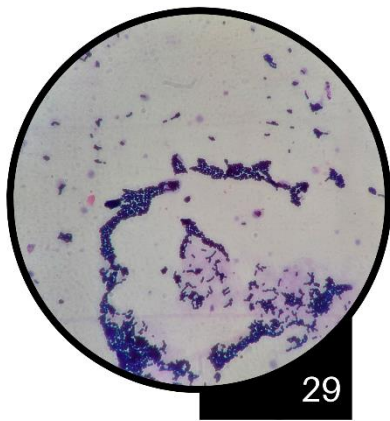
26



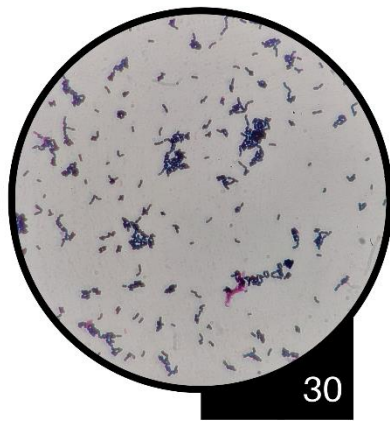
27



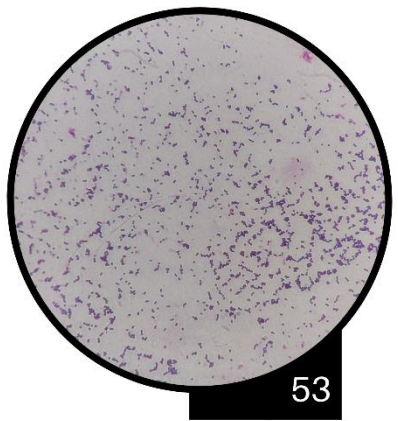
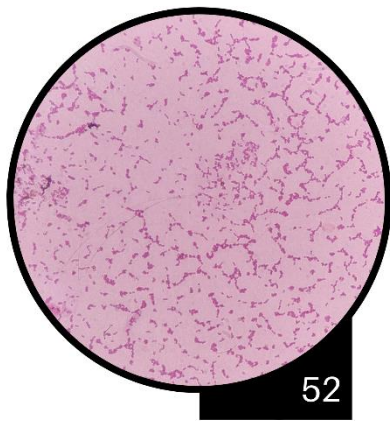
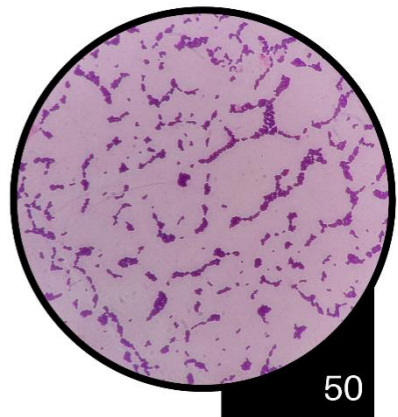
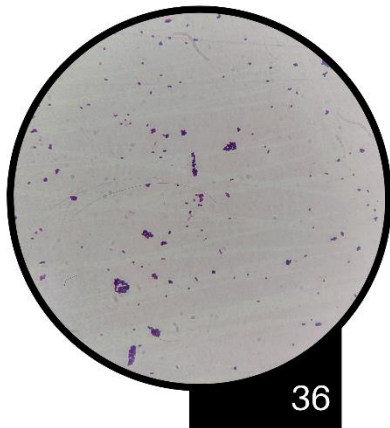
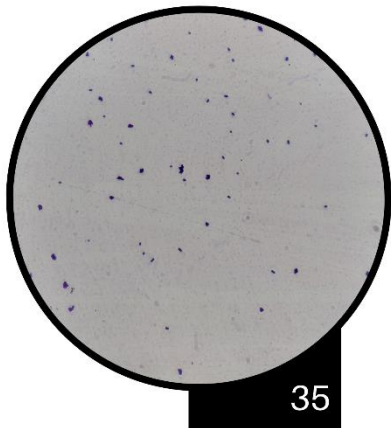
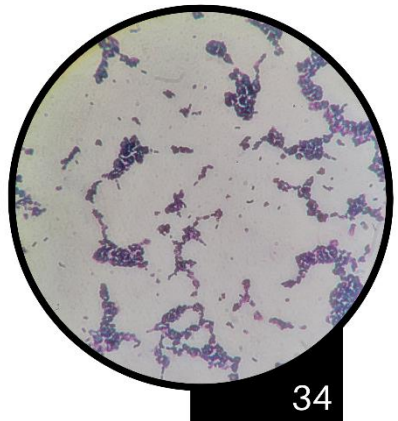
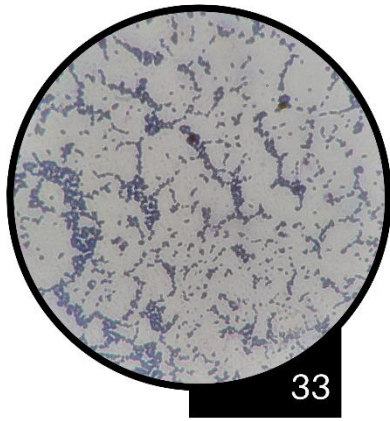
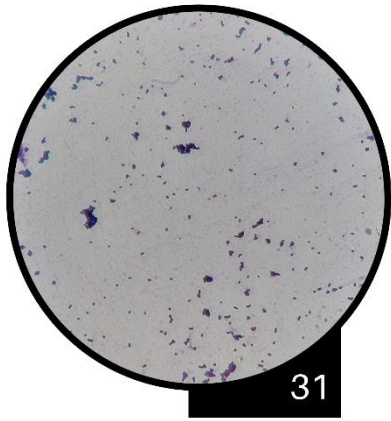
28



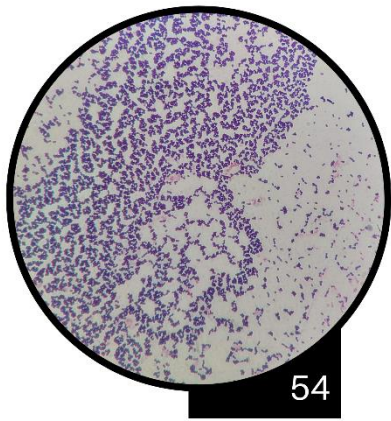
29



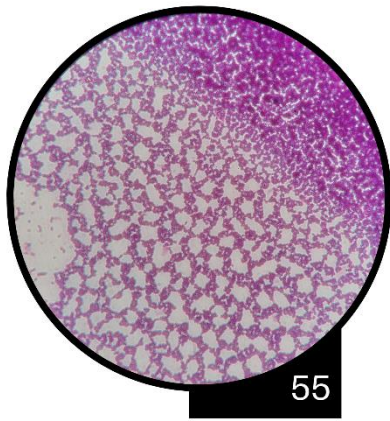
30



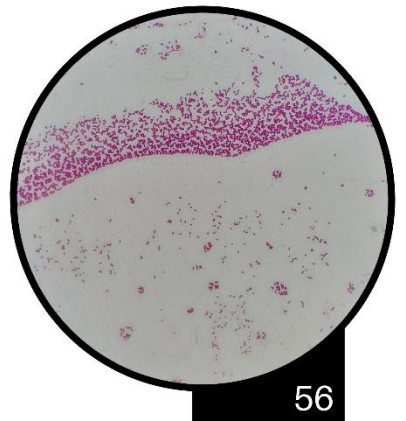




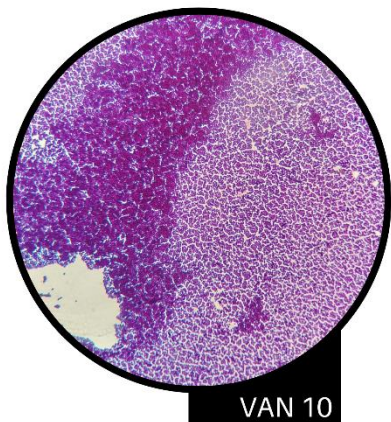
54



55



56



VAN 10