



MATO GROSSO DO SUL
BRAZIL

SES
Secretaria de Estado
da Saúde



GOVERNO
DO ESTADO
Mato Grosso do Sul



Dimensão Ambiental da RAM:

Esgoto como ferramenta de vigilância e o Papel das Estações de Tratamento

Juliana Calábria de Araújo

Professora Associada da UFMG

Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental

juliana@desa.ufmg.br



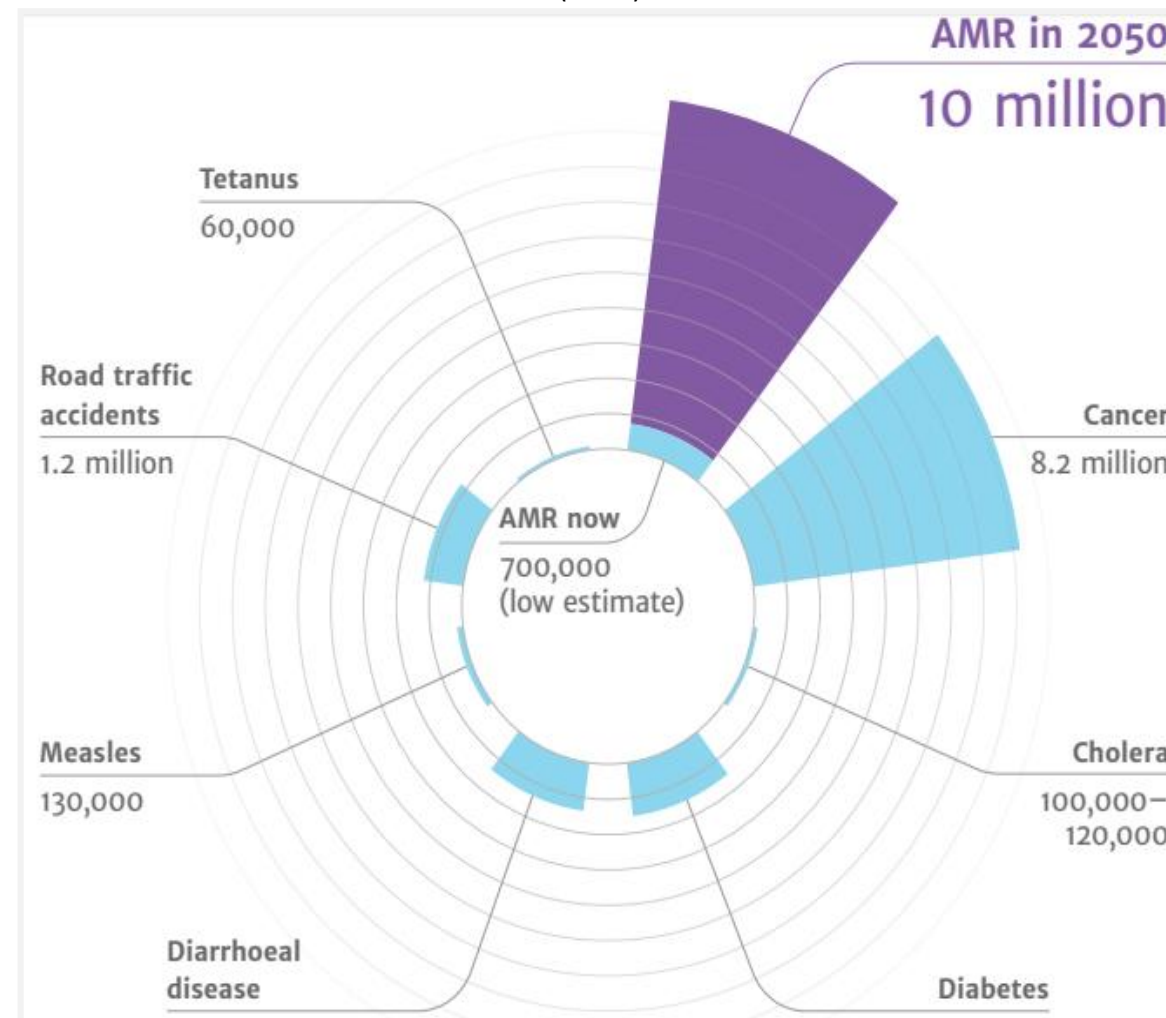
Resistência Antimicrobiana (RA)

“Conjunto de mecanismos de adaptação das bactérias contra os efeitos nocivos ou letais aos quais estão sendo submetidas”¹

- Ameaça a Saúde Pública global
- Perdas econômicas
 - US\$100 trilhões entre 2016 a 2050



Fonte: OPAS (2017)

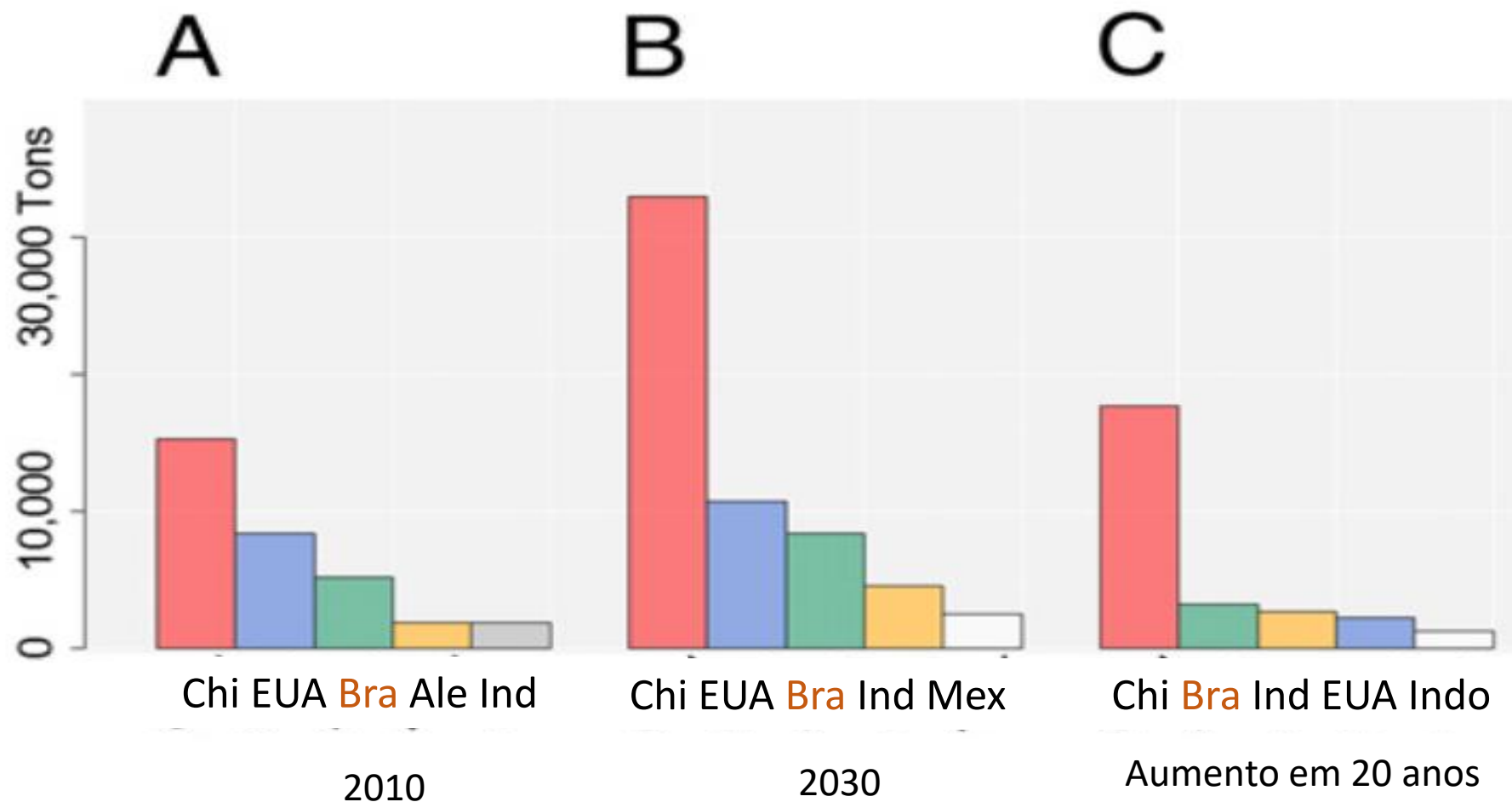


Fonte: O'Neill *et al.* (2016)

¹LIVERMORE, 1995

O uso de antibióticos e a disseminação da resistência

Diversas atividades humanas → disseminação de genes RA.



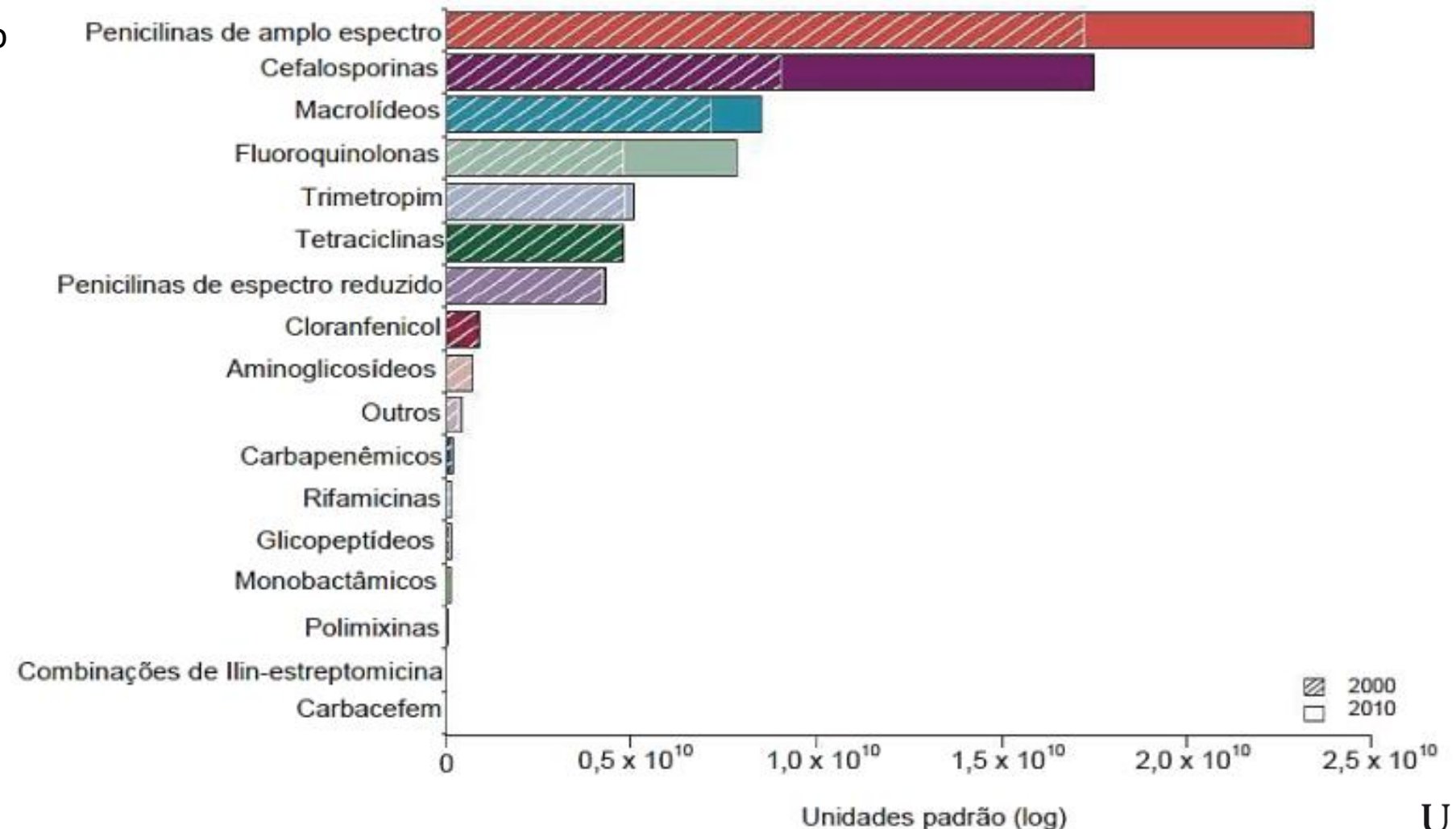
Van Boeckel (2015):
O uso de antimicrobianos na pecuária é ~ 80% do consumo anual de antimicrobianos da nação (EUA).

A) 5 > consumidores de antimicrobianos na pecuária em 2010 e (B) em 2030; (C) > aumento do consumo de antimicrobianos entre 2010 e 2030.
Adaptada de van Boeckel et al., 2015.

Perfil do uso de antibióticos: pecuária e clínica

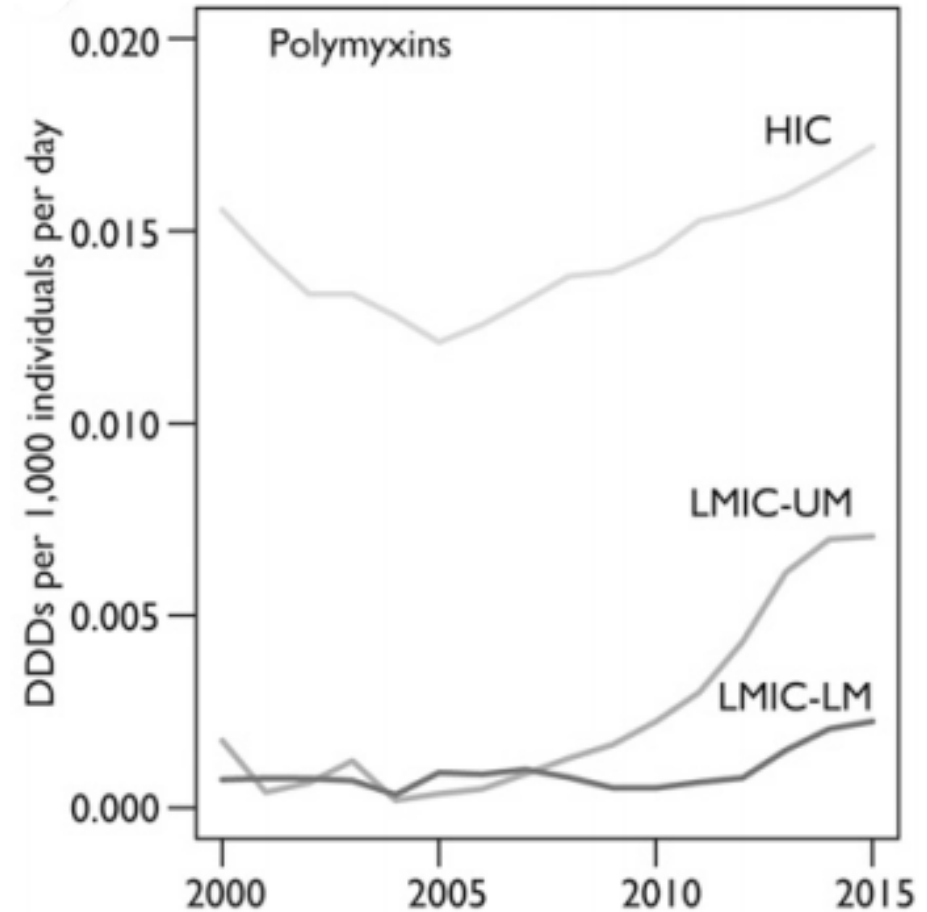
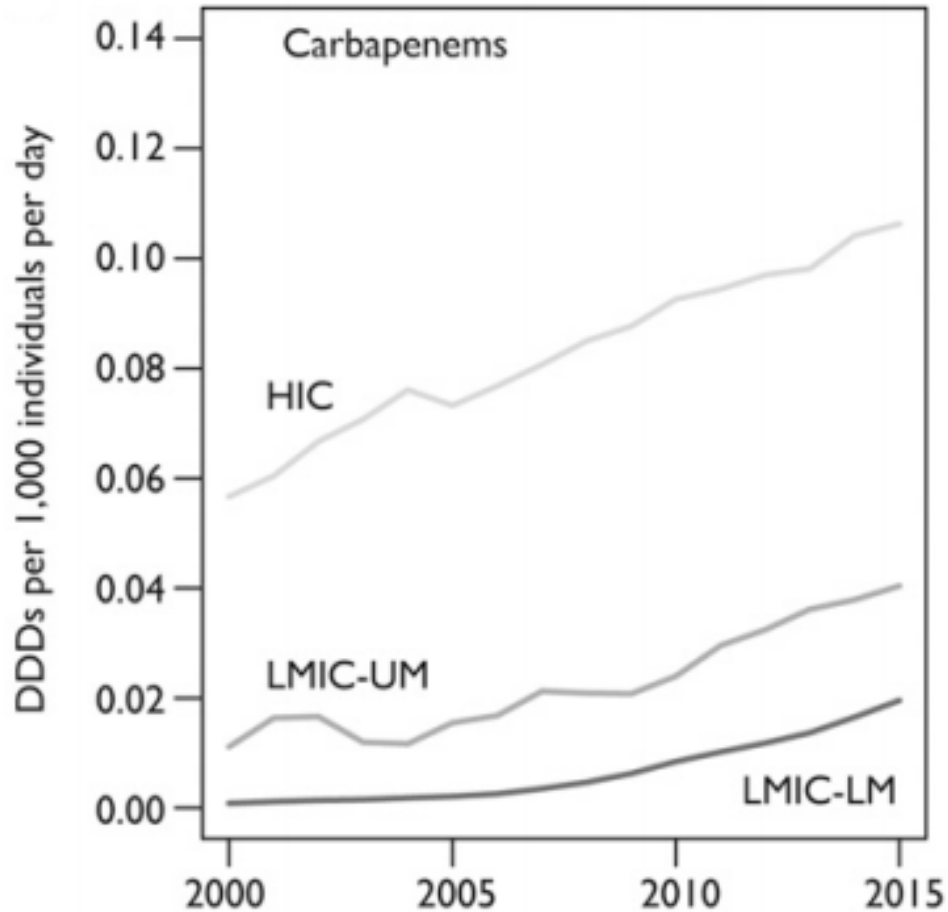
- **FDA, 2016 (EUA):** drogas clinicamente importantes usadas na criação de animais: tetraciclina (70%), penicilinas (10%), macrolídeos (7%), sulfas/aminoglicosídeos (4%).

- Consumo humano

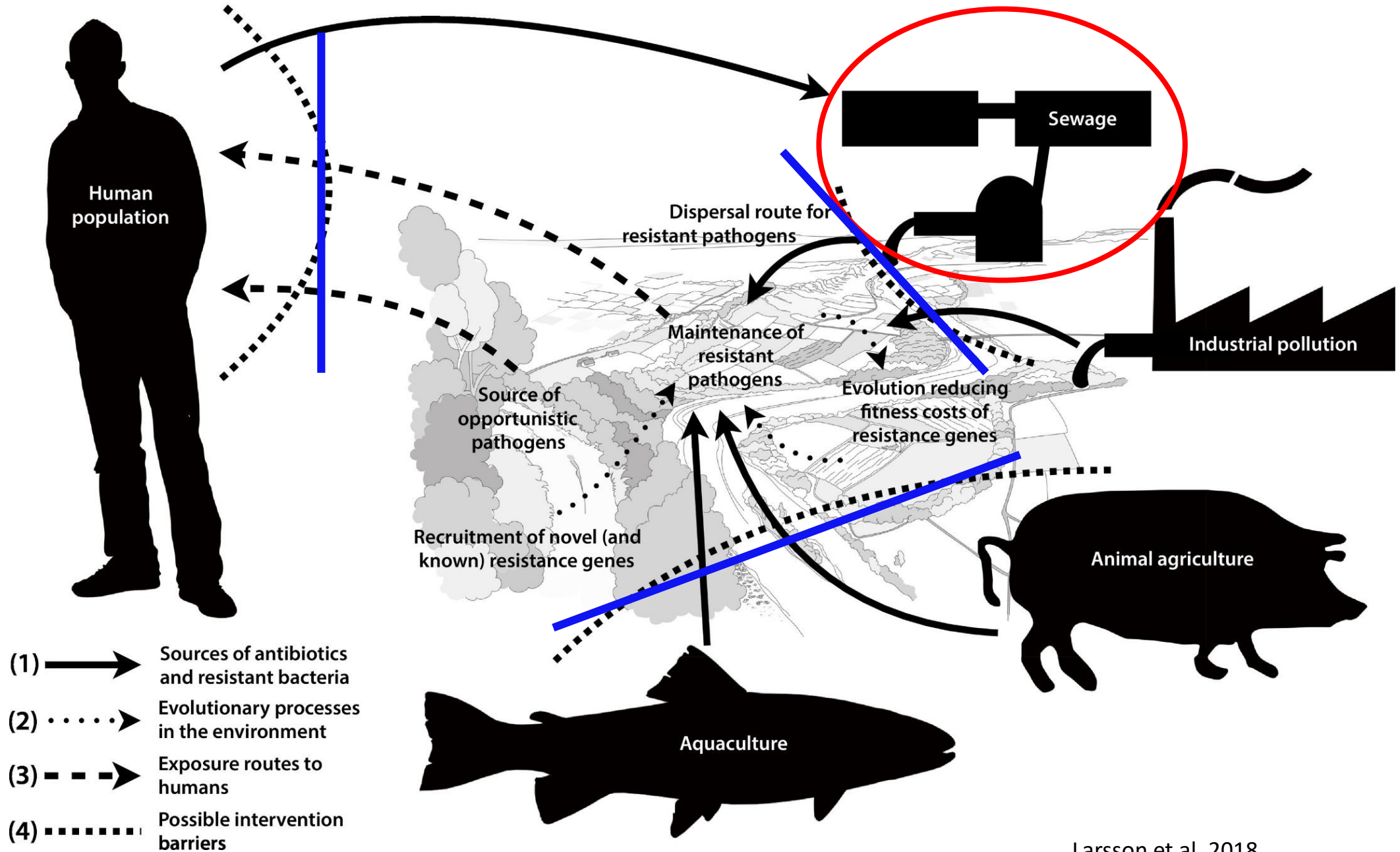


O uso de antibióticos e a disseminação da resistência

Consumo global de drogas novas ou de último recurso



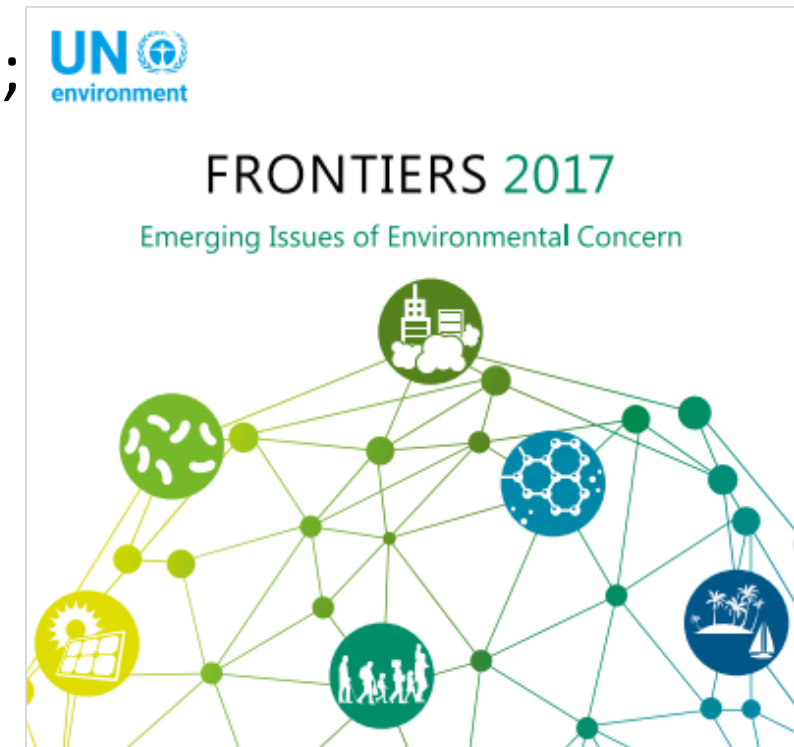
The roles of the environment in antibiotic resistance development



Larsson et al, 2018

Ações

- **2015:** OMS lança Plano de Ação Global em Resistência a Antimicrobianos → One Health;
- 5 eixos do programa → “Reforçar os conhecimentos e a base científica **por meio da vigilância e da pesquisa**”;
- COVID-19 (2020): Pandemia silenciosa
- 90% pacientes, 7% infecções bacterianas.

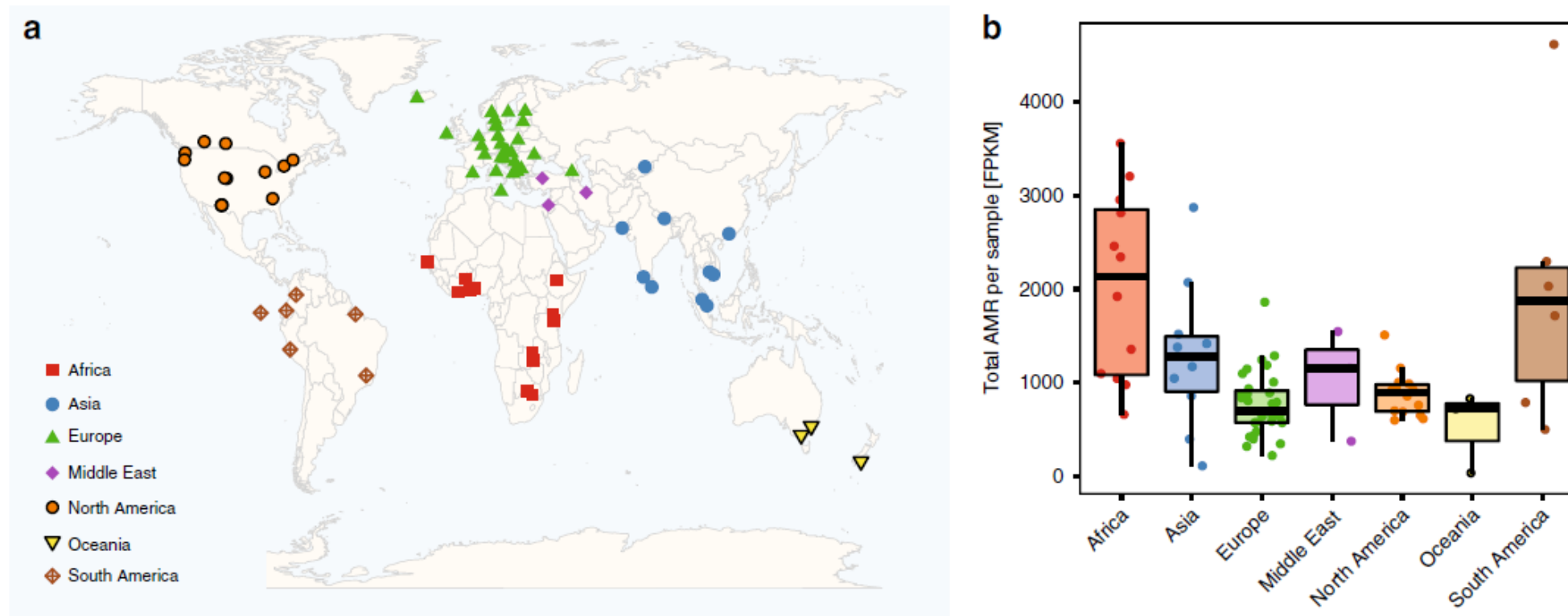


Esgoto como ferramenta de vigilância da RAM:

Diversidade e abundância dos GRAs varia por região e depende de fatores socio-econômicos, saúde, e ambientais (Hendriksen et al., 2019)

NATURE COMMUNICATIONS | <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08853-3>

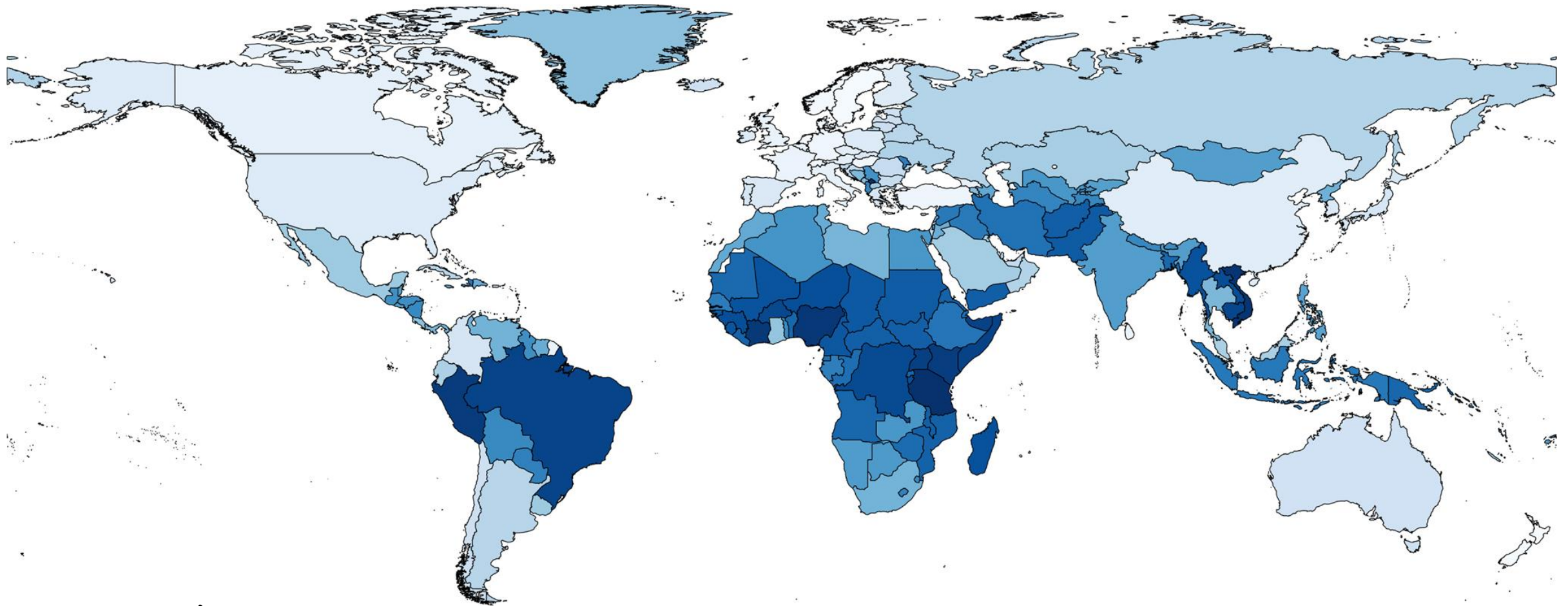
ARTICLE



Dados de consumo dos AM/ região e taxonomia das bactérias explica pequena parcela da variação
Correlação forte com nível socio-econômico, indicadores de saúde e fatores ambientais

Predição Global da abundância da RAM em todos os países e nos territórios do mundo

(alta RAM- azul escuro), baixa (azul claro) (Hendriksen et al., 2019; Nature Communications)



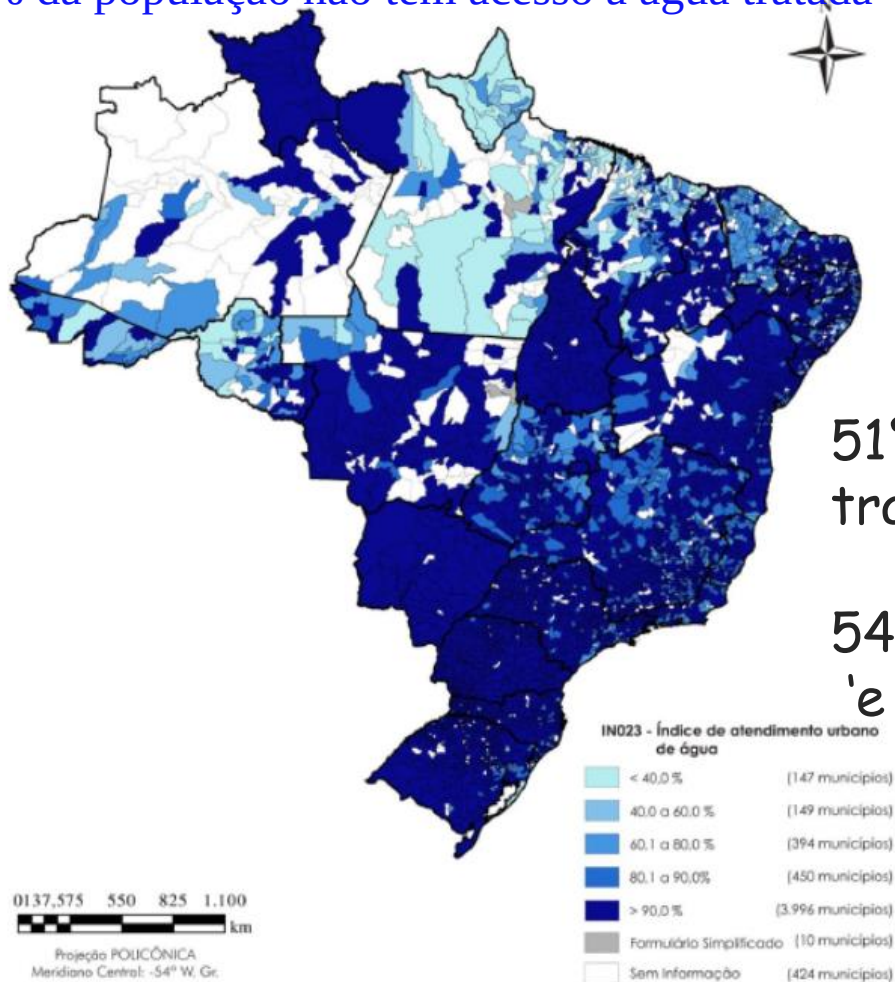
Abundância e diversidade de GRAs variam por região e para limitar o problema da RAM -
Melhorar condições de Saúde e Saneamento

Atendimento Urbano-Água e Esgoto (SNIS, 2020)



Figura 6.2 - Mapa do índice de atendimento urbano por rede de água (IN023) dos municípios com prestadores de serviços participantes do SNIS em 2018, distribuído por faixas percentuais, segundo município

18.9% da população não tem acesso a água tratada

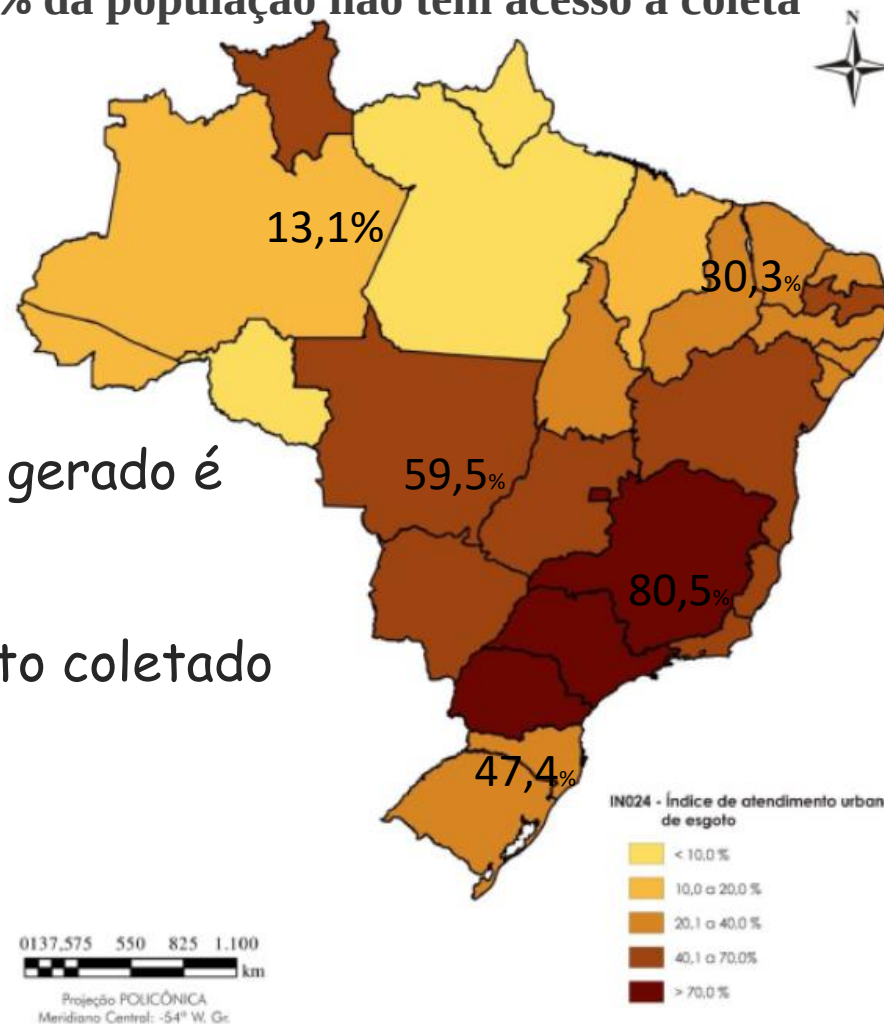


51% esgoto gerado é tratado

54.5% esgoto coletado e tratado

Figura 6.3 - Mapa do índice médio de atendimento urbano por rede coletora de esgotos (IN024) dos municípios com prestadores de serviços participantes do SNIS em 2018, distribuído por faixas percentuais, segundo estado

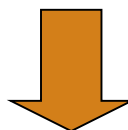
45% da população não tem acesso a coleta



Média Brasil= 55%

Pop atendida: 114,6 milhões

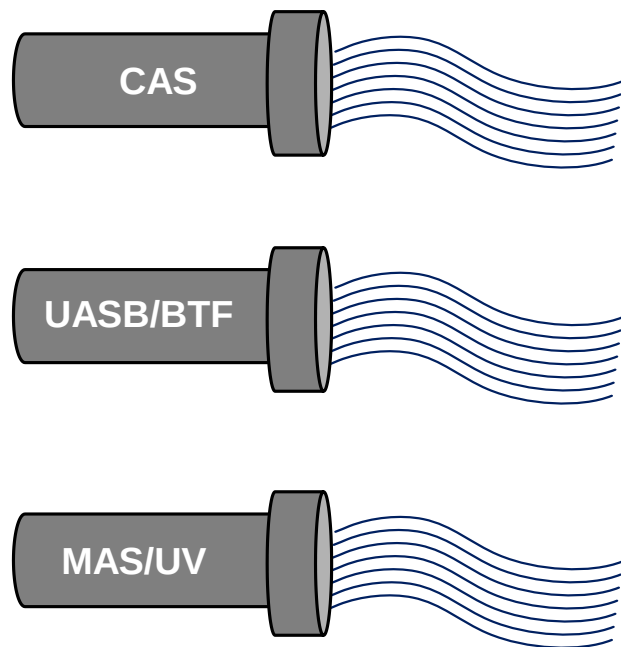
Estações de Tratamento de esgoto



operações e processos para separação e remoção dos poluentes da água =
Preservar qualidade da água, Proteção ambiental e da Saúde Pública

Microbioma, GRAs, EGM e patógenos em ETEs no Brasil durante 1 ano de monitoramento

WWTPs

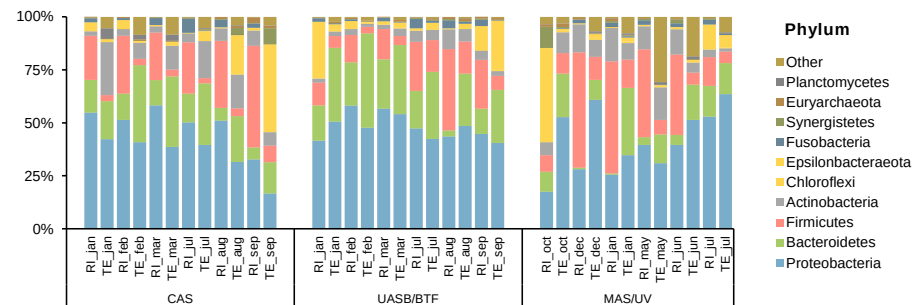
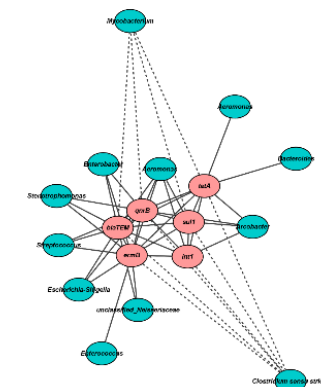
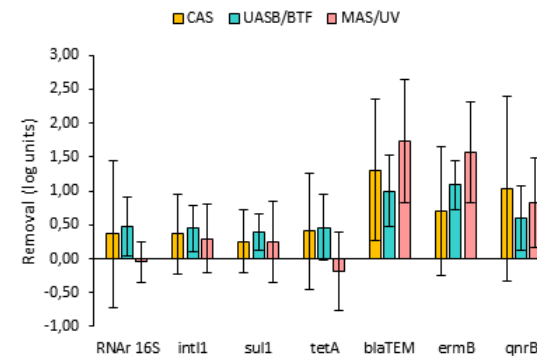


RAW
INFLUENT

TREATED
EFFLUENT



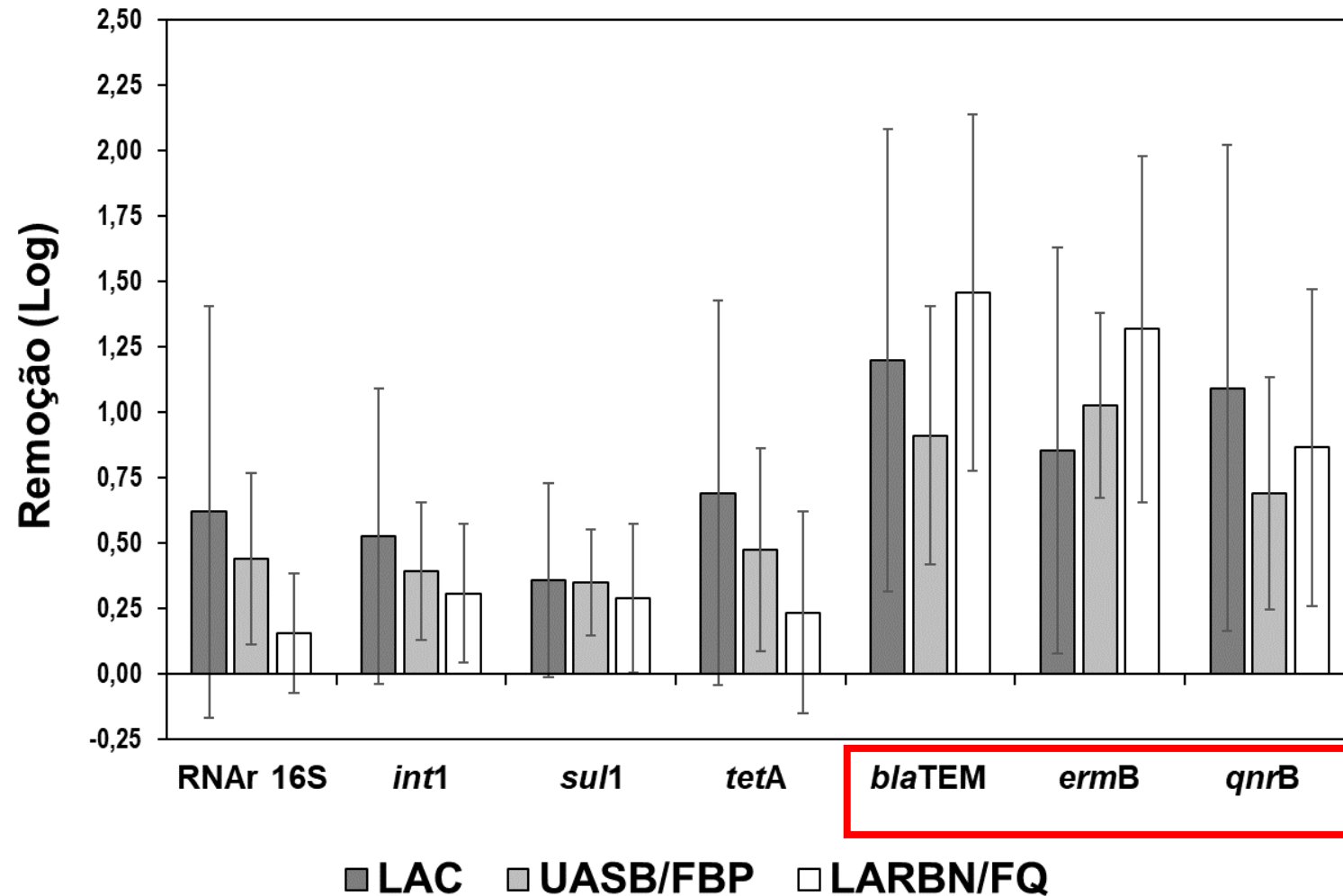
Real-Time PCR
Next Generation Sequencing



int11 and ARGs
Bacterial diversity and potential pathogens
Co-occurrence of ARGs and pathogens

- ✓ Remoção de *int11*, *sul1* e *TetA* foi de 0.2 a 0.5 log nas 3 ETEs
- ✓ Remoção dos genes *blaTEM*, *ermB* e *qnrB* foi de 1 a 2 logs, ou seja, de 90 a 99.0% de remoção para CAS, UASB/BTF e MAS/UV.

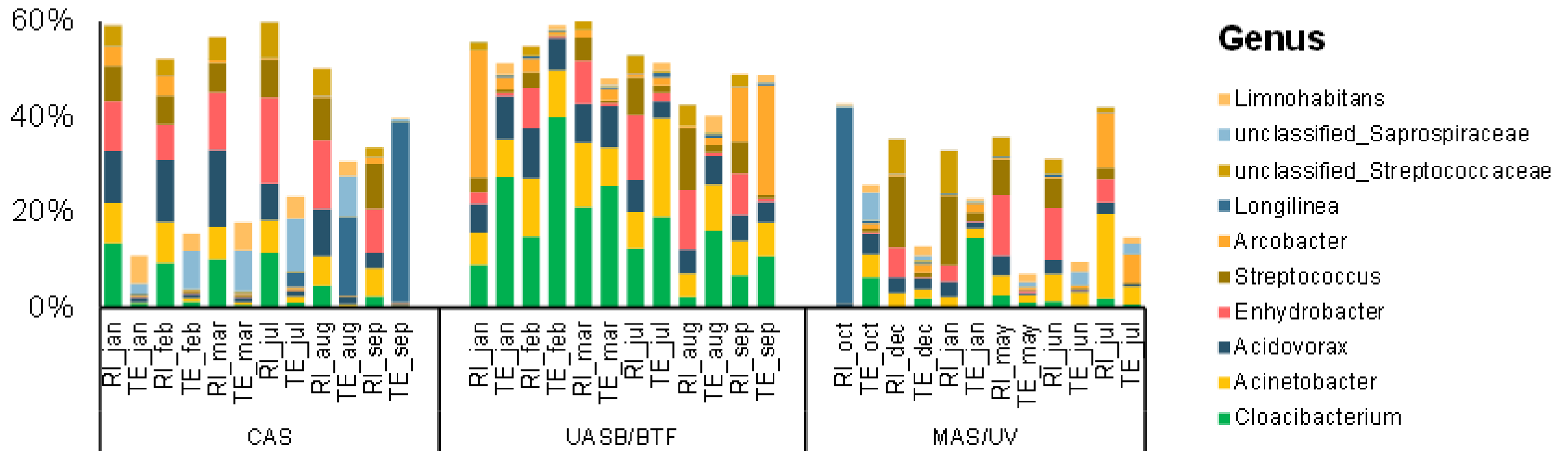
Remoção de GRAs nas 3 ETEs investigadas



- ✓ Remoção de *int1*, *sul1* e *TetA* foi de 0.2 a 0.5 log
- ✓ Remoção de *blaTEM*, *ermB* e *qnrB* foi de 1 a 2 logs, de 90 a 99.0% para CAS, UASB/BTF e MAS/UV.

(a)

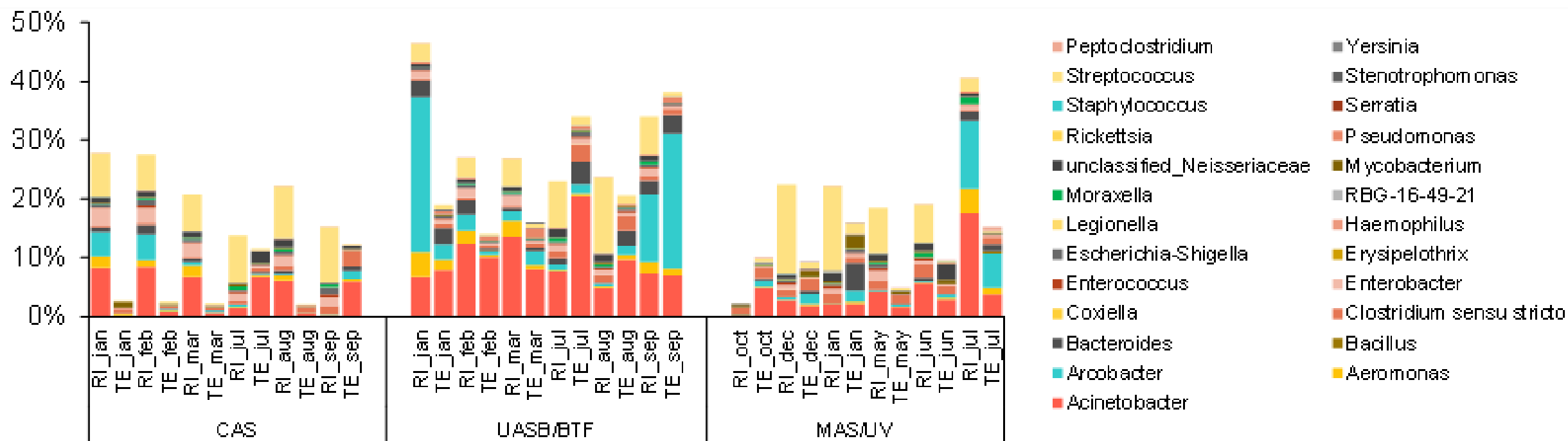
10 Gêneros bacterianos mais abundantes



- ✓ *Cloacibacterium*, *Acinetobacter*, *Acidovorax*, *Streptococcus*, *Enhydrobacter* predominaram no EB de todas e no ET da ETE/UASB
- ✓ Composição difere entre cada ETE função da área de coleta (população) e tipo de tratamento

25 Gêneros bactérias potencialmente patogênicas

(b)



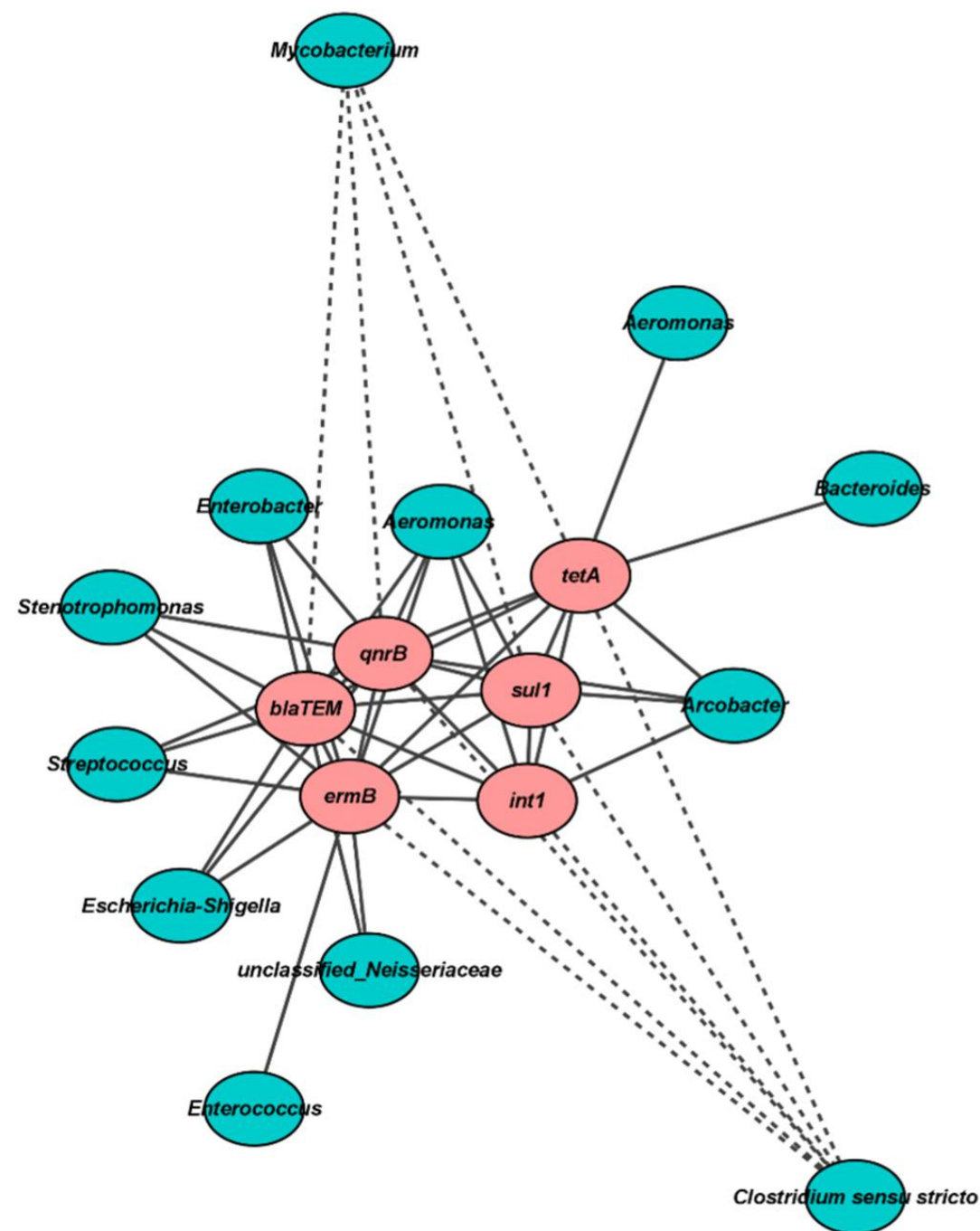
- ✓ No ET 25 gêneros bactérias patogênicas= 22% das sequencias identificadas
- ✓ *Acinetobacter*, *Arcobacter*, *Streptococcus* e *Enterobacter* abundantes no EB = bactérias ubíquas e prevalentes nas fezes humanas/ esgoto dos locais servidos por estas ETEs.

Análise de rede: correlação dos GRAs com bactérias potencialmente patogênicas

Gene *ermB* > N correlações positivas (7),
blaTEM e *qnrB* (6 cada).

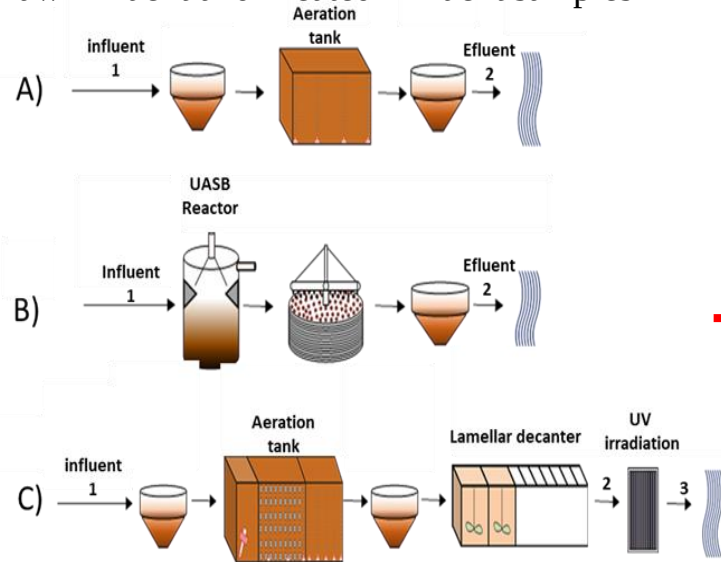
-*Aeromonas*, *Arcobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia-Shigella*, *Stenotrophomonas* e *Streptococcus* = correlação positiva com 3 ou + GRAs.

-*Clostridium sensu stricto* e *Mycobacterium* = correlação negativa com GRAs = associação negativa entre os Gram + e os GRAs investigados.

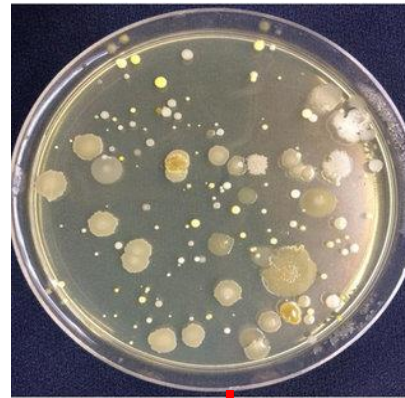


Perfil de RA em 3 ETEs no Brasil: Diferentes padrões de resistência e bactérias MDR no ET

Raw Influent and Treated Effluent samples

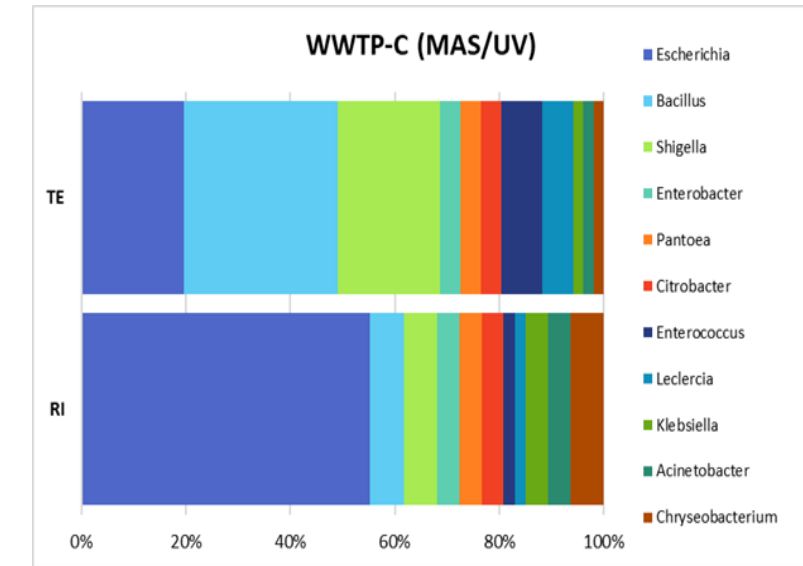


Isolation and selection of
ARB to 11 antibiotics

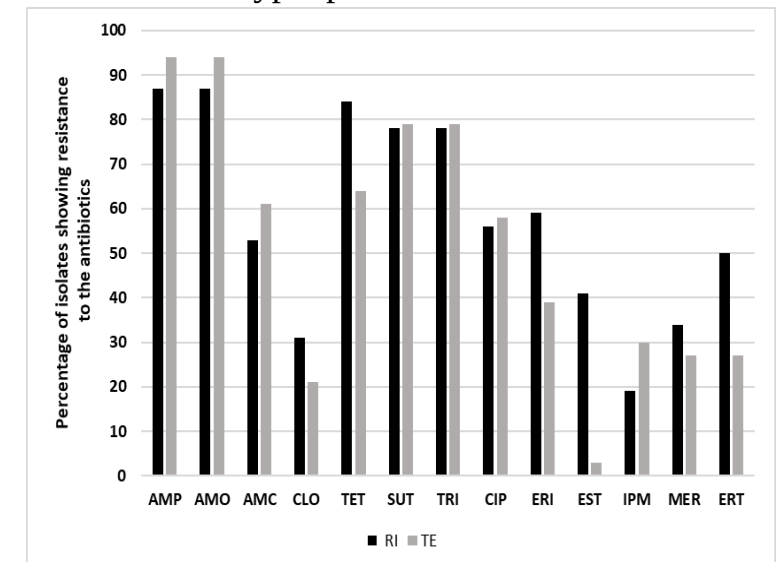


ARG prevalence in ARB isolates

ARGs	WWTP-A (CAS)		WWTP-B (UASB/BTF)		WWTP-C (MAS/UV)	
	RI (n=90)	TE (n=75)	RI (n=63)	TE (n=66)	RI (n=38)	TE (n=38)
<i>intI</i> 1	86.6%	82.6%	90.5%	89.3%	92%	76%
<i>bla</i> TEM	87.7%	73.3%	87.0%	89.3%	86%	79%
<i>tet</i> A	72.2%	72.0%	63.5%	70.0%	92%	81%
<i>sul</i> 1	97.7%	92.0%	92.0%	91.0%	100%	84%
<i>qnr</i> B	87.7%	76.0%	81.0%	89.3%	11%	37%
<i>erm</i> B	75.5%	69.3%	79.3%	68.0%	11%	38%



Phenotypic profiles of ARB isolates



Remoção das BRAs pelos sistemas de tratamento: 0.5 a 2.5 logs dependendo da BRA e da ETE

Group	WWTP-A (CAS)	WWTP-B (UASB/BTF)	WWTP-C After MAS	WWTP-C After UV irradiation
THB	0.9	0.3	2.5	-0.1
AMP	1.1	0.2	2.1	0.2
CLO	0.7	0.2	2.1	0.0
TET	1.2	0.6	1.9	0.4
EST	1.1	0.3	2.6	0.1
AMO	0.9	0.2	2.8	-0.4
INA	1.0	0.2	2.5	-0.1
AZOL	1.1	0.4	2.5	-0.2
TRI	1.0	0.3	2.1	0.3
CIP	0.7	-0.2	1.7	0.2
ERI	1.0	0.2	2.6	-0.2
SUT	1.3	0.3	2.3	0.0

THB, total heterotrophic bacteria. Isolates resistant to: *AMP* ampicillin, *CLO* chloramphenicol, *TET* tetracycline, *EST* streptomycin, *AMO* amoxicillin, *INA* sulfadiazine, *AZOL* sulfamethoxazole, *TRI* trimethoprim, *CIP* ciprofloxacin, *ERI* erythromycin, *SUT* sulfamethoxazole + trimethoprim combination.

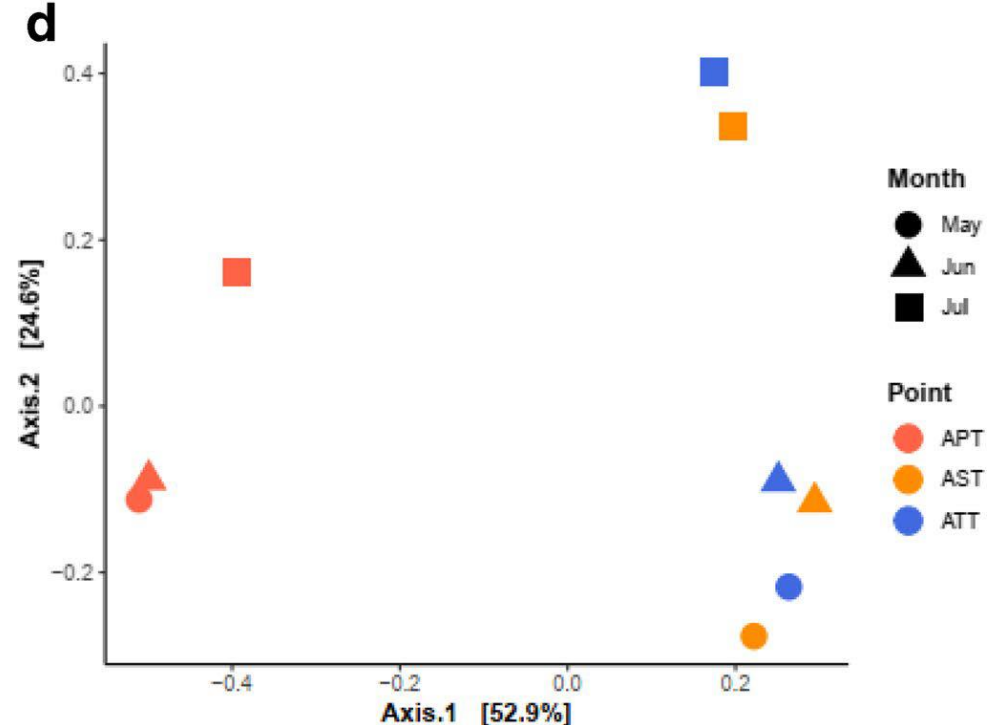
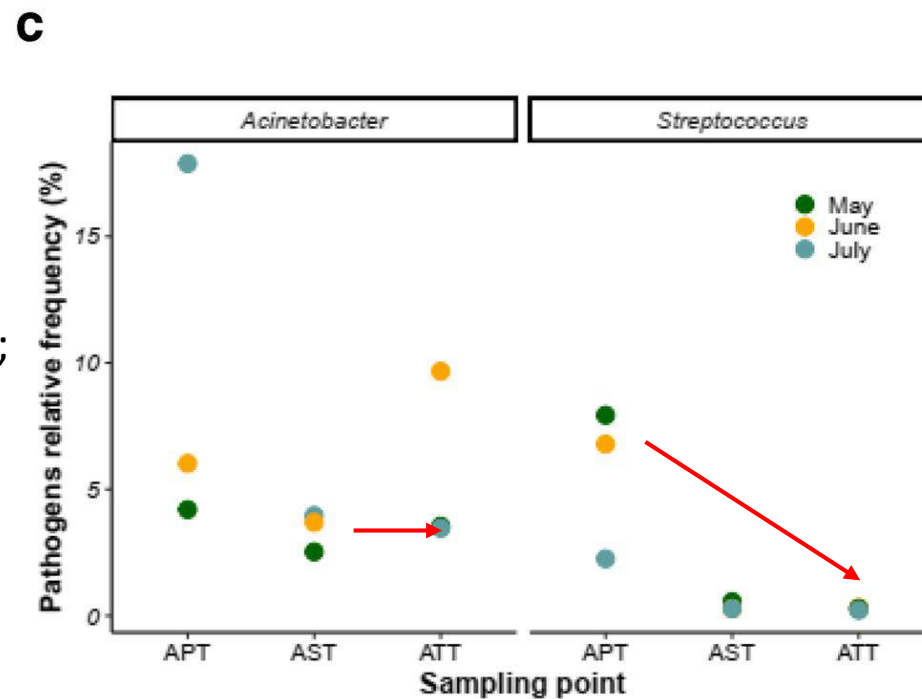
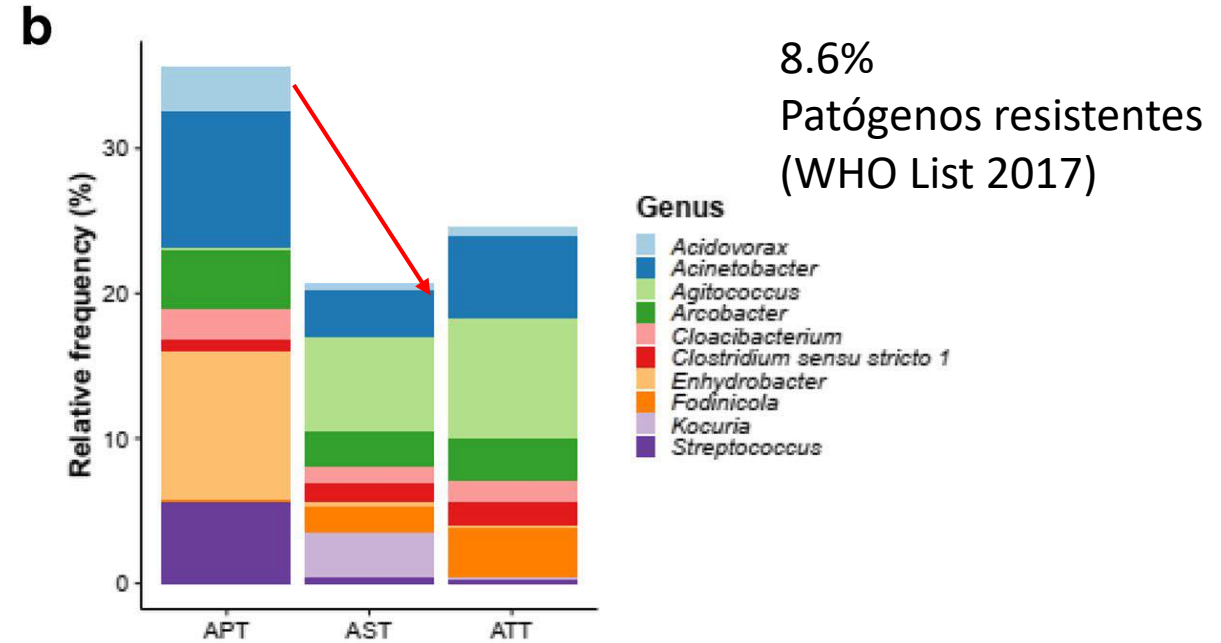
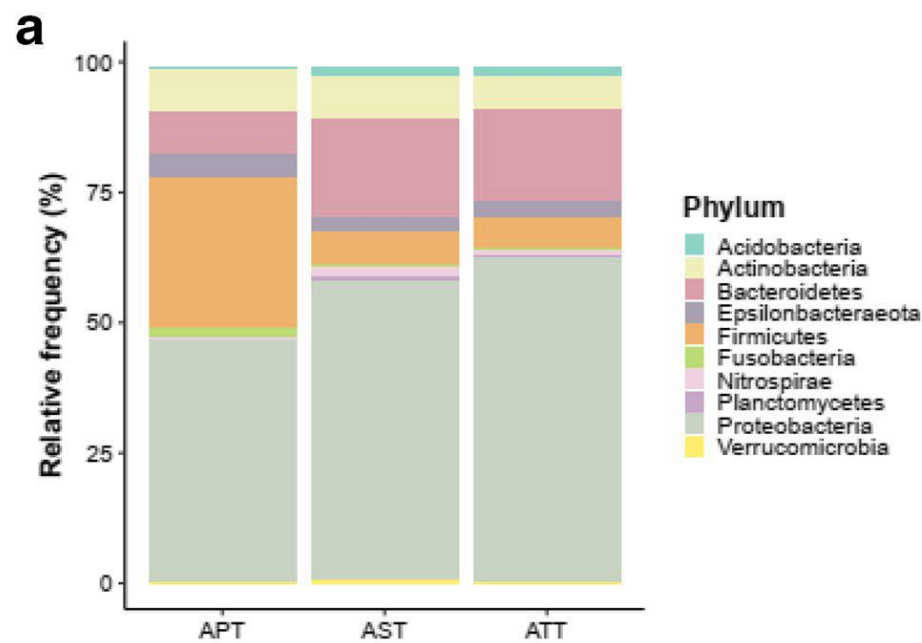
Característica da Resistência em 65 isolados :

Fenótipo MDR atribuído a 74% :
84% EB e 64% no ET

52% resistentes a carbapenêmicos

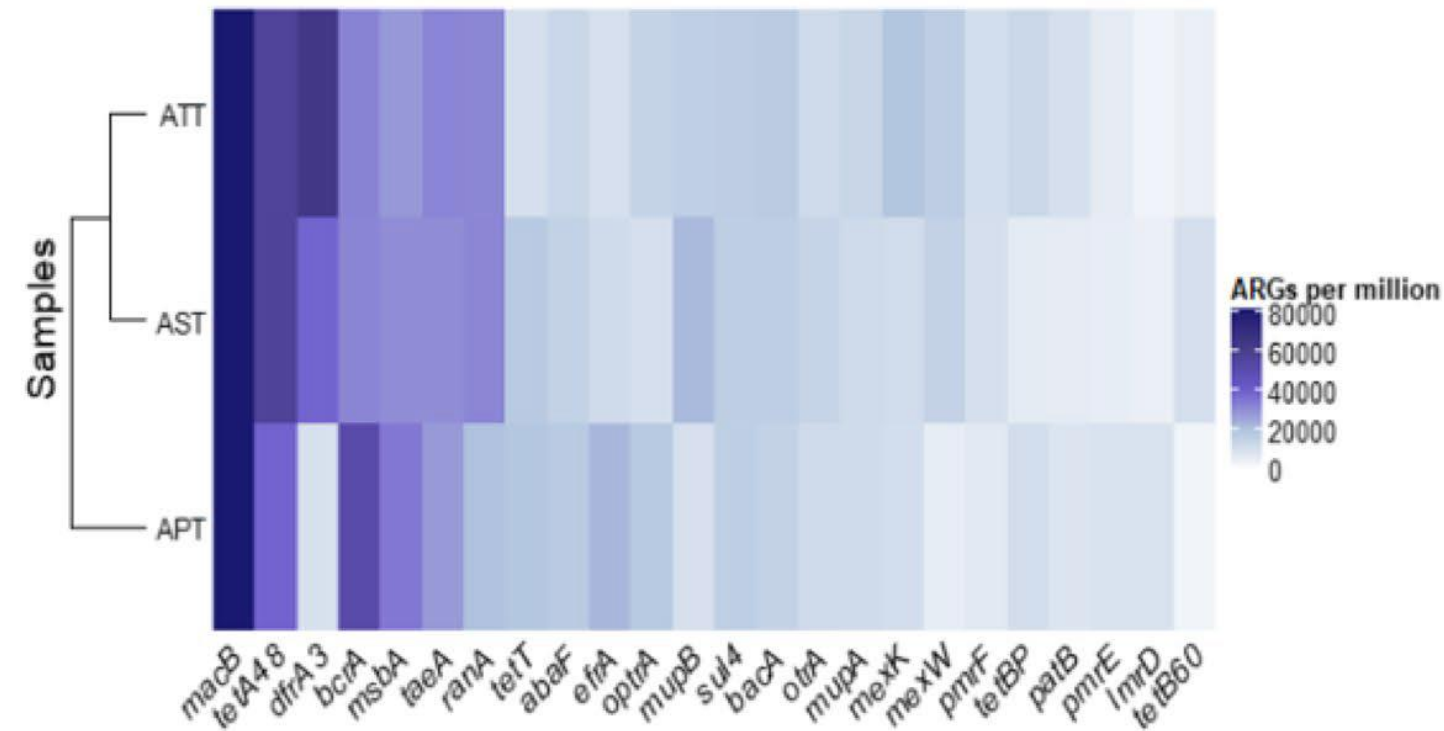
MDR: *K. pneumoniae*, *E. coli*,
Enterococcus faecium, *Shigella*..

		Antibiotic Resistance Phenotype															MDR
	SPECIES	AMP	AMO	AMC	CLO	TET	SUT	TRI	CIP	ERI	EST	IPM	MER	ERT		MDR	
	RIA Enterococcus faecium	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIA Enterococcus faecalis	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIA Escherichia fergusonii	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	yes	
	RIA Enterobacter sp	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
	RIA Citrobacter amalonaticus	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIA Enterobacter cloacae	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIA Escherichia coli	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIA Klebsiella pneumoniae	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIA Escherichia coli	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIA Klebsiella aerogenes	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIA Citrobacter europaeus	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIA Citrobacter freundii	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIB Citrobacter europaeus	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIB Escherichia fergusonii	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIB Escherichia coli	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
	RIB Enterobacter hormaechei	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIB Salmonella enterica	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIB Klebsiella oxytoca	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIB Escherichia coli	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
	RIB Bacillus sp	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIB Salmonella enterica	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIB Klebsiella pneumoniae	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIC Escherichia fergusonii	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIC Chryseobacterium geocarposphaera	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIC Escherichia fergusonii	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
	RIC Pantoea agglomerans	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIC Escherichia marmotae	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIC Klebsiella variicola	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIC Chryseobacterium oncorhynchi	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
	RIC Shigella flexneri	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIC Enterobacter asburiae	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
	RIC Escherichia coli strain	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEA Escherichia fergusonii	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
→	TEA Enterococcus faecium	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEA Clostridium perfringens	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
→	TEA Klebsiella variicola	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEA Enterococcus faecalis	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEA Cupriavidus pauculus	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEA Enterobacter cloacae	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEA Escherichia fergusonii	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
→	TEA Escherichia fergusonii	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEB Pigmentiphaga daeguensis	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEB Shigella flexneri	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
→	TEB Klebsiella pneumoniae	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEB Klebsiella pneumoniae	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEB Citrobacter werkmanii	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEB Bacillus proteolyticus	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEB Escherichia fergusonii	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
→	TEB Enterobacter sp	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
→	TEB Escherichia coli	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
→	TEB Escherichia coli	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
→	TEB Escherichia coli	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
→	TEC Enterobacter ludwigii	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
→	TEC Bacillus wiedmannii	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
→	TEC Bacillus cereus	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEC Bacillus paranthracis	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEC Shigella flexneri	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEC Escherichia coli	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NO	
→	TEC Bacillus proteolyticus	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEC Escherichia fergusonii	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEC Bacillus mycoides	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEC Escherichia marmotae	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEC Shigella flexneri	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEC Leclercia adecarboxylata	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	
→	TEC Bacillus paranthracis	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Yes	

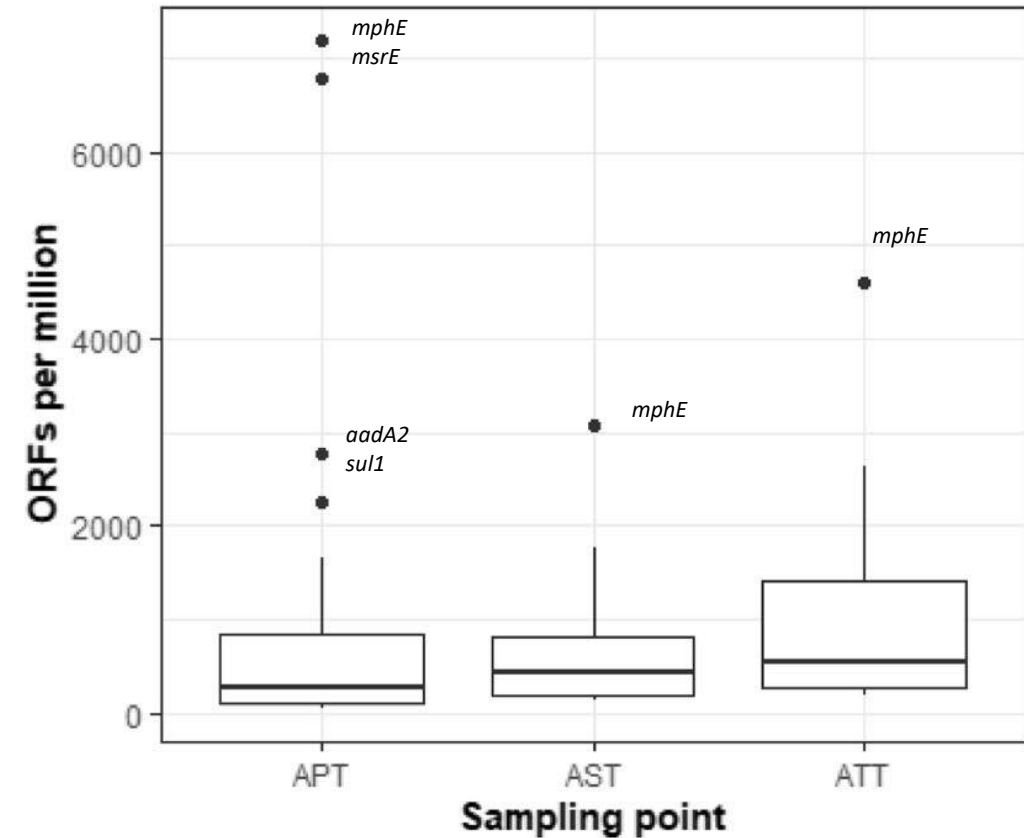


Patógenos:
Acinetobacter
sobrevive aos
efeitos do UV;
A. baumannii

ETE com desinfecção do efluente por UV (16mJ/cm²): Análise metagenômica do esgoto - GRAs

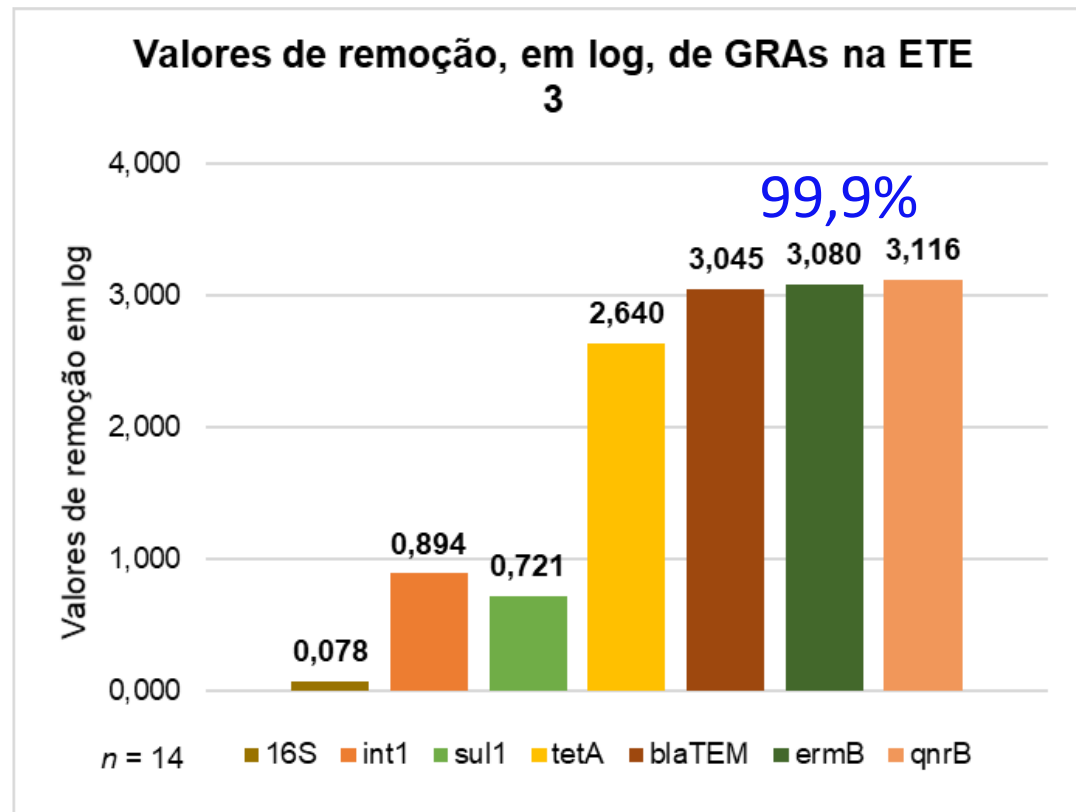
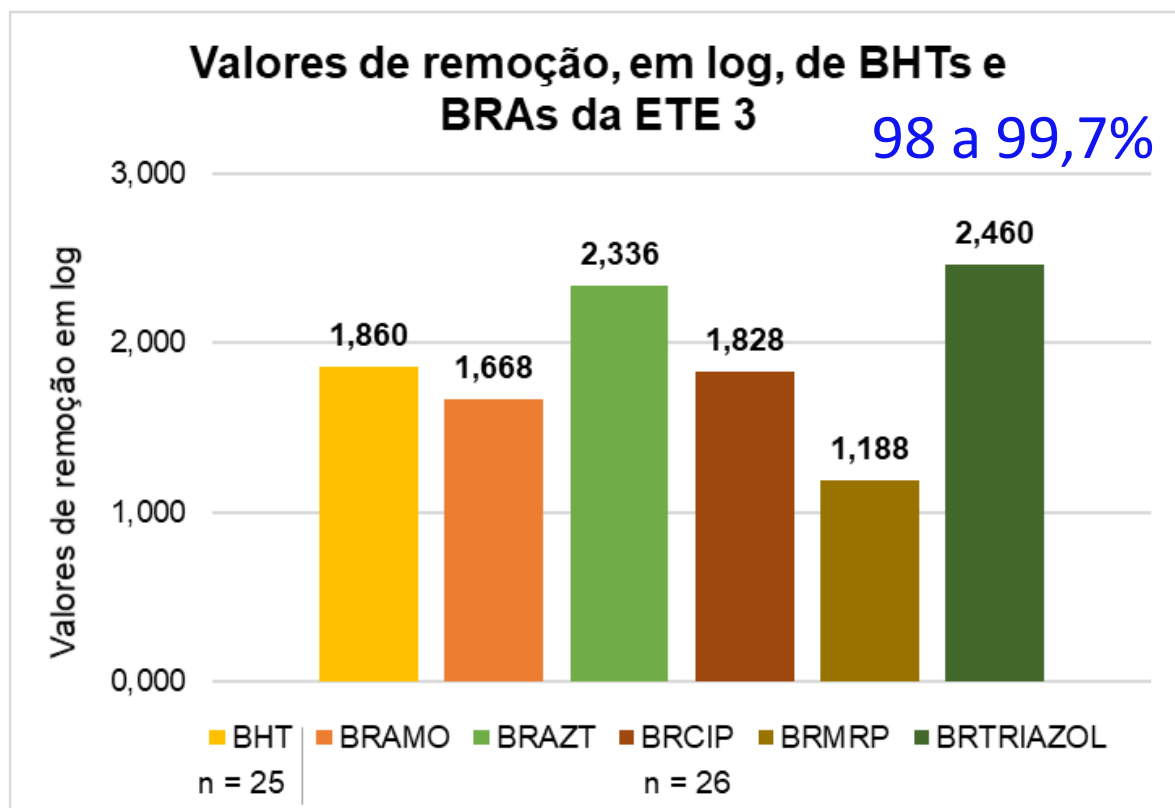


20 ARGs + abundantes



ARGs em plasmídios: *mphE* *msrE* (macrolídeos)

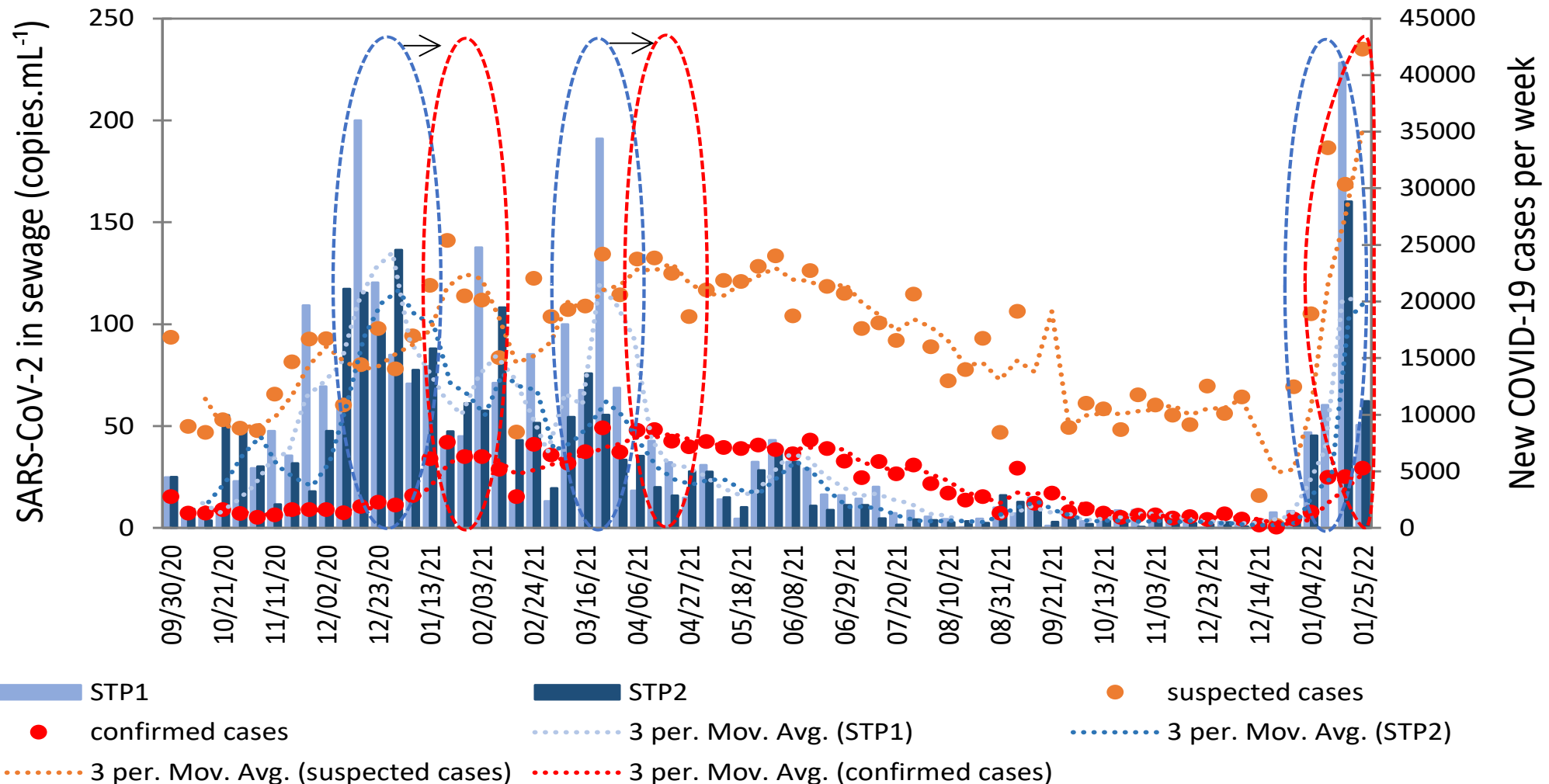
ETE usando Lagoas facultativa e de maturação



Esgoto como ferramenta epidemiológica (WBE)

RNA no esgoto x N casos COVID-19 em BH

(a) STPs and COVID-19 cases



CONCLUSÕES

- Esgoto excelente ferramenta de monitoramento da RAM e patógenos
- Remoção GRAs: *int1*, *sul1*, *tetA* (20-50%), *BlaTem*, *ermB* e *qnrB* (90 a 99%) para CAS, UASB e MAS/UV
- Remoção BRAs 50, 90 e 99% nas ETEs UASB/BTF, CAS, e MAS/UV
- ETE com lagoas, remoção GRAs 99,9% e BRA de 98 a 99,8%
- **SNG:** *Enterobacter*, *Escherichia-Shigella*, *Stenotrophomonas* e *Streptococcus* foram potenciais MDR no ET, mesmo em baixa %
- **BRA:** *Escherichia*, *Bacillus*, *Shigella*, *Enterococcus*, *Enterobacter* + no ET
- **ETEs removem BRA e GRA**, mas BRA MDR persistem no ET
- **Aumentar coleta e tratamento esgoto no Brasil para < a disseminação da RAM e patógenos no Ambiente = Melhorar a Saúde !!!**



Grupo RAM- MicroBioEng/UFMG

Elayne Machado

Débora Freitas

Cintia Leal

Marcela Dias

Leticia Santos

Amanda Teodoro

Gabriela Coelho

Ana Paula Assad

Henrique Santos

Douglas Viana Nunes

Alexandre Pena

Parcerias:

FIOCRUZ (Gabriel Fernandes, Luiz Alcantara)

Universidade Católica Portuguesa (Célia Manaia)

Ministério da Saúde (Livia Vinhal)

UNIFESP (Flavia Saia)

COPASA



Muito Obrigada !

juliana@desa.ufmg.br