



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



**MARCUS VINICIUS DUARTE RODRIGUES**

PRESENÇA DE *Enterococcus* spp RESISTENTES A  
ANTIMICROBIANOS ADVINDOS DOS DEJETOS DE  
SUINOCULTURA BRUTOS E TRATADOS

OURO PRETO, MG

2019

MARCUS VINICIUS DUARTE RODRIGUES

PRESENÇA DE Enterococcus spp RESISTENTES A  
ANTIMICROBIANOS ADVINDOS DOS DEJETOS DE  
SUINOCULTURA BRUTOS E TRATADOS

Marcus Vinicius Duarte Rodrigues.

Orientadora: Profa. Dra Silvana de  
Queiroz Silva.

Co-orientadora: Msc. Camila de  
Paula Dias.

Monografia apresentada ao Instituto  
de Ciências Biológicas da  
Universidade Federal de Ouro Preto,  
disciplina CBI 261, como parte das  
exigências para obtenção do título  
de Bacharel em Ciências Biológicas.

OURO PRETO, MG

2019



**Ata da Banca Examinadora de Defesa de Monografia Intitulada:**

**"ANÁLISE DA PRESENÇA DE *Enterococcus* spp. RESISTENTES A ANTIMICROBIANOS ADIVINDOS DOS DEJETOS DE SUINOCULTURA BRUTOS E TRATADOS"**

Aos dezesseis dias do mês de maio de 2019, às 14h, na sala de seminários do Departamento de Ciências Biológicas do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, reuniu-se a Comissão examinadora de Monografia do aluno MARCUS VINÍCIUS DUARTE RODRIGUES. A defesa pública de monografia iniciou-se pela apresentação oral feita pelo candidato e, em seguida, arguição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e declararam o candidato aprovado, com a nota 8,5.

Membros da Banca Examinadora

Dra. Silvana de Queiroz Silva - Orientadora  
DECBI - UFOP

Dr. Anibal da Fonseca Santiago - Examinador  
DECIV - UFOP

Dr. Guilherme de Paula Costa - Examinador  
DECBI - UFOP

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a UFOP pelo ambiente criativo, amigável e apoio financeiro, assim como ao LBTM e sobretudo ao sistema republicano ouropretano.

A professora Lívia Echternacht, de quem finalmente aprendi a escrever o sobrenome, pela orientação, apoio, amizade e confiança. Você é realmente uma das melhores pessoas que conheci durante minha graduação.

A professora Eneida Eskinazi pela confiança e ajuda em momentos de necessidade.

Ao professor Cristiano Schetini, por ser um grande palhaço, pelos ensinamentos e amizade... Tá bom, a bio mar entra aqui, essa cadeira foi ótima e não seria a mesma sem você e Beiral lá.

A minha orientadora Silvana, pelo suporte no pouco tempo que lhe coube e Camila.

Meus mais sinceros *agradecimentos* as conradas bioloucas do 14.2, em especial Flávia e Fran, por todo o companheirismos descontração que resultaram nos melhores rocks. E não menos importantes, os irmão na amizade da República Toa Toa, principalmente os **ex alunos** que fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes em minha vida com certeza.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

;D

*Na vida a gente nasce, a gente morre*

*e no meio se permite...*

## RESUMO

Atualmente a suinocultura é uma importante atividade econômica no Brasil porém é associada a uma alta produção de dejetos. Estes dejetos são usualmente tratados por meio de digestores e lagoas anaeróbias e deste tratamento gera-se um efluente com característica de biofertilizante, e que normalmente é aplicado no solo. Durante o manejo dos animais, pode-se utilizar alguns antimicrobianos como promotores de crescimento, porém, trata-se de uma prática, cuja ação indiscriminada, pode acarretar problemas no âmbito da saúde pública devido a disseminação de bactérias resistentes a antibióticos e de seus genes de resistência no solo. Um importante gênero bacteriano que tem apresentado um aumento gradual na resistência a antibióticos é o *Enterococcus*. O presente trabalho avaliou a presença de bactérias do gênero *Enterococcus* em amostras de dejetos suínos antes e após o seu tratamento biológico e investigou a prevalência da resistência a antimicrobianos nos isolados. O isolamento foi realizado em meio Bile-Esculina acrescido de azida sódica e o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos foi determinado pelo método de disco-difusão. A partir das amostras do dejetos bruto foram obtidas 44 colônias, enquanto para o efluente tratado foram obtidas 30 colônias, ao longo de três coletas. Para a maioria dos antibióticos, a proporção de isolados resistentes aumentaram no efluente tratado em comparação ao dejetos bruto, alguns se mantiveram sem alteração enquanto apenas o antibiótico teicoplanina não observou-se isolados resistentes na saída do tratamento. A maior porcentagem de isolados resistentes foram observados para a tetraciclina, 98% para o dejetos bruto e 87% para o efluente tratado, seguidos da ciprofloxacina ( 59% no DB e 67% no ET), norfloxacina (64% no DB), penicilina (67% no ET) e ciprofloxacina (60% no ET). Por outro lado uma menor proporção de isolados se mostrou resistente à vancomicina, um importante fármaco no controle de infecções enterocócicas, sendo 9% no dejetos bruto e 7% no efluente tratado. O perfil de multirresistência foi analisado e revelou que 63,5% (n=47) dos isolados bacterianos se mostraram multirresistentes a pelo menos três classes de antibióticos. Portanto, a utilização dos lodos e efluentes como fertilizantes precisam ser avaliados antes de serem usados na lavoura, devido a possibilidade de contaminação por bactérias resistentes a antibióticos.

**Palavras-chave:** mecanismos de resistência, agronegócio, antibiótico, resistência bacteriana, disco-difusão.

## Resumen

Actualmente la suinocultura es una importante actividad económica en Brasil pero está asociada a una alta producción de desecho. Estos desechos son usualmente tratados por medio de digestores y lagunas anaerobias y de este tratamiento se genera un efluente con característica de biofertilizante, y que normalmente se aplica en el suelo. Durante el manejo de los animales, se pueden utilizar algunos antimicrobianos como promotores de crecimiento, pero se trata de una práctica, cuya acción indiscriminada, puede acarrear problemas en el ámbito de la salud pública debido a la diseminación de bacterias resistentes a antibióticos y de sus genes de resistencia en el suelo. Un importante género bacteriano que ha presentado un aumento gradual en la resistencia a los antibióticos es el *Enterococcus*. El presente trabajo evaluó la presencia de bacterias del género *Enterococcus* en muestras de desechos suinos antes y después de su tratamiento biológico e investigó la prevalencia de la resistencia a antimicrobianos en los aislados. El aislamiento fue realizado en medio Bile-Esculina más de azida sódica y el perfil de susceptibilidad a antimicrobianos fue determinado por el método de disco-difusión. A partir de las muestras del deyecto bruto se obtuvieron 44 colonias, mientras que para el eluyente tratado se obtuvieron 30 colonias, a lo largo de tres colectas. Para la mayoría de los antibióticos, la proporción de aislados resistentes aumentó en el efluente tratado en comparación con el de crudo, algunos se mantuvieron sin alteración mientras que sólo el antibiótico teicoplanina no se observó aislados resistentes a la salida del tratamiento. El porcentaje de aislados resistentes se observó para la tetraciclina, el 98% para el deyecto bruto y el 87% para el efluente tratado, seguidos de la ciprofloxacina (59% en el DB y 67% en el ET), norfloxacina (64% en el DB), penicilina (67% en el ET) y ciprofloxacino (60% en el ET). Por otro lado una menor proporción de aislados se mostró resistente a la vancomicina, un importante fármaco en el control de infecciones enterocócicas, siendo 9% en el deyecto bruto y 7% en el efluente tratado. El perfil de multiresistencia fue analizado y reveló que 63,5% (n = 47) de los aislados bacterianos se mostraron multiresistentes a al menos tres clases de antibióticos. Por lo tanto, la utilización de los lodos y efluentes como fertilizantes necesitan ser evaluados antes de ser usados en la labranza, debido a la posibilidad de contaminación por bacterias resistentes a antibióticos.

**Palabras clave:** mecanismos de resistencia, agroindustria, antibióticos, resistencia bacteriana, difusión de discos.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**A.C.** – Antes de Cristo  
**AGV** – Ácidos Graxos Voláteis  
**AMP** – Ampicilina  
**β** – Beta  
**BRA** – Bactéria Resistente a Antibiótico  
**BRN** – Bactéria Não Resistente  
**CIP** – Ciprofloxacina  
**CONAMA** - Conselho Nacional do Meio Ambiente  
**DB** – Dejeito Bruto  
**DBO** – Demanda Biológica de Oxigênio  
**DQO** – Demanda Química de Oxigênio  
**DME** – Diagnósticos Microbiológicos Especializados  
**EST** – Estreptomicina  
**ET** – Efluente Tratado  
**GEN** – Gentamicina  
**GMR** – Germes Multirresistente  
**GSF** – Granja São Francisco  
**HLAR** – High-level Resistance to Aminoglycosides  
**LBTM** – Laboratório de Biotecnologia e Tecnologia de Microrganismos  
**LEEs** – lagoas de estabilização de esgoto  
**LEV** – Levofloxacina  
**LNZ** – Linezolida  
**MIC** – Concentração Mínima Inibitória  
**MO** – Matéria Orgânica  
**NIT** – Nitrofurantoina  
**NOR** – Norfloxacina  
**p** – P-valor  
**PEAD** – Polietileno de Alta Densidade  
**PBP** – penicillin-binding protein  
**PBS** – Tampão de Fosfato Salino  
**PEN** – Penicilina G  
**PVC** – Policloreto de Vinila  
**PYR** – *pirrolidonil-p-naftilamida*  
**RAB** – Resistência a Antibióticos por Bactérias  
**ST** – Sólidos Totais  
**TEC** – Teicoplanina  
**TET** – Tetraciclina  
**VAN** – Vancomicina  
**X<sup>2</sup>** – Quiquadrado

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Granja de suínos. Exemplo do sistema de confinamento em criadouros de porcos.....	14
Figura 2 – Média do efetivo de suínos e cabeças abatidas, segundo as unidades da Federação 2013–2015.....	15
Figura 3 – As escretas de suinocultura podem poluir ar, solo e águas. ....	19
Figura 4 – Esquema de tratamento dos efluentes de suinocultura por biodigestão anaeróbia. ....	22
Figura 5 – Esquema simplificado do processo de transformação bacteriana. ....	26
Figura 6 – Transferência de DNA plasmidial por conjugação entre células bacterianas.....	27
Figura 7 – Transdução generalizada.....	28
Figura 8 – Os principais mecanismos de resistência microbiana a agentes antimicrobianos. ....	29
Figura 9 – Imagens dos componentes do STD.....	39
Figura 10 – Diagrama esquemático do sistema de tratamento da granja. ....	40
Figura 11 – Amostras da primeira coleta do dejetos bruto (DB) e efluente tratado (ET). ....	40

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Antimicrobianos testados para <i>Enterococcus</i> spp, fornecidos pela DME. ....	42
Tabela 2 – Total de isolados resistentes ou multirresistentes encontrados nas amostras, distribuídos ao longo das três coleta. ....	45
Tabela 3 – Valores e diferença da resistência encontrada antes e depois do tratamento. ....	51

## **LISTA DE GRÁFICOS**

Gráfico 1 – Análise da resistência em porcentagem dos antibióticos cuja resistência envolve o mecanismo enzimático. ....	46
Gráfico 2 – Análise da resistência em porcentagem dos antibióticos cuja resistência envolve o mecanismo de bloqueio da entrada no sítio-alvo dentro do microrganismo. ....	47
Gráfico 3 – Análise da resistência em porcentagem dos antibióticos envolvidos no mecanismo de alteração do sítio-alvo da droga. ....	48
Gráfico 4 – Análise da resistência em porcentagem dos antibióticos envolvidos no mecanismo de efluxo e ejeção do antibiótico no micróbio. ....	49

## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 – Relação dos antibióticos testados separados por classe e os respectivos mecanismos de ação.....	43
--	----

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	14
1.1. SUINOCULTURA E ECONOMIA .....	15
1.2. CARACTERIZAÇÃO DE DEJETOS SUÍNOS.....	16
1.3. IMPACTOS DOS DEJETOS NO MEIO AMBIENTE.....	18
1.4. TRATAMENTO DOS RESÍDUOS .....	19
1.5. ANTIBIÓTICOS NA TERAPÊUTICA ANIMAL .....	23
1.6. PREVALÊNCIA E PERSISTÊNCIA DA RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS ENTRE OS MICRORGANISMOS.....	24
1.7. TRANSFERÊNCIA DE MATERIAL GENÉTICO ENTRE BACTÉRIAS .....	25
1.8 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS .....	28
a. Produção de enzimas que inativa ou destroem o fármaco .....	30
b. Bloqueio da entrada no sítio-alvo dentro do micróbio .....	31
c. Alterações no sítio-alvo da droga.....	32
d. Efluxo e ejeção do antibiótico na bactéria .....	33
e. Alteração das vias enzimáticas.....	33
1.9. ANTIBIOGRAMA .....	34
1.10. <i>Enterococcus</i> spp.....	35
3. OBJETIVOS.....	38
3.2. OBJETIVO GERAL .....	38
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	38
4. MATERIAS E MÉTODOS.....	39
4.1. COLETA DAS AMOSTRAS .....	39
4.2. ISOLAMENTO E SELEÇÃO DOS ISOLADOS .....	41
4.5. AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS PELO MÉTODO DE DISCO-DIFUSÃO .....	41
4.6. ANÁLISE DE DADOS.....	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	45
6. CONCLUSÃO .....	54
7. REFERÊNCIAS .....	55

## 1. INTRODUÇÃO

O consumo de carne suína ocorre desde os tempos mais remotos pelos humanos. O animal foi domesticado a cerca de 5000 A.C. (ABPA, 2018) e com o tempo a domesticação favoreceu a implantação de sistemas confinados na produção de suínos e, portanto, o grande número de animais em um pequeno espaço levou a geração de um volume exacerbado de dejetos produzidos (ANGONESE et al., 2006b).

A utilização do método de criação em espaço confinado confere maior vantagem na produção em larga escala. Em 2016, o Brasil ocupava a quarta posição no ranking mundial como produtor e exportador, e o quinto lugar em consumo (EMBRAPA, 2016a); (EMBRAPA, 2016b).

A produção de carne promove o confinamento do animal e por consequência uma série de agentes poluidores como diversos patógenos oriundos dos dejetos dos animais, antimicrobianos e seus metabólitos e outros contaminantes que ficam em contato com o ambiente (HENRIQUE et al., 2001) (Figura 1).



Figura 1 – Granja de suínos. Exemplo do sistema de confinamento em criadouros de porcos.

Fonte: freepik (jan. de 2018). Acesso em: 26 de jul. de 2018.

Além da contaminação do ambiente, a presença dos dejetos suínos podem gerar agravantes a saúde humana devido a possível presença de microrganismos patogênicos resistentes a antimicrobianos.

### 1.1. SUINOCULTURA E ECONOMIA

A pecuária suína é uma importante atividade socioeconômica no Brasil. Segundo estatísticas divulgadas em 2015 pelo IBGE, o efetivo de suínos foi de 37,9 milhões de indivíduos em 2014, um aumento de 3,2% em relação a 2013. Quase metade (49,3%) encontrava-se na região Sul, seguida pelas regiões Sudeste (18,5%), Nordeste (14,9%), Centro-Oeste (13,8%) e Norte (3,4%).

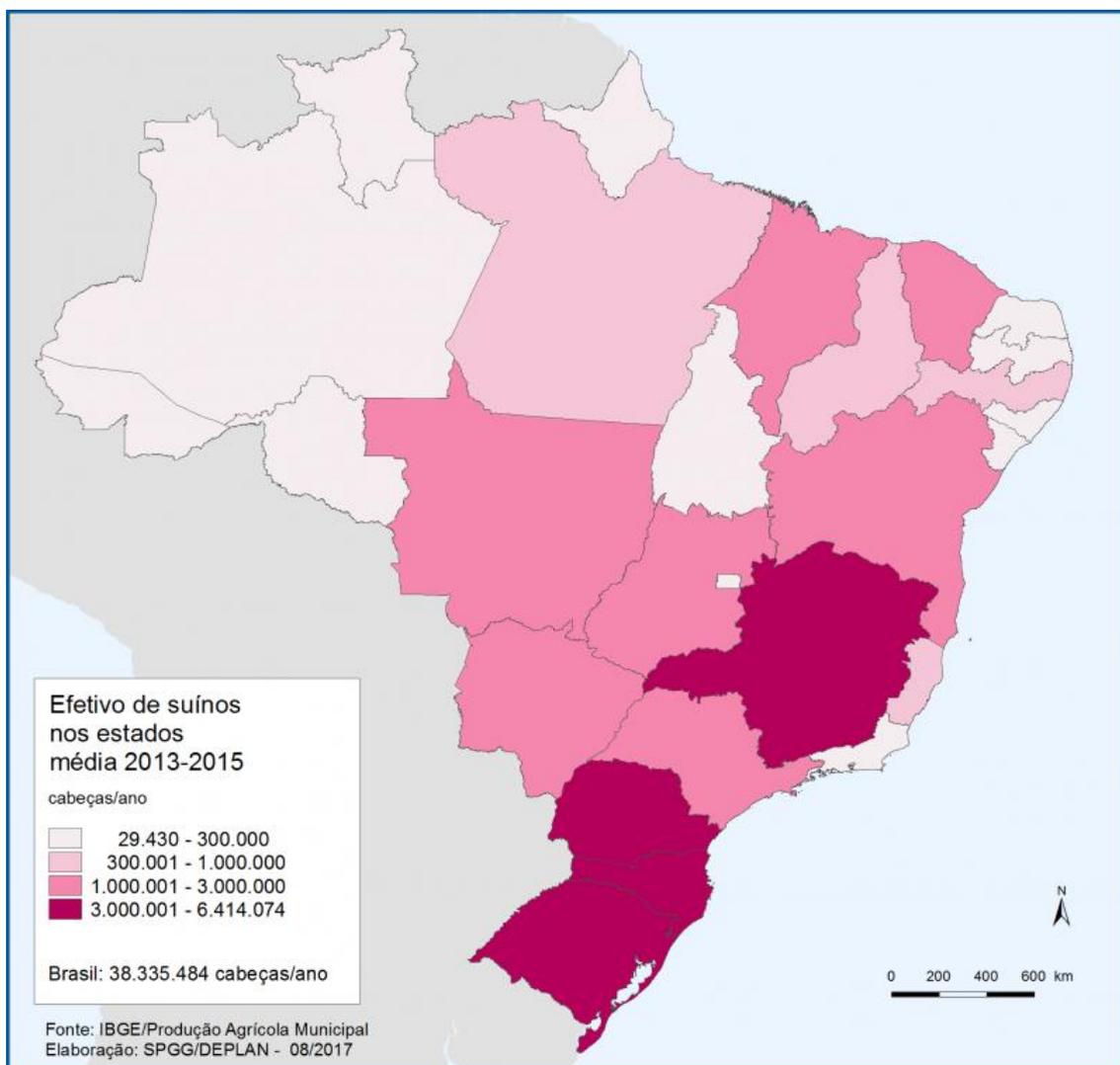


Figura 2 – Média do efetivo de suínos e cabeças abatidas, segundo as unidades da Federação 2013–2015.

Fonte: Atlas socioeconômico do Rio Grande do Sul, secretaria de planejamento, orçamento e gestão ago. de 2017. Acesso em 8 de jan. de 2019.

As cidades Uberlândia (MG), Rio Verde (GO) e Toledo (PR) detinham os maiores efetivos de suínos segundo dados do IBGE (2015) (Figura 2).

A região sul do país, além de maior produtora de carne suína, é também a maior consumidora *per capita in natura* sendo de 3,1 kg/ano (7,9%) entre 2008 e 2009. As regiões brasileiras com maior consumo *per capita* de carne suína *in natura* são a região Sul (4,4 kg/ano), seguida pelas regiões Centro-Oeste (4,0 kg/ano), Sudeste (3,5 kg/ano), Norte (2,5 kg/ano) e Nordeste (1,7 kg/ano) (ALVES MARÇAL et al., 2016).

Na suinocultura, a exemplo, uma granja com aproximadamente 1.500 matrizes (fêmeas procriadoras) pode gerar lucro anual superior a 20 mil reais ao suinocultor (KUNRATH, 2016). As granjas de suinocultura no país não são, em sua maioria, provenientes de grandes fazendas, mas de pequenos e microempreendedores do ramo, como agricultores familiares (ANGONESE et al., 2006a).

O grande número de suínos apesar de contribuir para a economia nacional, traz consigo um grande problema que é exacerbada produção de dejetos. É importante salientar que toneladas de resíduos/dejetos são produzidos por ano (MOURA, 2017) que pode acarretar sérios problemas ambientais (ANDRADE et al., 2002).

## **1.2. CARACTERIZAÇÃO DE DEJETOS SUÍNOS**

Os dejetos suínos são compostos principalmente por urina, fezes, água dos bebedouros e de assepsia da granja, além de também, restos de ração (DAI PRÁ, 2009). Lançar dejetos *in natura* no solo pode ser altamente prejudicial, por permitir o acúmulo de metais pesados, os quais a presença na suinocultura já é descrita na literatura além de compostos orgânicos passíveis de lixiviação ou absorção por plantas

(DAI PRÁ, 2009; SILVEIRA et al., 2011). Sendo assim a disposição adequada é importante.

Estes dejetos são como um resíduo de consistência pastosa à líquida e escuro, de coloração que vai desde o preto, ao marrom ou mesmo cinza (MOURA, 2017). A produção diária e a caracterização são influenciadas diretamente pela alimentação que os animais recebem (MOURA, 2017). A composição dos dejetos reflete muito sobre a dieta pela qual os animais recebem (MARCATO; DE LIMA, 2005).

Em outras palavras, animais que comem alimentos volumosos produzem dejetos com componentes fibrosos, ácidos graxos voláteis (AGV), com alto teor de sólidos totais (ST) e compostos tóxicos (MOURA, 2017). Os principais constituintes dos dejetos suínos que afetam as águas superficiais são matéria orgânica, nutrientes, coliformes termotolerantes e altas concentrações de metais pesados no material percolante (MOURA, 2017; SILVEIRA et al., 2011; SMANHOTTO et al., 2010). Já os que afetam águas subterrâneas são nitratos e bactérias (NOLASCO; BAGGIO; GRIEBELER, 2005).

Existe uma gama de compostos tóxicos e destaca-se os resíduos de antibióticos usados no tratamento terapêutico e como aditivos para melhorar o desenvolvimento animal, desinfetantes provenientes da limpeza das baias e pesticidas, que influenciam de forma negativa a população microbiana (MOURA, 2017). Além destes compostos tóxicos, nas fezes estão presentes bactérias capazes de metabolizar a matéria orgânica por meio da fermentação, transformando-a em um biogás composto 80% de metano (CH<sub>4</sub>), um biogás inodoro, que é uma excelente fonte de energia limpa e renovável (PORTARI, 2008; ROYA et al., 2011).

### **1.3. IMPACTOS DOS DEJETOS NO MEIO AMBIENTE**

A suinocultura apresenta potenciais impactos positivos como a geração de empregos, a compostagem de dejetos que pode ser usada na adubação de solos (SALGADO et al., 2014), na nutrição humana (CAMPOS; LEMES, 2015). Pode também ocasionar melhoria as pesquisas genéticas e cruzamentos de raças e negativos como a degradação do meio ambiente.

A principal fonte poluidora na suinocultura é advinda das baias em que vivem os suínos. Como citado anteriormente, a água de higienização e dos bebedouros, fezes, urinas e restos alimentares são uma fonte de contaminação (MOURA, 2017). Os dejetos provenientes de suinocultura tem alto potencial poluidor, se disperso na natureza sem o devido tratamento.

A presença dos dejetos no solo ou em corpos d'água gera odores desagradáveis, gases contribuintes para o efeito estufa e também material particulado em suspensão nos efluentes. A degradação ambiental causada pelo acondicionamento inadequado dos dejetos pode ser tanto do ar na emissão de gases atmosféricos, do solo com compostos sólidos de difícil degradação ou mesmo recalcitrantes e da água, com o lançamento de efluentes oriundos da atividade suinícola (DERISIO, 2012) (Figura 3).

Nas regiões Norte do Rio Grande do Sul e Oeste de Santa Catarina e Paraná, em que há grandes populações de suínos ocorreu a contaminação das fontes de água, de forma que, na Região Oeste de Santa Catarina, cerca de 85% dos mananciais de água foram contaminados por coliformes termotolerantes oriundos da suinocultura local (MARCATO; DE LIMA, 2005) (OLIVEIRA et al., 1993). Estes dejetos acarretam sérios riscos ao meio ambiente, como, por exemplo, a eutrofização de lagos e a mortalidade da fauna e flora (ESTEVES, 1988).

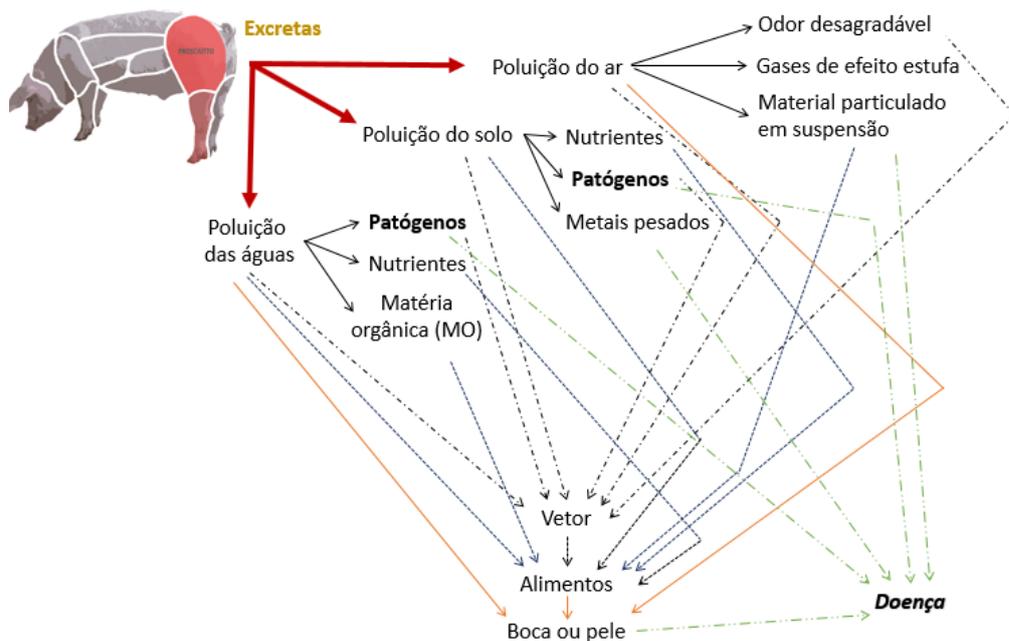


Figura 3 – As excretas de suinocultura podem poluir ar, solo e águas. Sendo que estes fatores poluidores podem afetar direta ou indiretamente a saúde tanto humana quanto animal.

A suinocultura contamina o solo com metais pesados presentes nos efluentes, patógenos e excesso de nutrientes, que se houver percolamento do material, contamina águas subterrâneas (OLIVEIRA et al., 1993). E se carregado pela chuva, atinge ecossistemas lóticos ou lenticos, leva consigo matéria orgânica (MO), patógenos e nutrientes. Devido a dispersão de patógenos e contaminantes aumentam os riscos à saúde humana e animal (VIVAN et al., 2009).

#### 1.4. TRATAMENTO DOS RESÍDUOS

Os dejetos da suinocultura podem ser tratados em composteiras, lagoas de estabilização e biodigestores. Os efluentes podem ser usados em plantações, como biofertilizante (ANGONESE et al., 2006b). A composteira tem como principal objetivo transformar a MO produzida em adubo orgânico para as plantações (MENDES et al., 2016).

Os sistemas de tratamento de dejetos suínos mais usados no Brasil são aqueles baseados em esterqueiras, biodigestores e lagoas de tratamento (KUNZ; HIGARASHI; OLIVEIRA, 2005). As esterqueiras, geralmente, são de formato cilíndrico, trapezoidal ou retangular, sendo que as retangulares são mais práticas de se construir e as cilíndricas proporcionam melhor distribuição de carga nas paredes laterais, portanto se mostram menos suscetíveis a rachaduras (KUNZ et al., 2004).

É recomendável para impedir a infiltração do dejetos para o solo, que as esterqueiras sejam revestidas internamente, mesmo em solos pouco percolantes, como os argilosos (KUNZ et al., 2004). Os materiais mais comuns utilizados para revestimento de esterqueiras são pedras, argamassadas, alvenaria de tijolos ambas são as mais duradouras, mas existe a possibilidade de rachaduras, por onde pode haver um vazamento e contaminação ambiental; podem ser também de lonas de Policloreto de Vinila (PVC) ou PEAD (Polietileno de Alta Densidade) (KUNZ et al., 2004).

Como alternativa tecnológica, as lagoas de tratamento de dejetos de suínos são, via de regra, um sistema secundário de separação da fase sólido-líquido, que é fundamental para diminuir o assoreamento do sistema e aumentar sua vida útil. Lagoas de tratamento, em resumo, são de processo aeróbio ou anaeróbio que consiste na degradação de substâncias orgânicas complexas por microrganismos e são capazes de gerar um efluente tratado de qualidade (MAGNO; DE OLIVEIRA, 2008).

*"Várias técnicas de tratamento de esgotos vêm sendo utilizadas para promover uma melhor qualidade ao efluente final a ser lançado num corpo receptor, destacando-se: lagoas de estabilização, lagoas aeradas, filtro biológico, lodos ativados, reator anaeróbio de manto de lodo, sistema de tanque séptico seguido de filtro anaeróbio, disposição controlada no solo, dentre outros." (MEDEIROS, 2009)*

A lagoa de estabilização é capaz de melhorar valores da demanda bioquímica do oxigênio (DBO), demanda química do oxigênio (DQO),  $\text{NH}_4^+$  sólidos totais e sólidos sedimentáveis (OLIVEIRA et al., 1993). As vantagens das lagoas facultativas estão associadas, portanto, à predominância dos processos naturais, o que isenta o sistema da demanda de energia elétrica e reduz gastos com operação, além da construção também ser de baixo custo (TAKEUTI, 2003).

Os biodigestores são uma alternativa dos sistemas de tratamento de dejetos suínos e estes sistema são propícios a geração de biogás que é uma boa fonte de energia (KUNZ; HIGARASHI; OLIVEIRA, 2005). A Índia foi o primeiro país a instalar biodigestores e a primeira unidade foi construída por volta de 1.908 (ANDRADE et al., 2002). A China, iniciou seu programa de implantação de biodigestores na década de cinqüenta e contava até 1992 com cerca de 7,2 milhões de unidades (ANDRADE et al., 2002). No Brasil, os biodigestores rurais surgiram na década de 80 com grande apoio dos Ministérios da Agricultura Pecuária e Abastecimento e de Minas e Energia (COELHO et al., 2006).

Os biodigestores são uma solução ideal para o tratamento de dejetos (VIVAN et al., 2009) (GLEYSSON, 2013). Existem diversos tipos de classificação de biodigestores, por exemplo os que tratam a biomassa urbana e a rural (GLEYSSON, 2013). No tratamento a partir de biodigestores, os dejetos oriundos das baias seguem para a caixa de entrada, onde são umidificados, caso possuam concentração de água muito baixa (COLATTO; LANGER, 2011) (Figura 4). Deste ponto são conduzidos pela tubulação até o biodigestor em que ficam retidos por tempo suficiente para ocorrer a fermentação anaeróbica por microrganismos na parte inferior, revestida de vinimanta, do biodigestor (COLATTO; LANGER, 2011).

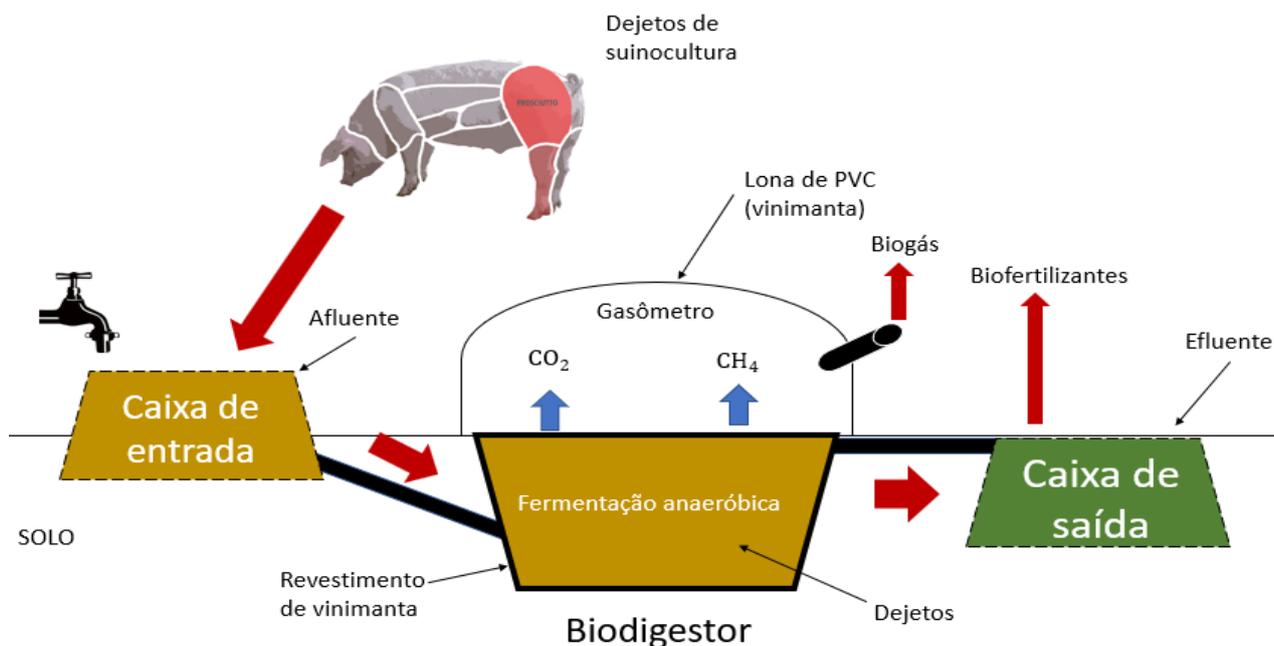


Figura 4 – Esquema de tratamento dos efluentes de suinocultura por biodigestão anaeróbia.

A parte superior possui uma lona de PVC, que segura os gases (dióxido de carbono e metano), gerados na fermentação, normalmente há uma válvula coletora presente na lona para a captação dos gases, principalmente, o metano que é de interesse econômico (COLATTO; LANGER, 2011). Quando tratado, o efluente vai para uma caixa de saída para então secar e ser utilizado como biofertilizante (COLATTO; LANGER, 2011).

A tecnologia de digestão anaeróbia por biodigestores para estabilização de dejetos de suínos há muito tempo é conhecida (KUNZ; HIGARASHI; OLIVEIRA, 2005). Os biodigestores reduzem consideravelmente os níveis de degradação ambiental, no que diz respeito aos dejetos gerados pelos suínos (SILVA; TESSARO; WADA, 2005). A utilização de biodigestores proporciona a produção de biofertilizantes e biogás que pode gerar energia necessária para a granja. (PEREIRA; PAVAN, 2004). Esta unidade de tratamento é capaz de proporcionar grande quantidade de energia, a partir da degradação dos dejetos por processo de digestão anaeróbica, bactérias e arqueias metanogênicas leva a formação de  $\text{CH}_4$  (COLATTO; LANGER, 2011).

Independente do sistema utilizado, empreendimentos potencialmente poluidores, como a suinocultura, devem adotar os sistemas de tratamento de dejetos antes que os efluentes sejam lançados em corpos d'água. É preciso ressaltar que atualmente o Brasil não possui legislações de âmbito nacional para o reciclo de dejetos suínos em específico. O Conselho Nacional do Meio Ambiente possui resolução sobre o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e padrões de lançamento de efluentes, como a CONAMA 375, CONAMA 357 e CONAMA 430 (CONAMA, 2005, 2006, 2011).

### **1.5. ANTIBIÓTICOS NA TERAPÊUTICA ANIMAL**

A introdução da antibioticoterapia na produção animal surgiu como uma possibilidade de melhorar não só a saúde dos animais, mas também para melhorar a eficiência alimentar a partir do uso como promotor de crescimento. (SANTOS et al., 2009). O uso como aditivos alimentares na ração favorece o ganho de peso e melhora a conversão alimentar dos animais (SANTOS et al., 2009).

Os antimicrobianos vêm sendo utilizados na produção animal como promotor do crescimento por mais de 50 anos e como isso afeta a terapêutica humana ainda é muito debatido (SANTOS et al., 2009). O uso indiscriminado dos antibióticos tem sido relatado como um grave problema de saúde pública, devido ao surgimento de cepas bacterianas com resistência simple ou múltipla as drogas (MORÉS, 2014).

É válido ressaltar, que o uso de aditivos passou a ser rejeitado por grupos na sociedade, preocupados com a indução de resistência microbiana a antibióticos usados na terapêutica humana e devido à contaminação ambiental (ARIAS; DE MAIO CARRILHO, 2012). A partir dessas pressões, a Comunidade Europeia banuiu o uso de antibióticos promotores de crescimento desde 2005 (SANTOS et al., 2009).

No Brasil, alguns antimicrobianos com finalidade de aditivos adicionados a alimentação foram proibidos. Exemplos das substâncias proibidas são: avoparcina, cloranfenicol, nitrofuranos, anfenicóis, tetraciclina, betalactâmicos (benzilpenicilâmicos e cefalosporinas), quinolonas, sulfonamidas sistêmicas, espiramicina e eritromicina (BRASIL, 2017). Apesar dessa proibição para uso animal, ainda há aqueles que são utilizados como aditivos. Dentre os antibióticos mais utilizados em suínos, destaca-se alguns de grande importância: penicilinas, cefalosporina, tetraciclina, macrolídeos, lincosamidas e pleuromutilinas, sulfonamidas, sulfa-trimetoprim, quinolonas e rifampicina (SANTOS et al., 2009).

O uso de antimicrobianos na suinocultura pode ser classificado de acordo com as formas de aplicação dos produtos (SANTOS e colab., 2009):

a) Aplicação terapêutica: utilizados no tratamento de infecções bacterianas pré-existente, por meio da medicação de animais doentes e realizada de forma individual ou por terapia em massa (grupal ou de rebanho);

b) Uso metafilático: trata todos os indivíduos depois do surgimento de sinais clínicos de determinada infecção em algum indivíduo de um lote quando este pode infectar os demais animais desse grupo.

## **1.6. PREVALÊNCIA E PERSISTÊNCIA DA RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS ENTRE OS MICRORGANISMOS**

Os microrganismos são passíveis de doar e receber informações genéticas entre si. Se uma bactéria de algum modo passa a resistir a determinado antimicrobiano ela poderá transmitir a informação a outras bactérias, por exemplo através do DNA plasmidial que é capazes

de se replicar independentemente do DNA cromossômico. (MADIGAN et al., 2016).

É preciso ter controle do uso de agentes antimicrobianos já que propicia o surgimento de patógenos resistentes a antibióticos também usados na medicina humana. Por este motivo, a escolha de antibióticos para uso na suinocultura é uma tarefa complexa e que deve ser criteriosa, pois existem várias alternativas de escolha de princípios ativos nas mais diversas vias de aplicação (BARCELLOS et al., 2009).

A transferência de genes de resistência já foi relatada entre cepas de *Enterococcus faecalis* em águas de tratamento de esgoto, possibilitando inferir sobre o papel de cepas ambientais na disseminação destes genes (CORRÊA; FUENTEFRIA; CORÇÃO, 2005). Contudo a partir de estudos como este, pode ser elucidado, como uma bactéria transmite informações genéticas a outras que não suas descendentes.

*Enterococcus* spp. resistentes têm sido frequentemente observados em animais de corte sugerindo que estes possam ser reservatórios de linhagens resistentes e conseqüentemente de genes de resistência (CORRÊA; FUENTEFRIA; CORÇÃO, 2005). A parte isso, tem se atribuído casos humanos de infecções por estes microrganismos resistentes a ingestão de alimentos contaminados.

## **1.7. TRANSFERÊNCIA DE MATERIAL GENÉTICO ENTRE BACTÉRIAS**

Uma bactéria resistente a determinado antimicrobiano pode transmitir seu gene resistente a outras bactérias, por meio de três mecanismos: transformação, transdução e conjugação (DEL FIO; FILHO; GROppo, 2000). Na transformação, descoberta por estudos do cientista Frederick Griffith em 1928, os genes são transferidos de uma bactéria para outra como moléculas de DNA livres no ambiente e podem ser incorporadas por outras bactérias (Figura 5).

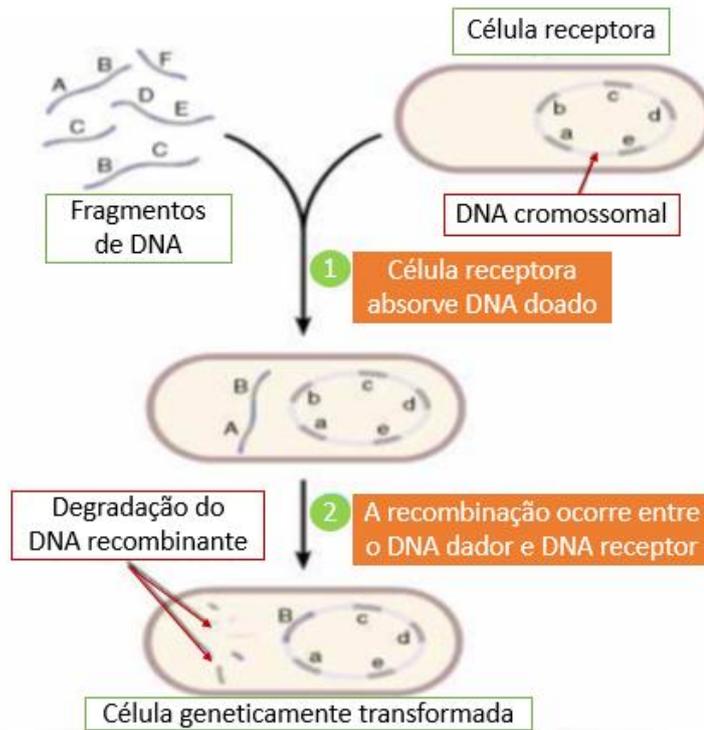


Figura 5 – Esquema simplificado do processo de transformação bacteriana.  
 Fonte: Benjamin Cummings (2001, modificado).

Este mecanismo acontece quando a molécula de DNA transformante é reconhecida por proteínas presentes na parede celular de bactérias, permitindo seu aporte, sejam Gram positivas ou Gram negativas. Ao adentrar o citoplasma celular, une-se ao DNA da bactéria, ocasionando uma recombinação (DEL FIO; FILHO; GROppo, 2000).

Outro mecanismo é a conjugação, neste processo a transferência de genes envolve o contato físico entre duas células (a doadora e a receptora). A mobilização do segmento genético a ser transferido por plasmídeo conjugativo é por meio do pilus sexual que permite o pareamento das células (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). A **Fonte de referência não encontrada**. esquematiza a transferência conjugativa. Podendo carrear plasmídeos portando, genes codificadores de pilus para uma bactéria que não o possui, por exemplo.

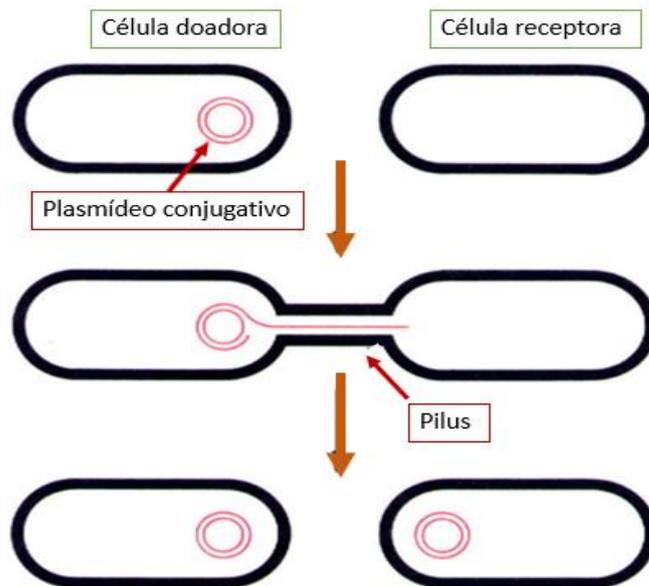


Figura 6 – Transferência de DNA plasmidial por conjugação entre células bacterianas. Fonte: CARLOS MOREIRA E DAVID MENDES, (1999, modificada).

Existe ainda a transferência de parte do material genético de uma célula a outra mediada por um vírus (bacteriófago) e este mecanismo se chama transdução (VAZ, 2009) (Figura 7). O DNA bacteriano é transferido de uma célula doadora para uma célula receptora dentro de um vírus bacteriófago, ou fago (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

No decorrer do ciclo lítico, novas partículas virais são liberadas no ambiente e podem infectar novas células bacterianas.

*"Durante a reprodução dos fagos, o DNA e a proteína são sintetizados pela célula bacteriana hospedeira. O DNA do fago deve ser empacotado dentro do capsídeo proteico que o recobre. Entretanto, o DNA bacteriano, o DNA plasmidial ou até mesmo o DNA de outro vírus podem ser empacotados dentro do capsídeo proteico."* (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012)

No momento, em que o DNA viral se liga ao material genético da bactéria pode acontecer recombinação (TORTORA; FUNKE; CASE,

2012). Neste processo a recombinação é capaz de gerar uma terceira célula com o genótipo diferente de ambas as células iniciais (doadora e a receptora) (DEL FIO; FILHO; GROPPPO, 2000). Após este processo, a bactéria poderá conter características importantes, tanto estruturalmente, quanto quimicamente das células bacterianas antecedentes (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Para a transdução, existem duas formas: a generalizada em que qualquer gene bacteriano da célula doadora pode ser transferido (Figura 7) e a especializada em que a transdução transfere apenas certos genes da célula doadora podem ser transferidos (DEL FIO; FILHO; GROPPPO, 2000).

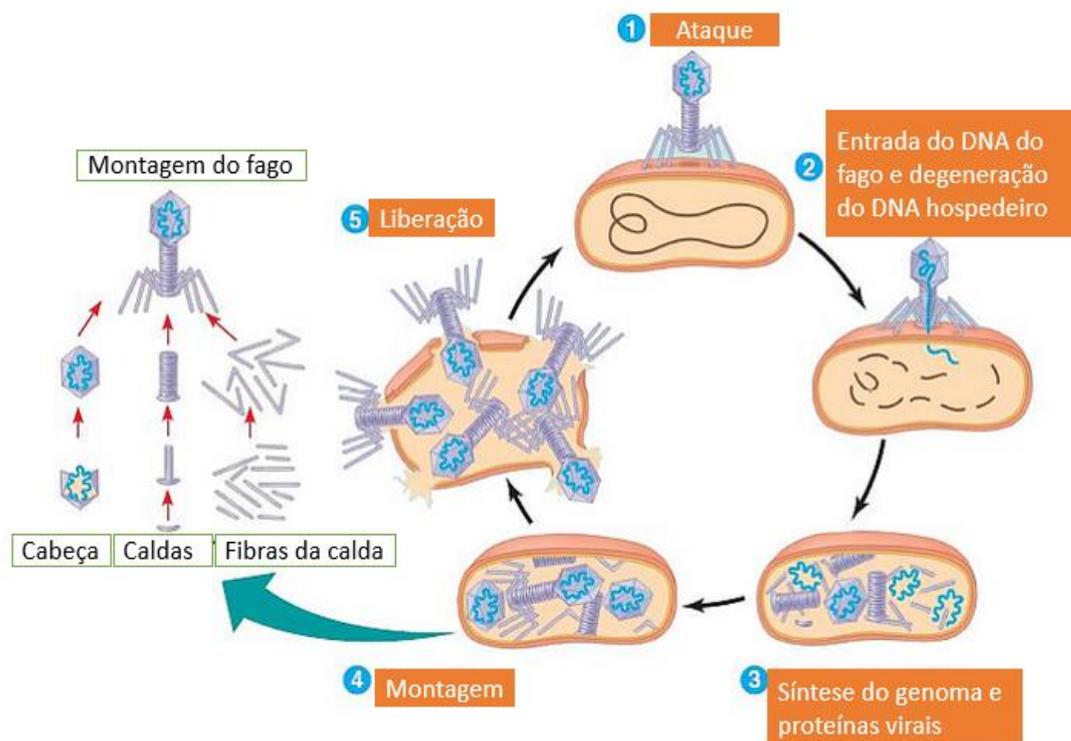


Figura 7 – Transdução generalizada.  
 Fonte: JRank Artigos (2017, modificada).

## 1.8 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS

A resistência antimicrobiana é a capacidade de um microrganismo impedir que um antimicrobiano o afete, fazendo com

que o tratamento padrão seja ineficaz em pacientes e estes microrganismos podem ser disseminados na população humana (WHO, 2017) (Figura 8). A definição de resistência ou multirresistência de quais bactérias são germes multirresistente (GMR) é arbitrária e dependendo das necessidades e do perfil de sensibilidade de cada instituição (KUPLICH et al., 2011).

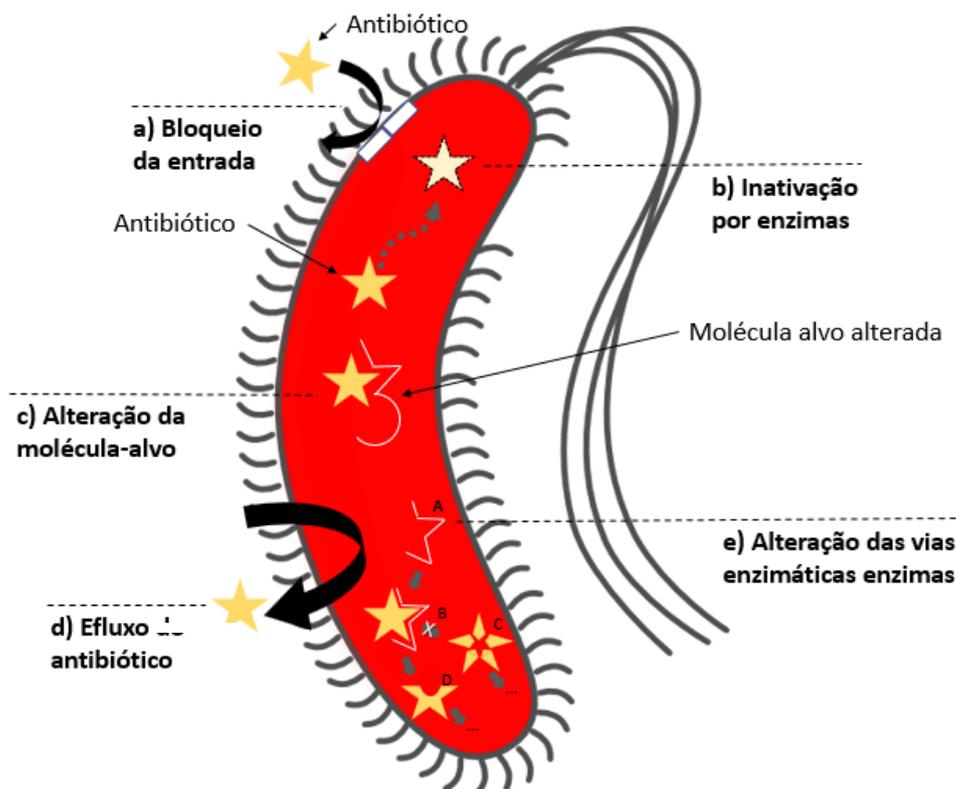


Figura 8 – Os principais mecanismos de resistência microbiana a agentes antimicrobianos. São eles: o bloqueio da entrada da droga na célula (a), a inativação da droga por enzimas (b), a ocorrência de alteração nos sítios-alvo da droga (c), o efluxo celular da droga (d) e alteração das vias enzimáticas (e).

GMR são definidos como bactérias predominantemente resistentes a uma ou mais classes de agentes antimicrobianos segundo KUPLICH et al. (2011). Bactérias resistentes, portanto, são aquelas resistentes a apenas uma classe de antibióticos e multirresistente como

sendo resistência a pelo menos três classes de antimicrobianos (MARTINS; BARTH, 2013) (GOMES et al., 2007).

A resistência surge por meio de mutação, amplificação gênica, plasmídeos, transposons e genes cassetes e integrons (RANG et al., 2016). Esses podem ser transferidos a outras bactérias por transformação, conjugação, transdução citados no item 1.7. A resistência a antibióticos por bactérias (RAB) pode vir a ser de forma inata ou adquirida (RANG et al., 2016).

A resistência é importante no âmbito clínico para a correta gestão dos medicamentos existentes e no desenvolvimento de novos fármacos antibacterianos (RANG et al., 2016). Podendo, a resistência, acontecer por meio dos mais diversos mecanismos, como por exemplo, a partir da destruição ou inativação enzimática do antibiótico, bloqueio da entrada ou e alteração no sítio-alvo, além do efluxo e ejeção do antibiótico (MOREIRA et al., 2013).

*a. Produção de enzimas que inativa ou destroem o fármaco*

A destruição ou inativação enzimática da droga é um dos mais comuns mecanismos bioquímicos de resistência aos antibióticos, produzindo enzimas que inativam o fármaco (RANG et al., 2016) (item a, Figura 8). Ocorre quando bactérias, frequentemente Gram negativas, inativam antibióticos do tipo penicilina e cefalosporinas, cliva carbapenemos (anel  $\beta$ -lactâmico), alvo das  $\beta$ -lactamases que o inativam (TORTORA et al., 2012).

A resistência cruzada entre as duas classes de antibióticos não é completa, porque algumas  $\beta$ -lactamases têm preferência pelas penicilinas e outras pelas cefalosporinas (RANG et al., 2016). Os microrganismos Gram negativos também podem produzir  $\beta$ -lactamases e esse é um fator significativo em sua resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos semissintéticos de amplo espectro (RANG et al., 2016).

Nesses caso, as enzimas que conferem a RAB podem ser codificadas ou por genes cromossômicos ou por genes dos plasmídeos. Na hipótese de condificação por genes cromossômicos, as enzimas podem ser indutíveis, porém na condição dos genes dos plasmídeos, elas são produzidas constitutivamente (RANG et al., 2016).

*"Quando isso ocorre, a enzima não inativa o fármaco no meio circundante e sim mantém-se conectada à parede celular, impedindo o acesso do fármaco aos locais-alvo associados à membrana. Muitas dessas  $\beta$ -lactamases são codificadas pelos transpósons, alguns dos quais podem também transportar determinantes de resistência a vários outros antibióticos."* (RANG et al., 2016)

O cloranfenicol é inativado pela *cloranfenicol acetiltransferase*, uma enzima produzida por cepas resistentes, tanto de microrganismos Gram positivos quanto Gram negativos, sendo o gene da resistência transportado por plasmídeos (RANG et al., 2016). Nos Gram negativos, mediante a produção constitutivamente da enzima a resistência pode ser cinco vezes maior que nas bactérias Gram-positivas, nas quais a enzima é indutível (RANG et al., 2016).

Genes de resistência aos aminoglicosídeos são transportados nos plasmídeos e vários são encontrados nos transpósons (RANG et al., 2016). São inativados por fosforilação, adenilação ou acetilação, e as enzimas necessárias são encontradas tanto em Gram negativos quanto nos Gram positivos (RANG et al., 2016). Os genes de resistência são transportados nos plasmídeos e vários são encontrados nos transposons (RANG et al., 2016).

#### *b. Bloqueio da entrada no sítio-alvo dentro do micróbio*

É quando ocorre alteração nos pontos de ligação do fármaco (item b, Figura 8). Bactérias Gram negativas são relativamente mais

resistentes a antibióticos devido à natureza de suas paredes celulares, que restringem a absorção de moléculas e seu movimento por porinas (aberturas na membrana) (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Alguns mutantes bacterianos modificaram a abertura das porinas de forma que os antibióticos são incapazes de entrar no espaço periplasmático (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

As  $\beta$ -lactamases podem estar presentes no espaço periplasmático, obstruindo o acesso do fármaco ao interior da célula bacteriana, mantendo o antibiótico fora dela (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Nesses casos, a enzima é muito grande para penetrar até mesmo uma porina normal, se mantendo nesse sítio, onde alcança e inativa o antibiótico (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

### *c. Alterações no sítio-alvo da droga*

É a redução da captura do fármaco pela bactéria (item c, Figura 8). A síntese de proteínas envolve o movimento de um ribossomo ao longo de uma fita de mRNA, mas acontece que vários antibióticos, especialmente os grupos de aminoglicosídeos, tetraciclinas e macrolídeos, inibem a síntese proteica nesse sítio (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Por uma mutação cromossômica, uma pequena modificação pontual, no sítio de ligação podem neutralizar os efeitos dos antibióticos sem que ocorram alterações significativas nas funções celulares (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012) (RANG et al., 2016). De modo interessante, o principal mecanismo pelo qual o micróbio ganha ascendência sobre a metilina é a modificação da proteína de ligação à penicilina (PBP, de penicillin-binding protein), presente na membrana plasmática bacteriana (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). As cepas passam a ser resistentes ao desenvolver uma PBP modificada, adicional.

Os antibióticos inibem a ação da PBP normal. Contudo, a PBP adicional presente nas células mutantes, embora se ligue fracamente ao antibiótico, permite a síntese de uma parede celular adequada à sobrevivência da bactéria resistente a antibiótico (BRA) (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Antibióticos  $\beta$ -lactâmicos agem também pela ligação à PBP, para iniciar a ligação cruzada entre peptidoglicanos e a formação da parede celular (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

#### *d. Efluxo e ejeção do antibiótico na bactéria*

O mecanismo de efluxo e ejeção de antibióticos, como o próprio nome diz, trata da capacidade de um microrganismo absorver e ejetar o fármaco, item d da Figura 8. É fruto da ocorrência de genes para resistência no plasmídeo que codificam proteínas indutíveis na membrana bacteriana, agem como bombas que expõem os antibióticos das tetraciclinas dependente de energia, e daí a resistência (RANG et al., 2016).

Particularmente mais comum em bactérias Gram negativas, mas as bactérias normalmente apresentam muitas dessas bombas de efluxo para eliminar substâncias tóxicas ou em excesso intracelularmente (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). E também é responsável pela resistência a praticamente todas as principais classes de antibióticos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

#### *e. Alteração das vias enzimáticas*

A resistência à trimetoprima é o resultado da síntese dirigida por plasmídeo da *di-hidrofolato redutase*, com afinidade baixa ou zero, pela trimetoprima. Ela é transferida por transdução e pode ser disseminada pelos transpósons (RANG et al., 2016). A resistência à sulfonamida em muitas bactérias é mediada por plasmídeos e resulta da produção de uma forma de *di-hidropteroato sintetase* com baixa afinidade pelas

sulfonamidas, mas sem alteração quanto ao ácido p-aminobenzóico (PABA) (RANG et al., 2016) (Figura 8, item e).

## **1.9. ANTIBIOGRAMA**

O antibiograma foi descrito em 1966, por Bauer e Kirby, como um teste qualitativo de suscetibilidade. Atualmente, ainda é amplamente usado em laboratórios de análises microbiológicas. Para a realização do método são utilizados antimicrobianos conhecidos e em concentrações fixas que são colocados após a semeadura do inóculo bacteriano (BAUER et al., 1966).

Um antibiograma é um ensaio qualitativo que permite inferir sobre a susceptibilidade/resistência de uma bactéria a um ou mais agentes antimicrobianos (MORETTI, 2007). Um método quantitativo é a determinação da concentração mínima inibitória (MIC).

O teste de disco-difusão, é feito utilizando-se discos de difusão antibióticos depositados sobre a superfície do meio onde se inoculou, por espalhamento, uma amostra de uma cultura bacteriana previamente crescida em meio líquido (MORETTI, 2007). Para a interpretação dos dados, os halos formados são medidos em milímetros e comparados com dados de referência para traçar o perfil de suscetibilidade (sensível, intermediário, resistente).

O ágar de Mueller Hinton é recomendado pelo U.S. FDA e pela OMS para o teste de sensibilidade/resistência a antibióticos de bactérias Gram positivas ou negativas, aeróbicas ou anaeróbicas facultativas, comumente encontradas em alimentos e espécimes clínicos (MORETTI, 2007).

### **1.10. *Enterococcus* spp**

Os enterococos são cocos Gram positivos que ocorrem isoladamente, em pares ou como cadeias curtas (FACKLAM; CARVALHO; TEIXEIRA, 2002). Todas as cepas produzem *leucina aminopeptidase*. A maioria dos enterococos como *E. cecorum*, *E. columbae*, *E. pollens* e *E. saccharolyticus* hidrolisa *pirrolidonil-p-naftilamida* (PYR) (FACKLAM; CARVALHO; TEIXEIRA, 2002).

Antes os *Enterococcus* spp. eram considerados parte do gênero *Streptococcus*, mas atualmente constituem seu próprio gênero (MURRAY, 1990). Até a década de 1990, 12 espécies patogênicas a humanos estavam descritas, os isolados humanos mais comuns, são *E. faecalis* e *E. faecium* (MURRAY, 1990). Em 2012, 41 espécies taxonomicamente validadas foram descritas na literatura (DOS SANTOS, 2012). Em 2015 este número chegou a 54 espécies e duas subespécies estão descritas no gênero, e os *E. faecium*, seguido do *E. faecalis* são as espécies mais frequentemente isoladas de casos de infecção humana como as nosocomias, pélvicas e do trato urinário (SACRAMENTO, 2015).

Espécies de *Enterococcus* podem ser encontrados em diversos ambientes como: solo, água, plantas e animais (CORRÊA; FUENTEFRIA; CORÇÃO, 2005). São capazes de resistir a ambientes salinos (concentrações de 6,5% de NaCl), em ambientes básicos com pH 9,6 e em temperaturas entre 10-45°C (CORRÊA; FUENTEFRIA; CORÇÃO, 2005).

Os enterococos patogênicos são cada vez mais resistentes aos agentes antimicrobianos (MURRAY, 1990). O interesse nas patogenias ocasionadas por eles, vem de sua alta resistência a antimicrobianos e sua presença na disseminação desta resistência na cadeia alimentar (CORRÊA; FUENTEFRIA; CORÇÃO, 2005). Um fato importante é que muitos dos microrganismos viventes no sistema gastrintestinal de suínos podem não oferecer risco à saúde do próprio, no entanto,

quando entram em contato com outros organismos podem oferecer algum mal a saúde (ANVISA, 2007).

As duas espécies mais comuns, *E. faecalis* e *E. Faecium*, normalmente promovem colonização e infecções em humanos e, portanto, são mais estudadas. Com relação a sua resistência intrínseca, os *Enterococcus* spp se mostram resistentes a penicilinas (oxacilina e meticilina), clindamicina, cefalosporinas e sulfametoxazol/trimetoprim e apresentam baixa resistência em relação a agentes ativos na parede celular penicilina e vancomicina (ANVISA, 2018; SEJAS et al., 2003).

O baixo nível de resistência também aos aminoglicosídeos, estreptomicina, gentamicina e tobramicina. Por outro lado, a resistência adquirida está associada a resistência à penicilina e não betalactâmico mediados devido à alteração de PBPs (proteínas de ligação da penicilina) (ANVISA). Com a  $\beta$ -lactamase mediada a resistência à ampicilina e penicilina também pode ser atribuída à produção da enzima  $\beta$ -lactamase, descrita quase que exclusivamente para o *E. faecalis* e atribuída, na maioria dos casos, à aquisição do operon responsável pela produção de  $\beta$ -lactamase do *Staphylococcus aureus* (ANVISA).

Os altos níveis de resistência a aminoglicosídeos (HLAR - High-level Resistance to Aminoglycosides), a resistência é mediada pela aquisição de novos genes que codificam enzimas que promovem modificações nos aminoglicosídeos (ANVISA). Além disso, o interesse nas patogenias ocasionadas por *Enterococcus* vem de sua alta resistência a antimicrobianos e da sua importância na disseminação de resistência no ambiente e na cadeia alimentar (CORRÊA; FUENTEFRÍA; CORÇÃO, 2005).

Os enterococcus podem ser usados para avaliar a qualidade de águas e mensurar os riscos à saúde pública, assim como os coliformes termotolerantes, no entanto não há padrões estabelecidos para

enterococcus, ou a despeito do reuso de lodos onde estes estão presentes, nas legislações vigentes (CONAMA, 2005, 2006, 2011) (VILANOVA et al., 2004). Em amostras de efluentes suínos, tais microrganismos são observados com frequência (MOURA, 2017) (CORRÊA; FUENTEFRIA; CORÇÃO, 2005) e mesmo que amostrados após o tratamento, os efluentes podem ser lançados nos corpos d'água, caracterizando um foco disseminador de patógenos (CONAMA, 2005, 2006, 2011).

Nos criadouros de suínos, temos a geração em larga escala de dejetos ao longo de toda a cadeia produtiva. Muitos trabalhos relatam a presença de uma variedade de cepas tanto nos dejetos quanto nos efluentes tratados (CORRÊA; FUENTEFRIA; CORÇÃO, 2005; FILSNER et al., 2015; SILVEIRA et al., 2011). Estes fatos reforçam o quão importante se faz o estudo desses microrganismos sob o ponto de vista de saúde pública.

Por serem organismos patogênicos, estes micróbios, que afetam a saúde humana e de outros animais, se faz necessário estudá-los, como medida preventiva de futuras epidemias. Além de ser facilitada a conscientização de produtores de carne suína, por meio de maior embasamento científico a cerca do uso indiscriminado de antimicrobianos.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.2. OBJETIVO GERAL**

Avaliar a presença de *Enterococcus* spp. resistentes a antimicrobianos em um sistema de tratamento de suinocultura, composto por um biodigestor anaeróbio e uma lagoa facultativa.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Isolar bactérias do gênero *Enterococcus* em amostras de dejetos brutos de suinocultura e do efluente tratado.
- Investigar a ocorrência da resistência aos antimicrobianos dos *Enterococcus* spp. antes e após o tratamento biológico.

## 4. MATERIAS E MÉTODOS

### 4.1. COLETA DAS AMOSTRAS

O presente estudo foi realizado a partir de amostras fornecidas por uma granja de suinocultura localizada no estado de Minas Gerais, Brasil. A granja é responsável apenas pelas etapas de reprodução e criação de suínos e não conta com a etapa de abate. Como uma empresa com potencial poluidor, possui um sistema de tratamento de dejetos composto por um biodigestor seguido de uma lagoa facultativa (Figura 9). O tempo de detenção hidráulico não foi informado pelo proprietário.



Figura 9 – Imagens dos componentes do STD.

a) Imagem dos biodigestores anaeróbios – modelo lagoa coberta, demonstrando os pontos de coleta 1.EB1 (afluente ao biodigestor 1) e 3.SB1 (efluente ao biodigestor 1). b) Imagem da lagoa facultativa e do ponto de coleta SB (saída do biodigestor).

Fonte: CAMILA DIAS (2018) modificado. Acesso em 8 de jan. de 2019.

O efluente tratado dessa lagoa é utilizado para irrigar plantações próximas a granja. Foram realizadas três coletas simples: setembro e dezembro de 2017 e março de 2018. A coleta se deu em dois pontos: 1) do dejetos afluente ao biodigestor e 2) efluente tratado da lagoa (Figura 10). Para coletar, foram utilizados frascos de vidro com tampa com volume de 1L, preenchidos com a sua capacidade máxima. A Figura 11, ilustra amostras do dejetos bruto (DB) e do efluente tratado (ET), do sistema.

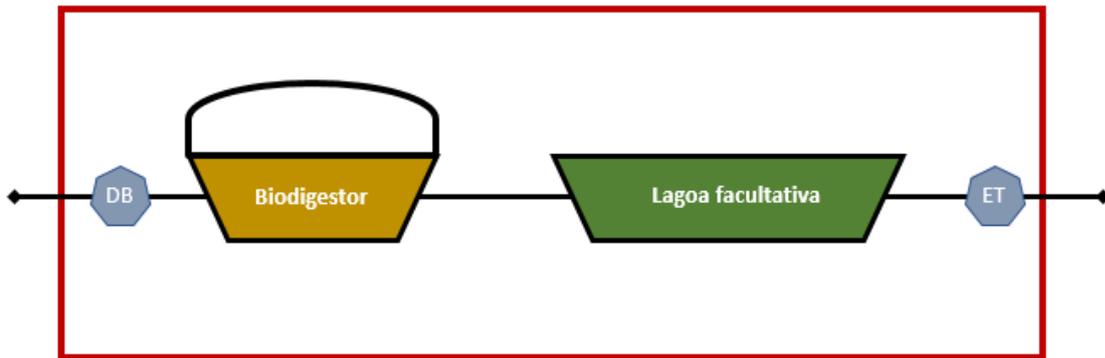


Figura 10 – Diagrama esquemático do sistema de tratamento da granja. O diagrama representa os pontos das coletas no STD, demarcados como DB, amostras do dejetos bruto a adentrar o biodigestor e ET, para amostras do efluente tratado, a partir do efluente tratado da lagoa.  
 Fonte: CAMILA DIAS (2018) modificado. Acesso em 8 de jan. de 2019.



Figura 11 – Amostras da primeira coleta do dejetos bruto (DB) e efluente tratado (ET).  
 Fonte: CAMILA DIAS (2018) modificado. Acesso em 8 de jan. de 2019.

As análises bacteriológicas se deram no Laboratório de Biologia e Tecnologia de Micro-organismos (LBTM) localizado no Instituto de Ciências Exatas e Biológicas (ICEB), da Universidade Federal de Ouro Preto.

## **4.2. ISOLAMENTO E SELEÇÃO DOS ISOLADOS**

As amostras passaram por uma etapa de diluição em tampão de Fosfato Salino (PBS) 1x, em que 1 mL da amostra foi colocada em um tubo com 9 mL de PBS 1x, sofrendo diluições de  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$  para cada um dos pontos de coleta. Posteriormente, foram plaqueados pelo método de *spread plate* em placas de petri contendo o meio seletivo Bile Esculina acrescido de 0,01% de azida sódica para seleção de microrganismos do gênero *Enterococcus* (CÂMARA, 2016).

Conforme descrito na literatura, as placas foram incubadas por 24 h, a 37°C (MOURA, 2017). Após a incubação, foram selecionadas as placas para isolamento das colônias, das quais optou-se por aquelas que apresentavam aproximadamente 20 colônias. Na sequência, foi realizada repicagem das colônias em novas placas contendo o mesmo meio para confirmação da pureza das colônias e novamente incubadas, por 48 h a 37°C. Obtidas as colônias isoladas, estas foram inoculadas em caldo nutriente, ficando incubadas a 37°C por 24h em *shaker* sob agitação constante. Uma alíquota da solução de cada isolado dos *Enterococcus* em caldo nutriente foi utilizada para armazenamento, estocada em meio refrigerado com glicerol 20% e mantidos em freezer a -70°C para manutenção e criação da coleção.

## **4.5. AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS PELO MÉTODO DE DISCO-DIFUSÃO**

Os antibiogramas foram executados conforme o indicado pela CLLS1 2013. O inóculo foi preparado a partir do método do crescimento em caldo nutriente, em que 2 a 4 colônias de cultura pura foi transferida para um tubo contendo 5 mL de meio caldo nutriente e incubada em uma estufa a 35°C até alcançar o grau de turbidez de uma solução padrão de McFarland 0,5 (de 6 à 18 horas). Este processo foi repetido para cada isolado.

Após a incubação, cada uma das culturas em caldo nutriente passou a ser inoculada individualmente em placas de *petri* contendo o meio ágar Müeller-Hinton. Para a realização do antibiograma, mergulhou-se um *swab* de algodão estéril no inóculo descartando o excesso contido no *swab* e distribuindo o restante em toda a superfície do ágar Müeller-Hinton. Era passado o *swab* no ágar em direções opostas sobre o meio, a fim de assegurar a distribuição uniforme do inóculo. Logo em seguida, foram colocados os discos-difusão contendo os antibióticos sobre o inóculo. O antibiograma foi realizado com 12 antibióticos (Tabela 1), contidos em um disco da marca DME, denominado Polisen Disk para *Enterococcus* spp.

As placas foram invertidas e incubadas em uma estufa a 37°C por 16 a 18 horas. Os halos formados, incluindo o diâmetro do disco, foram medidos em milímetros com o auxílio de um paquímetro e, posteriormente, classificados em sensível, intermediário e resistente de acordo com o tamanho do diâmetro do halo e comparados aos dados do fornecedor dos discos que condizem com os dados da CLLSI (2013).

Tabela 1 – Antimicrobianos testados para *Enterococcus* spp, fornecidos pela DME.

Antibacteriano	Código/ Potência	Amplitude do halo (mm)		
		Resistente	Intermediário	Sensível
Ampicilina	AMP 10	≤ 16	-	≥ 17
Ciprofloxacina	CIP 05	≤ 15	16-20	≥ 21
Estreptomicina (HLAR)	EST 300	6	7-9	≥ 10
Gentamicina (HLAR)	GEN 120	6	7-9	≥ 10
Levofloxacina	LEV 05	≤ 13	14-16	≥ 17
Linezolida	LNZ 30	≤ 20	21-22	≥ 23
Nitrofurantoina	NIT 300	≤ 14	15-16	≥ 17
Norfloxacina	NOR 10	≤12	13-16	≥ 17

Penincilina G	PEN 10 UI	≤ 14	-	≥ 15
Teicoplanina	TEC 30	≤ 10	11-13	≥ 14
Tetraciclina	TET 30	≤ 14	15-18	≥ 19
Vancomicina	VAN 30	≤ 14	15-16	≥ 17

Os antibióticos testados pertenciam a sete grupos distintos de fármacos utilizados na terapêutica humana, a saber: penicilinas, flourquinolonas, glicopeptídeos, aminoglicosídeos, tetraciclina, oxazolidononas e nitrofuranos conforme o Quadro 1.

Para a análise das resistências a antibióticos pelos enterococcus isolados e testados, a porcentagem de resistência a cada antibiótico foi agrupada por classes de antibióticos por mecanismos de resistência.

Quadro 1 – Relação dos antibióticos testados separados por classe e os respectivos mecanismos de ação.

<b>Antibiótico</b>	<b>Classe</b>	<b>principais mecanismos de resistência</b>
<b>Penicilina G</b> <b>Ampicilina</b>	Penicilina	Alterações no sítio-alvo da droga e destruição ou inativação por enzima
<b>Ciprofloxacina</b> <b>Levofloxacina</b> <b>Norfloxacina</b>	Flourquinolona	Efluxo e ejeção
<b>Teicoplanina</b> <b>Vancomicina</b>	Glicopeptídeo	Alteração do sítio-alvo da droga
<b>Estreptomina</b> <b>Gentamicina</b>	Aminoglicosídeos	Destruição ou inativação por enzima
<b>Tetraciclina</b>	Tetraciclina	Alterações no sítio-alvo da droga e efluxo e ejeção
<b>Linezolida</b>	Oxazolidonona	Destruição ou inativação por enzima

**Nitrofurantoina**

Nitrofurano

Bloqueio da  
entrada no sítio-  
alvo

Fonte: TORTORA, FUNKE; CASE (2016); DME (2018); SILVEIRA et al. (2006); DA SILVA; HOLLENBACH (2010); MOREIRA et al. (2013).

#### **4.6. ANÁLISE DE DADOS**

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Kruskal Wallis no software GraphPad Prism versão 5.0. Os resultados obtidos para a análise da resistência, sensibilidade e intermediário, foram comparados em tabelas individuais nos testes de Qui-quadrado com intervalo de confiança de 95% desenvolvidos no software GraphPad Prism versão 5.0 as diferenças foram consideradas significativas quando  $\hat{p} < 0,05$ .

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O procedimento de isolamento foi conduzido para todas as amostras coletadas. As três coletas possibilitaram obter um total de 74 colônias de bactérias do gênero *Enterococcus*. Este número está próximo ao encontrado por CORRÊA; FUENTEFRÍA; CORÇÃO em 2005 (85 isolados) e inferior ao encontrado por MOURA, em 2017 (127 isolados). A partir das amostras do dejetto bruto (DB), foram obtidas 44 colônias, enquanto para o eluente tratado (ET), foram obtidos 30 colônias (Tabela 2).

Tabela 2 – Total de isolados resistentes ou multirresistentes encontrados nas amostras, distribuídos ao longo das três coleta.

<b>COLETA</b>	<b>DB</b>	<b>ET</b>	<b>TOTAL POR COLETA</b>
<b>1</b>	12	19	31
<b>2</b>	16	11	27
<b>3</b>	16	0*	16
<b>TOTAL</b>	44	30	74

DB: dejetto bruto; ET: efluente tratado. \* A amostra da terceira coleta não apresentou crescimento em nenhuma das diluições após plaqueamento.

A amostra do efluente tratado do biodigestor, na terceira coleta foi plaqueada por três tentativas, mas não apresentou crescimento visível de colônias enterocócicas. Para verificação da ausência dos microrganismos, foram realizadas mais três tentativas de inoculação e não apresentaram crescimento visível de colônias de *Enterococcus* spp. Os métodos utilizados foram os mesmos, assim como o meio seletivo bile esculina acrescido de azida sódica foi o mesmo utilizado nas demais coletas o que rechaça a hipótese de ser problema com a suplementação do meio.

Inicialmente é apresentado o resultado da prevalência de resistência a antimicrobianos. Cinco antibióticos estão envolvidos com mecanismo enzimático para resistência, destes quatro (penicilina, linezolida, ampicilina e estreptomicina) apresentaram aumento da

porcentagem de isolados resistentes no efluente trado do sistema em relação ao dejetos bruto. Sendo que a resistência à penicilina e a estreptomicina se destacam, principalmente, devido ao número de isolados resistentes (aumento de 22 e 14%, respectivamente, ( $p < 0,05$ )) (Gráfico 1). Resultados semelhantes foram obtidos por MOURA (2017) em sistemas de tratamento de efluentes suínos e também por ALONSO et al. (2017) em isolados de *Enterococcus faecalis* resistentes obtidos na Universidade Hospital Miguel Servet (HUMS), clínica Universitaria Lozano Blesa (HCULB) Hospital Royo Villanova e (VFC) Hospital.

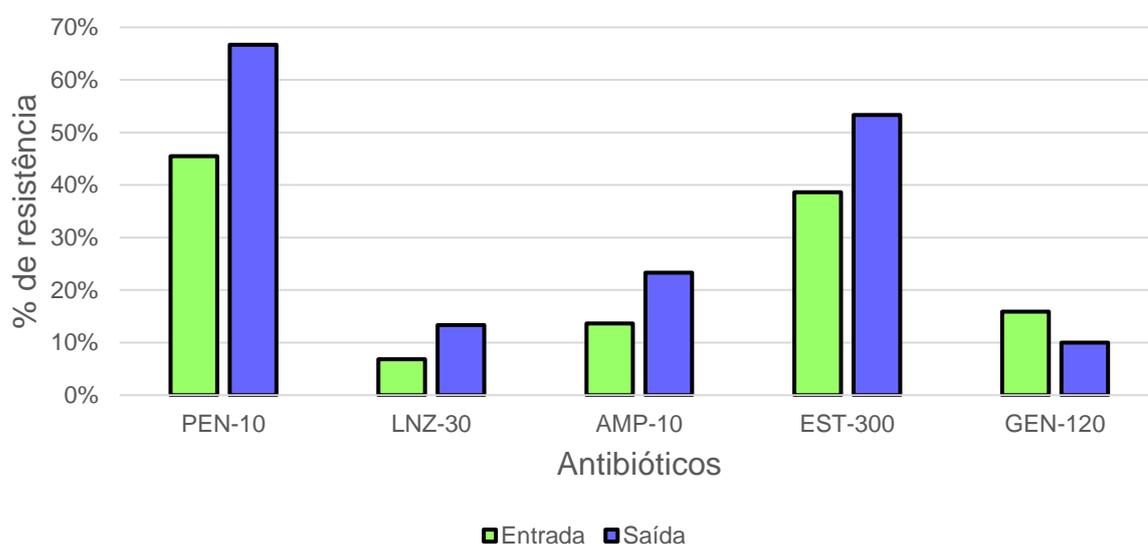


Gráfico 1 – Análise da resistência em porcentagem dos antibióticos cuja resistência envolve o mecanismo enzimático. Em verde estão os valores do afluente ao biodigestor (DB) e em azul, o efluente trado da lagoa (ET). PEN-10 (penicilina), LNZ-30 (linezolida), AMP-10 (ampicilina), EST-300 (estreptomicina) e GEN-120 (gentamicina).

Apesar da penicilina e ampicilina pertencerem a mesma classe e apresentarem aumento da resistência após o tratamento, ampicilina não apresentou diferença estatisticamente significativa. Apenas a gentamicina apresentou 6% de redução após o tratamento ( $p = 0,207$ ). Moreno e colaboradores (2000) encontraram aproximadamente 10% de resistência à gentamicina nas fezes de

suínos, porcentagem abaixo do encontrado no dejetos bruto deste estudo, porém semelhante ao encontrado no efluente tratado.

A linezolida apresentou um acréscimo de 6% no efluente tratado ( $p=0,157$ ). Em dados encontrados por KOBAYASHI et al. (2011), provenientes dos espécimes clínicos de pacientes internados em um hospital público de Goiânia, referência em urgência e emergência, a taxa de suscetibilidade à linezolida por *E. faecium*, foi de 94,9%. Já as amostras obtidas por incisão com bisturi, no intestino grosso de porcos de abatedouros da união europeia estudadas por De Jong e colaboradores (2009) (*Enterococcus* spp.,  $n = 718$ ) não foi observada resistência a linezolida.

No Gráfico 2 está apresentado os dados referentes ao único antibiótico testado que está ligado ao mecanismo de bloqueio da entrada do antibiótico, a nitrofurantoina. Notou-se um aumento de 25% na resistência a nitrofurantoina após o tratamento.

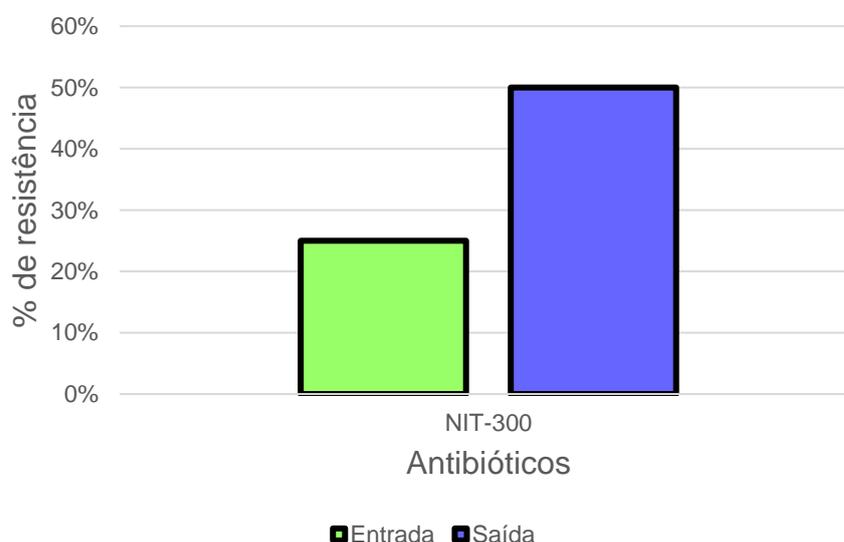


Gráfico 2 – Análise da resistência em porcentagem dos antibióticos cuja resistência envolve o mecanismo de bloqueio da entrada no sítio-alvo dentro do microrganismo. Em verde estão os valores do afluente ao biodigestor (DB) e em azul, o efluente tratado da lagoa (ET). NIT-300 (nitrofurantoina)

Os resultados de resistência cujos mecanismos são a alteração do sítio-alvo da droga são observados no Gráfico 3. Dentre os quatro

antibióticos testados, três deles mostram diminuição na proporção de isolados resistentes, sendo que a teicoplanina era o único com 100% de decréscimo da resistência. Segundo PISSETTI (2016), a ocorrência da resistência a teicoplaninas nos suínos teria relação com o fato da avoparcina, um glicopeptídeo semelhante à vancomicina e teicoplanina, ser acrescentado na ração animal como um promotor do crescimento.

Vancomicina e tetraciclina têm as menores reduções de resistência entre os pontos de coleta e, particularmente, a resistência à tetraciclina alcançou os maiores valores relativos (90 e 100%). Enquanto a resistência à vancomicina apresentou baixos percentuais tanto na entrada quanto no efluente trado da lagoa. Ampicilina e penicilina foram os únicos antibióticos que demonstraram aumento de resistência. A prevalência de *E. faecium* resistente à vancomicina foi avaliada nos estudos de MORENO et al. (2000), em que seus dados e estudos com fezes de suínos em abatedouros mostraram uma prevalência de 7,1% em 1998.

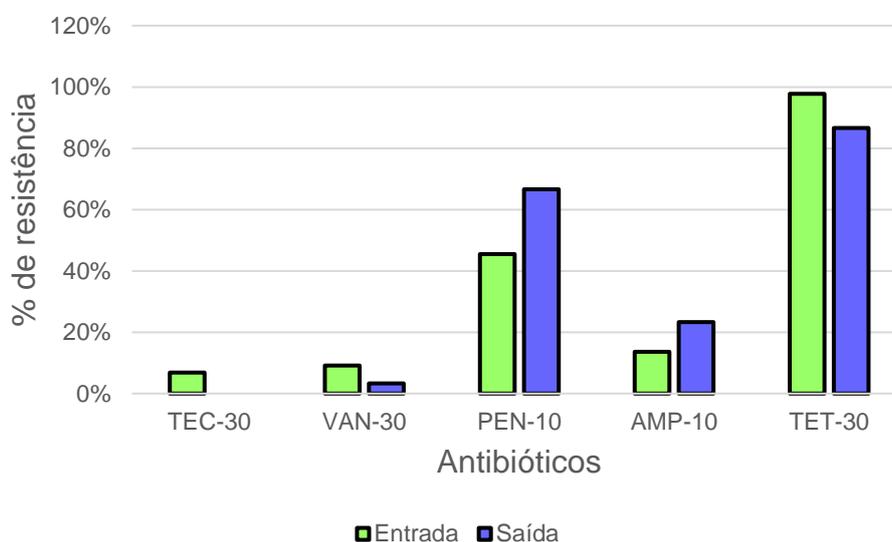


Gráfico 3 – Análise da resistência em porcentagem dos antibióticos envolvidos no mecanismo de alteração do sítio-alvo da droga. Em verde estão os valores do afluente ao biodigestor (DB) e em azul, o efluente trado da lagoa (ET). TEC-30 (teicoplanina), VAN-30 (vancomicina), PEN-10 (penicilina) e TET-30 é a tetraciclina).

A análise da resistência por meio dos mecanismos de efluxo e ejeção de antimicrobianos são apresentados no Gráfico 4. Para os quatro antibióticos testados, o sistema teve pouca influência, seja no aumento ou na diminuição da resistência. Para norfloxacina e tetraciclina houve um pequeno decréscimo na proporção de isolados resistentes (10%), enquanto que para levofloxacina e ciprofloxacina o nível de resistência antes e depois do tratamento se mantiveram.

A levofloxacina em amostras de gado leiteiro foi o único fármaco em que no trabalho de Resende (2013) foi relatado não haver resistência. Já no trabalho de Tigre (2018), suas cepas apresentaram sensibilidade a lefloxacin. Já para norfloxacina, Giraldi (2014) obteve 83% de resistência à levofloxacina em *E. faecalis* em amostras de carnes cruas de frango e suínos e em produtos de carnes processadas adquiridos de diferentes supermercados no interior do estado do Paraná.

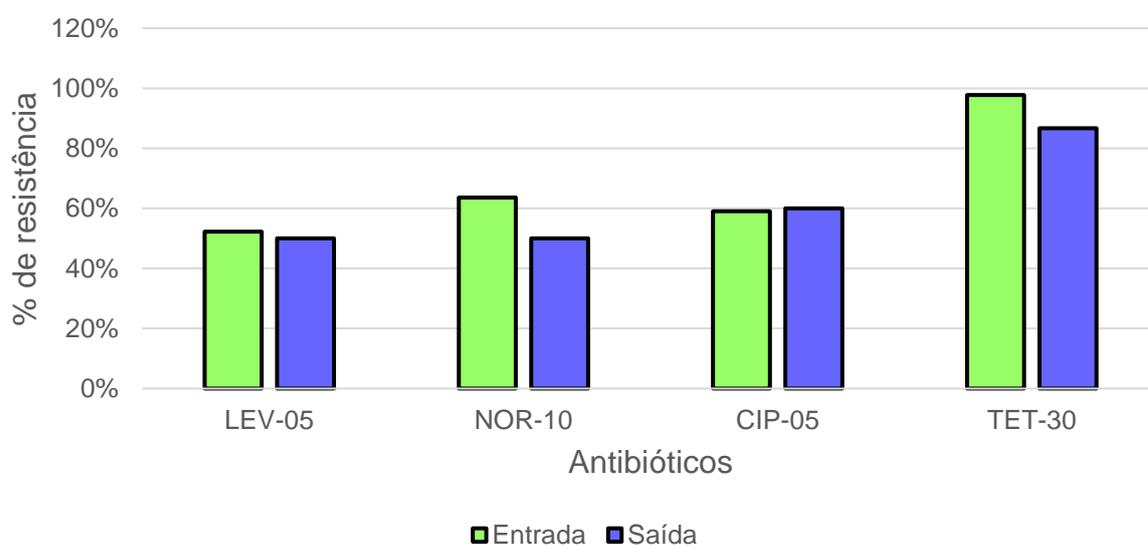


Gráfico 4 – Análise da resistência em porcentagem dos antibióticos envolvidos no mecanismo de efluxo e ejeção do antibiótico no micróbio. Em verde estão os valores do afluente ao biodigestor (DB) e em azul, a saída da lagoa (ET). TEC-30 é a tetraciclina, VAN-30 (vancomicina), PEN-10 é a penicilina, seguido de ampicilina (AMP-10) e tetraciclina (TET-30).

Um total de 36,5% (n=27) das cepas manifestaram resistência a pelo menos uma classe dos fármacos testados e no máximo dois

deles. Ao todo 63,5% (n=47) dos isolados se mostraram multirresistentes a três ou das classes dentre as sete classes estudadas. A maior parte dos multirresistentes 33,8% (n=25) estava contida no DB.

A multirresistência pode estar associada a aplicação de variados antimicrobianos na granja e também a metais pesados, como o cobre comumente presente em amostras de suinocultura (SILVEIRA et al., 2011). Os maiores números de cepas multirresistentes e as multirresistências aos maiores números de classes farmacológicas estavam frequentemente contidas nos isolados do efluente tratado. O incremento de resistência a certos fármacos pode ser atribuído ao tempo de detenção, ao contato com outras bactérias em que algumas destas poderiam estar dentro do biodigestor por tempos diferentes, além da presença de antibióticos e metabólitos presentes nos dejetos brutos.

Considerando os dados por antibiótico, em todas as coletas a tetraciclina apresentou os maiores números de isolados resistentes, tanto na entrada quanto na saída, salva a terceira coleta do efluente tratado em que não houve crescimento bacteriano visível.

Apenas não apresentaram isolados resistentes em pelo menos uma das coletas para: teicoplanina, vancomicina, linezolida e ampicilina. Mas somente teicoplanina aparecia em todas coletas com isolados resistentes. Muito embora, linezolida, ampicilina e ciprofloxacina tenham apresentado aumento após o tratamento, apresentaram dados estatisticamente não significativo ( $p > 0,05$ ), portanto, não pode ser considerada eficiência de remoção de patógenos resistentes pelo sistema de tratamento para estes.

Já a penicilina, nitrofurantoina, tetraciclina e estreptomicina apresentaram aumento da resistência com aumento estatisticamente significativo (Tabela 3). As diferenças entre as porcentagens de

resistência não foram discrepantes para a maioria dos antibióticos testados.

Tabela 3 – Valores e diferença da resistência encontrada antes e depois do tratamento.

<b>Antimicrobiano</b>	<b>DB</b>	<b>ET</b>	<b>Diferença</b>
<b>LEV-05</b>	52%	50%	-2%
<b>TEC-30</b>	7%	0%	-7%
<b>NOR-10</b>	64%	50%	-14%
<b>VAN-30</b>	9%	3%	-6%
<b>PEN-10</b>	45%	67%	22%
<b>LNZ-30</b>	7%	13%	6%
<b>AMP-10</b>	14%	23%	9%
<b>CIP-05</b>	59%	60%	1%
<b>NIT-300</b>	25%	50%	25%
<b>TET-30</b>	98%	87%	-11%
<b>EST-300</b>	39%	53%	14%
<b>GEN-120</b>	16%	10%	-6%

Os antibióticos destacados em cinza apresentaram diferença estatística ( $\hat{p} < 0,05$ ). DB corresponde ao dejetos bruto, ET, o efluente tratado e a coluna diferença, diz respeito a porcentagem de aumento (positivos) e diminuição (negativos) de resistência.

O sistema de tratamento apresentou eficiência significativa para remoção de resistência de teicoplanina, enquanto para penicilina, nitrofurantoina, tetraciclina e estreptomicina, o sistema teve um significativo aumento, demonstrando ineficiência na remoção de resistência a estas drogas. Os valores de qui-quadrados para sete dos antibióticos testados (levofloxacina, norfloxacina, vancomicina, linezolida, ampicilina, ciprofloxacina e gentamicina) foram  $\hat{p} > 0,05$ , logo, não significativos.

Tem-se que levar em consideração que o sistema de tratamento não é construído/dimensionado visando a remoção de patógenos e, sim, para biodigestão dos dejetos brutos com o fim de minimizar a carga poluidora, removendo, por exemplo, matéria orgânica e sólidos. O sistema utilizado neste estudo favoreceu o decréscimo de cepas resistentes apenas a alguns dos fármacos testados, porém a maioria dos dados significativos estatisticamente estavam associados ao

incremento de resistência bacteriana pós tratamento. Logo, o STD em questão, revelou não ser capaz de eliminar totalmente as populações bacterianas resistentes.

A empregabilidade do STD se mostrou eficiente apenas para a remoção da resistência a teicoplanina. Para penicilina, nitrofurantoina, tetraciclina e estreptomicina a passagem das bactérias pelo tratamento favoreceu um aumento significativo na resistência a estes antibióticos. Os testes mostraram que existem *Enterococcus* resistentes alguns grupos dos fármacos proibidos na suinocultura como nitrofuranos (nitrofurantoina), tetraciclina e a estreptomicina (aminoglicosídeos). Apontando o fato de que ou estes antibióticos podem ter sido usados na produção, ou a presença de genes de resistência, ou mesmo que já haveriam presentes bactérias resistentes no trato intestinal dos suínos por apresentarem resistência a estes antibióticos nos dejetos brutos. Houve acréscimo, também, da resistência a antibióticos dentre os grupos de uso permitido, como no caso de penicilinas.

Já para os aminoglicosídeos, houve decréscimo como na teicoplanina que obteve remoção completa da resistência. Pode-se atribuir esse decréscimo, ao fato dos aminoglicosídeos não terem sido de uso constante, ou a resistência a esse tipo de fármaco pode estar atrelada a outras condições necessárias para ser passada a diante.

O tipo de mecanismo de resistência existente parece não apresentar um padrão associado ao incremento ou decréscimo da resistência em relação a classe do antimicrobiano para *Enterococcus* spp. É possível que o tratamento eficiente de dejetos suínos possa contribuir para a prevenção da disseminação de poluentes no ambiente e, também, no carreamento de patógenos resistentes a antibióticos, reduzindo o impacto causado pela disposição final de dejetos no solo e como adubo orgânico (BESSA et al., 2011).

O efluente tratado poderia baratear gastos futuros com o manejo de outros empreendimentos (LUDTKE, 2010) (HENRIQUE et al., 2001).

Poucas adaptações seriam necessárias e o próprio biodigestor reduziria parte dos microrganismos dos efluentes (OLIVEIRA et al., 1993). E se na sequência houvesse um tratamento visando o reúso, seria possível remover patógenos, melhorando sua qualidade.

Além disso, a reutilização de águas residuárias geradas na suinocultura pode atender a demanda de água e de fertilizantes para manter as matrizes sunícolas, com o reúso no próprio processo e a utilização na agricultura (KUNZ; MIELE; STEINMETZ, 2009). Para isso a qualidade microbiológica da água precisa ser avaliada para que o sistema seja confiável (Mancuso e Santos, 2003).

Os enterococcus são frequentemente associados a infecções nosocomiais em pacientes críticos, responsáveis por infecções hospitalares por colonizarem cateteres e próteses articulares (Arias & De Maio Carrilho, 2012; SFACIOTTE et al., 2014). Além disso, causam infecções pélvicas, neonatais e do trato urinário, bacteremia, meningite, infecciona feridas operatórias e, a mais comum e preocupante, endocardite infecciosa (ARIAS & MURRAY, 2008; Arias & De Maio Carrilho, 2012). Essas características fazem com que se tenha uma preocupação maior com a disseminação de resistência atribuída a este gênero e, principalmente, por terem a capacidade de compartilhar seus genes de resistência, não só com outros gram positivos, mas também com gram negativos.

## **6. CONCLUSÃO**

O sistema de tratamento de dejetos da suinocultura investigado neste trabalho mostra a ocorrência de bactérias do gênero *Enterococcus* spp. resistentes a vários antibióticos no efluente tratado. Para a maioria dos antibióticos, a proporção de isolados resistentes aumentaram no efluente tratado em comparação ao dejetos bruto, alguns se mantiveram sem alteração enquanto apenas para o antibiótico teicoplanina não foi observado isolados resistentes na saída do tratamento. As resistências e multiresistências aos antibióticos, observados no presente trabalho, sugere que a prática de aplicação do efluente tratado no solo pode contribuir na disseminação de resistência a antibióticos entre microrganismos no ambiente.

## 7. REFERÊNCIAS

ABPA. **Associação Brasileira de Proteína Animal | ABPA**. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/suinoicultura>>. Acesso em: 11 jan. 2018.

ALONSO, C. A. et al. Persistencia de un clon ST6 de Enterococcus faecalis con genotipo van B2 en dos hospitales de Aragón. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 35, n. 9, p. 578–581, nov. 2017.

ALVES MARÇAL, D. et al. Consumo da carne suína no brasil: aspectos simbólicos como determinantes dos comportamentos consumption of pork in brazil: symbolic aspects as determining FACTORS IN BEHAVIOR. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, p. 989–1005, 2016.

ANDRADE, A. N. et al. **“BIODIGESTORES RURAIS NO CONTEXTO DA ATUAL CRISE DE ENERGIA ELÉTRICA BRASILEIRA E NA PERSPECTIVA DA SUSTENTABILIDADE AMBIENTAL”**. Florianópolis - SC: [s.n.]. Disponível em: <<https://www.feagri.unicamp.br/energia/agrener2002/jdownloads/pdf/0107.pdf>>. Acesso em: 22 jan. 2018.

ANGONESE, A. R. et al. Avaliação da eficiência de um biodigestor tubular na redução da carga orgânica e produção de biogás a partir de dejetos de suínos. **Encontro de Energia no Meio Rural**, 2006a.

ANGONESE, A. R. et al. Eficiência energética de sistema de produção de suínos com tratamento dos resíduos em biodigestor. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 3, p. 745–750, set. 2006b.

ANVISA. **Módulo 3: Resistência Microbiana - Mecanismos e Impacto Clínico**. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede\\_rm/cursos/rm\\_controle/opas\\_web/modulo3/gramp\\_entero.htm](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/gramp_entero.htm)>. Acesso em: 5 ago. 2018.

ANVISA. **Módulo 3: Resistência Microbiana - Mecanismos e Impacto Clínico**. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede\\_rm/cursos/rm\\_controle/opas\\_web/modulo3/gramp\\_entero.htm](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/gramp_entero.htm)>. Acesso em: 26 jan. 2018.

ARIAS, M. V. B.; DE MAIO CARRILHO, C. M. D. Resistência antimicrobiana nos animais e no ser humano. Há motivo para preocupação?

**Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 775–790, 2012.

BARCELLOS, D. E. S. N. DE et al. Aspectos práticos sobre o uso de antimicrobianos em suinocultura. **Acta Scientiae Veterinariae**, p. 151–155, 2009.

BAUER, A. W. et al. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. **The American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, n. 4, p. 40–44, 1966.

BESSA, M. C. et al. **AVALIAÇÃO DO EFEITO DE DOIS PROCESSOS DE TRATAMENTO DE DEJETOS DE SUÍNOS SOBRE A REDUÇÃO DE**

**Salmonella sp.** Disponível em:

<<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/914102/1/avalicaodoefeitodedois.pdf>>. Acesso em: 1 dez. 2018.

BRASIL. **Aditivos — Ministério da Agricultura, Pecuária e**

**Abastecimento.** Disponível em:

<<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/aditivos>>. Acesso em: 26 jan. 2018.

CÂMARA, B. **Como fazer diluições seriadas | Biomedicina Padrão.**

Disponível em: <<http://www.biomedicinapadrao.com.br/2016/04/como-fazer-diluicoes-seriadas.html>>. Acesso em: 4 dez. 2017.

CAMPOS, C. M. DO C.; LEMES, R. R. M. Benefícios da carne suína na saúde do consumidor. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 12, n. 06, p. 4457–4463, 2015.

COELHO, S. T. et al. **Geração de energia elétrica a partir do biogás proveniente do tratamento de esgoto.** CONGRESSO BRASILEIRO DE

ENERGIA 11. **Anais...**Rio de Janeiro: Anais 6. Engenharia Rural, 2006 Disponível em:

<<http://www.proceedings.scielo.br/pdf/agrener/n6v1/070.pdf>>. Acesso em: 30 nov. 2018

COLATTO, L.; LANGER, M. Biodigestor – resíduo sólido pecuário para

produção de energia. **Unoesc & Ciência**, v. 2, n. 2, p. 119–128, 2011.

CONAMA. Resolução n 357, 18 de março de 2005. . 2005, p. 58–63.

CONAMA. Resolução nº 375, de 29 de agosto de 2006. . 2006, p. 1–32.

CONAMA. RESOLUÇÃO No 430, DE 13 DE MAIO DE 2011. . 2011, p. 89.

CORRÊA, A. D. A.; FUENTEFRIA, D. B.; CORÇÃO, G. Resistência a antimicrobianos em enterococos isolados de amostras de fezes de suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 621, n. 1678– 0345, p. 155–159, 2005.

DA SILVA, J. M. B.; HOLLENBACH, ; ; C B. **FLUROQUINOLONAS X RESISTÊNCIA BACTERIANA NA MEDICINA VETERINÁRIA** Arq. Inst.

**Biol.** Porto Alegre: [s.n.]. Disponível em:

<[http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/v77\\_2/silva1.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/v77_2/silva1.pdf)>.

Acesso em: 30 nov. 2018.

DAI PRÁ, M. A. ET AL. Compostagem como alternativa para gestão ambiental na produção de suínos. **Evangraf**, 2009.

DEL FIO, F. DE S.; FILHO, T. R. DE M.; GROppo, F. C. Resistência bacteriana. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 57, n. 10, p. 1129–1140, 2000.

DERISIO, J. C. **Introdução ao control de poluição ambiental**. 4ª ed. São Paulo (SP): Oficina de Textos, 2012.

DOS SANTOS, V. S. **Diversidade microbiana, suscetibilidade a antibióticos e fatores de virulência em Enterococcus spp.** [s.l.]

Universidade de Lisboa, 2012.

EMBRAPA. **Estatísticas | Mundo | Suínos - Portal Embrapa**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas/suinos/mundo>>. Acesso em: 11 jan. 2018a.

EMBRAPA. **Estatísticas - Portal Embrapa**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas>>. Acesso em: 11 jan. 2018b.

ESTEVES, F. D. A. **Fundamentos de Limnologia**. Interciênc ed. Rio de

Janeiro: Interciência, 1988.

FACKLAM, R. R.; CARVALHO, M. DA G. S.; TEIXEIRA, L. M. History, Taxonomy, Biochemical Characteristics, and Antibiotic Susceptibility Testing of Enterococci. In: GILMORE, M. S. et al. (Eds.). . **The Enterococci**. Washington: American Society of Microbiology, 2002. p. 1–54.

FILSNER, P. H. et al. **CARACTERIZAÇÃO DE Enterococcus faecalis DE SUÍNOS NO BRASIL**. Campinas: XVII CONGRESSO ABRAVES 2015 - SUINOCULTURA EM TRANSFORMAÇÃO, 2015Disponível em: <<https://pt.engormix.com/suinocultura/artigos/caracterizacao-enterococcus-faecalis-suinos-t39786.htm>>. Acesso em: 29 nov. 2018

GIRALDI, C. **Enterococcus isolados de alimentos: caracterização molecular e perfil de resistência a antimicrobianos**. [s.l.] UTFPR, 5 mar. 2014.

GLEYSSON. **Biodigestores - Princípio, tipos e viabilidade econômica - portalresiduossolidos.com**. Disponível em: <<https://portalresiduossolidos.com/biodigestores-principio-tipos-e-viabilidade-economica/>>. Acesso em: 5 nov. 2018.

GOMES, S. M. T. et al. **INVESTIGAÇÃO E CONTROLE DE BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <[http://anvisa.gov.br/servicosade/controlere/reniss/manual\\_controle\\_bacterias.pdf](http://anvisa.gov.br/servicosade/controlere/reniss/manual_controle_bacterias.pdf)>. Acesso em: 23 nov. 2018.

HENRIQUE, F. et al. **O BEM-ESTAR ANIMAL NA SUINOCULTURA**. (Tânia Maria Biavatti Celant, Simone Colombo, Eds.)1 a Conferência Internacional Virtual sobre Qualidade de Carne Suína. **Anais...**Concórdia (SC): EMBRAPA, 2001Disponível em: <[http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_publicacoes/anais00cv\\_portugues.pdf#page=14](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/anais00cv_portugues.pdf#page=14)>. Acesso em: 6 fev. 2018

IBGE. **IBGE | Agência de Notícias | PPM 2014: rebanho bovino alcança 212,3 milhões de cabeças**. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2013-agencia-de-noticias/releases/10086-ppm-2014-rebanho-bovino-alcanca-212-3-milhoes-de-cabecas.html>>. Acesso em: 20 jan. 2018.

KOBAYASHI, C. C. B. A. et al. Resistência antimicrobiana associada em isolados clínicos de *Enterococcus* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 3, p. 344–348, 27 maio 2011.

KUNRATH, M. **Granja de Suínos - Como melhorar a Lucratividade**. Disponível em: <<http://www.agroceresmultimix.com.br/blog/gerenciando-os-dias-nao-produtivos-para-melhorar-a-lucratividade-da-granja-de-suinos/>>. Acesso em: 21 jan. 2018.

KUNZ, A. et al. Recomendações para uso de Esterqueiras para Armazenagem de Dejetos de Suínos. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**, p. 4, 2004.

KUNZ, A.; HIGARASHI, M. M.; OLIVEIRA, P. A. DE. TECNOLOGIAS DE MANEJO E TRATAMENTO DE DEJETOS DE SUÍNOS ESTUDADAS NO BRASIL. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 22, n. 3, p. 651–665, 1 jan. 2005.

KUNZ, A.; MIELE, M.; STEINMETZ, R. L. R. Advanced swine manure treatment and utilization in Brazil. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 22, p. 5485–5489, nov. 2009.

KUPLICH, N. M. et al. POLÍTICA DE PREVENÇÃO DA DISSEMINAÇÃO DE GERMES MULTIRRESISTENTES NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE. p. 80–89, jan. 2011.

LIMA, N. R. W. Cocô: uma fábrica de histórias. **ABDIIn**, v. 1, n. 7, p. 38, 2017.

LUDTKE, C. Os caminhos da suinocultura. **Avicultura Industrial**, p. 11, 2010.

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre (RS): ARTMED Editora LTDA, 2016.

MAGNO, P. S. DO L.; DE OLIVEIRA, J. R. **TRATAMENTO DE EFLUENTES ATRAVÉS DE LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO: COMPARAÇÃO ENTRE EFICIÊNCIA TEÓRICA E EFICIÊNCIA REAL. AUTORES: Paulo Sérgio do Livramento Magno 1 e Josafá Ribeiro de Oliveira 2**. XV Congresso Brasileiro de Aguas Subterrâneas. **Anais...**Natal - RN: Fenágua,

2008Disponível em:

<<https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/viewFile/21951/14320>>. Acesso em: 5 nov. 2018

MARCATO, S. M.; DE LIMA, G. J. M. M. Efeito da restrição alimentar como redutor do poder poluente dos dejetos de suínos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 3, p. 855–863, 2005.

MARTINS, A. F.; BARTH, A. L. Acinetobacter multirresistente - Um desafio para a saúde pública. **Scientia Medica**, v. 23, n. 1, p. 56–62, 2013.

MEDEIROS, D. D. V. **AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO NO TRATAMENTO DE RESÍDUOS ESGOTADOS DE FOSSAS SÉPTICAS**. Natal: UFRN, 2009.

MENDES, S. M. C. et al. **Composteira caseira: tratamento de resíduos biodegradáveis**. Mossoró - RN: [s.n.]. Disponível em: <<http://www.capital.sp.gov.br/portal/noticia/3351/#ad-image-0>>. Acesso em: 5 nov. 2018.

MOREIRA, N. M. et al. **OS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA BACTERIANA DA Salmonella sp. FRENTE À UTILIZAÇÃO DE ANTIBIÓTICOS** Enciclopédia Biosfera. Goiânia: [s.n.]. Disponível em: <[http://www.conhecer.org.br/enciclop/2013a/agrarias/os\\_mecanismos\\_de.pdf](http://www.conhecer.org.br/enciclop/2013a/agrarias/os_mecanismos_de.pdf)>. Acesso em: 27 nov. 2018.

MORENO, M. A. et al. Antibiotic resistance monitoring: The Spanish programme. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 14, n. 4, p. 285–290, 2000.

MORÉS, N. É POSSÍVEL PRODUZIR SUÍNOS SEM O USO DE ANTIMICROBIANOS MELHORADORES DE DESEMPENHO? **VI Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal - SALA SUÍNOS**, 2014.

MORETTI, P. E. Antibiógrama. **Microbiologia, Fundamentos & Aplicações - Métodos em Microbiologia**, p. 1–2, 2007.

MOURA, S. C. N. DE. **Identificação e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas de biodigestores anaeróbios**

**operados com dejetos suínos e com dejetos bovin.** Juiz de Fora: [s.n.]. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/mestradoleite/files/2017/06/Dissertação-Final1.pdf>>.

MURRAY, B. E. The life and times of the Enterococcus. **Clinical microbiology reviews**, v. 3, n. 1, p. 46–65, jan. 1990.

NOLASCO, M. A.; BAGGIO, R. B.; GRIEBELER, J. IMPLICAÇÕES AMBIENTAIS E QUALIDADE DA ÁGUA DA PRODUÇÃO ANIMAL INTENSIVA. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 3, n. 2, p. 19, 15 abr. 2005.

OLIVEIRA, P. A. V. DE et al. MANUAL DE MANEJO E UTILIZAÇÃO DOS DEJETOS DE SUÍNOS. In: **27**. 1. ed. Concórdia: EMBRAPA-CNPISA, 1993. p. 188.

PEREIRA, W. C.; PAVAN, A. A. CUSTO DA ELETRICIDADE GERADA EM CONJUNTO MOTOR GERADOR UTILIZANDO BIOGÁS DA SUINOCULTURA. **Enc. Energ. Meio Rural**, maio 2004.

PISSETTI, C. **Influência do uso de antimicrobianos na ração de suínos criados com diferentes níveis de medicação sobre resistência de Escherichia coli e perfil da microbiota intestinal.** [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Veterinária. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, 2016.

PORTARI, D. Qual animal tem o cocô mais energético? **Super Interessante**, 2008.

RANG, H. P. et al. **Rang e Dale: farmacologia.** Thomson Di ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

RESENDE, J. A. **Avaliação da diversidade microbiana e do risco clínico-microbiológico de sistemas de biorreatores para produção de biogás e biofertilizante a partir de dejetos da pecuária leiteira.** [s.l.] UFJF, 16 dez. 2013.

ROYA, B. et al. BIOGÁS-UMA ENERGIA LIMPA. **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, v. 13, n. 13, p. 142–149, 2011.

SACRAMENTO, A. G. **Caracterização molecular de Enterococcus spp.**

**resistentes à vancomicina em amostras clínicas, ambientes aquáticos e alimentos.** [s.l.] Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 2015.

SALGADO, J. et al. **APLICAÇÃO DE COMPOSTO RESULTANTE DA COMPOSTAGEM DE RESÍDUOS TÊXTEIS BIODEGRADÁVEIS EM SOLOS RECENTEMENTE ARDIDOS PARA MITIGAÇÃO DA EROÇÃO.**

Santiago, Chile: [s.n.]. Disponível em:

<<http://viiiisimposiogeografiafisica.uchilefau.cl/>>. Acesso em: 27 out. 2018.

SANTOS, W. R. M. DOS et al. ANTIBIOTICOTERAPIA EM SUÍNOS – MATRIZES E ENGORDA. **REVISTA CIENTÍFICA ELETRÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA**, v. 12, n. 1679–7353, 2009.

SEJAS, L. M. et al. Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 1, p. 27–35, 2003.

SFACIOTTE, R. A. P.; VIGNOTO, V. K. C.; WOSIACKI, S. R. Perfil de resistência antimicrobiana de isolados bacterianos de afecções clínicas do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Maringá. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 1, n. 1, p. 29–38, 2014.

SILVA, M. K.; TESSARO, I. C.; WADA, K. **Biorreatores com membranas, uma alternativa promissora no tratamento de águas e efluentes para reuso.**

Porto Alegre (RS): Oktober Fórum 2005 - PPGEQ, 2005 Disponível em:

<<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/8919/000589868.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 3 fev. 2018

SILVEIRA, E. et al. Estará o uso de cobre a contribuir para a selecção de bactérias resistentes aos antibióticos na produção animal e em humanos? 2011.

SILVEIRA, G. P. et al. **ESTRATÉGIAS UTILIZADAS NO COMBATE A RESISTÊNCIA BACTERIANA** *Quim. Nova*. [s.l.: s.n.]. Disponível em:

<<http://submission.quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2006/vol29n4/36-DV05276.pdf>>. Acesso em: 30 nov. 2018.

SMANHOTTO, A. et al. Cobre e zinco no material percolado e no solo com a aplicação de água residuária de suinocultura em solo cultivado com soja. **Engenharia Agrícola**, v. 30, n. 2, p. 347–357, 1 abr. 2010.

TAKEUTI, M. R. S. **Avaliação de desempenho de uma estação de tratamento de esgoto por lagoas de estabilização com chicanas**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista (UNESP), 31 out. 2003.

TIGRE, C. B. **Epidermite Exsudativa**. [s.l.] Curitiba, SC, 25 jun. 2018.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre - RS: ARTMED Editora LTDA, 2012.

VAZ, E. K. Resistência antimicrobiana : como surge e o que representa para a suinocultura. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. Supl 1, p. 147–150, 2009.

VILANOVA, X. et al. The composition and persistence of faecal coliforms and enterococcal populations in sewage treatment plants. **Journal of applied microbiology**, v. 96, n. 2, p. 279–88, 2004.

VIVAN, M. et al. Eficiência da interação biodigestor e lagoas de estabilização na remoção de poluentes em dejetos de suínos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n. 3, p. 320–325, 2009.

WHO. **10 facts on antimicrobial resistance**. [s.l.] World Health Organization, 2017. Disponível em:  
<[https://www.who.int/features/factfiles/antimicrobial\\_resistance/en/#](https://www.who.int/features/factfiles/antimicrobial_resistance/en/#)>.  
Acesso em: 27 nov. 2018.