

UFRRJ

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
TECNOLOGIA E INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

TESE

**Efeito da Compostagem na Comunidade Bacteriana
de Cama de Aviário Proveniente de Sistema de
Produção Orgânico e Convencional: uma
Abordagem em Saúde Única**

Danielli Monsores Bertholoto

2022



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, TECNOLOGIA E
INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

**EFEITO DA COMPOSTAGEM NA COMUNIDADE BACTERIANA
DE CAMA DE AVIÁRIO PROVENIENTE DE SISTEMA DE
PRODUÇÃO ORGÂNICO E CONVENCIONAL: UMA
ABORDAGEM EM SAÚDE ÚNICA**

DANIELLI MONSORES BERTHOLOTO

Sob a Orientação da Professora

Irene da Silva Coelho

e Coorientação da Professora

Shana de Mattos de Oliveira Coelho

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutora**, no
Programa de Pós-Graduação em
Ciência, Tecnologia e Inovação em
Agropecuária, Área de Concentração
Agrobiologia.

Seropédica, RJ
Dezembro de 2022

B542e

Bertholoto, Danielli Monsores, 1980-
Efeito da Compostagem na Comunidade Bacteriana de
Cama de Aviário Proveniente de Sistema de Produção
Orgânico e Convencional: uma Abordagem em Saúde Única /
Danielli Monsores Bertholoto. - Seropédica - RJ, 2022.
81 f.: il.

Orientadora: Irene da Silva Coelho.
Coorientadora: Shana de Mattos de Oliveira Coelho.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, PPGCTIA, 2022.

1. Antibióticos. 2. Cama de Frango. 3. Compostagem.
4. Saúde Animal. 5. Saúde Humana. I. Coelho, Irene da
Silva, 1979-, orient. II. Coelho, Shana de Mattos de
Oliveira, 1980-, coorient. III Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. PPGCTIA. IV. Título.

É permitida a cópia total ou parcial desta Tese, desde que citada sua fonte.

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



HOMOLOGAÇÃO DE TESE DE DOUTORADO Nº 24/2022 - PPGCTIA (12.28.01.84)

Nº do Protocolo: 23083.074810/2022-49

Seropédica-RJ, 07 de dezembro de 2022.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA

DANIELLI MONSORES BERTHOLOTO

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora, no Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, área de concentração em Agrobiologia.

TESE APROVADA EM 06/12/2022

Irene da Silva Coelho. Dra., UFRRJ
(Orientadora)

Diogo Paes da Costa. Dr. UFRPE

Marco Antônio de Almeida Leal. Dr., Embrapa Agrobiologia

Ednaldo da Silva Araújo. Dr., Embrapa Agrobiologia

Miliane Moreira Soares de Souza. Dra., UFRRJ

(Assinado digitalmente em 07/12/2022 18:29)
IRENE DA SILVA COELHO
DMIV (12.28.01.00.00.00.54)
Matrícula: ####157#3

(Assinado digitalmente em 08/12/2022 11:38)
MILIANE MOREIRA SOARES DE SOUZA
PROGEP (12.28.01.09)
Matrícula: ####124#8

(Assinado digitalmente em 13/12/2022 10:21)
MARCO ANTONIO DE ALMEIDA LEAL
CPF: ####.###.757-##

(Assinado digitalmente em 08/12/2022 22:25)
EDNALDO DA SILVA ARAÚJO
CPF: ####.###.133-##

(Assinado digitalmente em 07/12/2022 20:26)
DIOGO PAES DA COSTA
CPF: ####.###.984-##

Aos meus pais Sidnei (*in memorian*) e Reni
Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade em seguir os seus planos e descobrir o quão grandiosos são pra mim.

Ao seu doce e amável Espírito, que me trouxe paz e descanso quando tudo se tornou mais difícil ao longo desta jornada.

A minha família, o bem mais precioso que se possa ter, por estarem sempre ao meu lado e acreditarem em mim.

A professora Irene da Silva Coelho, pela oportunidade de orientação, pelos ensinamentos, paciência, carinho e compreensão. Seu exemplo me inspirou a ser melhor. Sem você esse momento não seria possível!

A professora Shana de Mattos de Oliveira Coelho, pela coorientação. Sua alegria e simplicidade em trazer soluções para a publicação de artigos e escrita acadêmica trouxeram muita leveza para mim.

Ao professor coordenador Mauro Antônio Homem Antunes, pelo acolhimento ao Programa e parceria que proporcionaram a conclusão deste trabalho.

As professoras Miliane Moreira Soares de Souza e Lidiane de Castro Soares por todo aprendizado.

Aos professores Ednaldo da Silva Araújo e Marco Antônio Almeida Leal pelo ensino e suporte na realização dos experimentos de compostagem, sempre com muita paciência e generosidade.

A todos os demais professores aos quais tive o privilégio de conviver, mesmo por um curto período de tempo nesses últimos quatro anos, minha gratidão por terem contribuído com a minha formação acadêmica.

Ao Diogo Paes da Costa pelos ensinamentos, paciência e parceria na execução dos resultados.

A Cláudia Ferreira Reis (*in memorian*), por ter me apresentado ao PPGCTIA e me incentivado a fazer o doutorado.

A amiga Maria Cleonice, pela parceria e cumplicidade nos estudos, no trabalho e na vida. Por todas as orações nos momentos difíceis, muito obrigada!

Aos colegas de curso, em especial Dilson Machado, que apesar da distância física durante a pandemia de COVID-19 se fizeram presentes.

Aos colegas Camila, José, Paula Fernanda, Gustavo, Júlia, e João pela parceria e trabalho em equipe.

A todos os demais colegas que fizeram ou ainda fazem parte do LabacVet e aos colegas das disciplinas cursadas em que tive a oportunidade de conhecer e conviver. Sempre aprendemos muito uns com os outros.

A Renata, que sempre ajudou com muita empatia nas questões administrativas relacionadas ao curso.

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pelo ensino público e de qualidade.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária pelo incentivo ao aprimoramento e oportunidades de aprendizado.

As instituições de fomento à Ciência e à pesquisa brasileira, pelos recursos disponibilizados para a realização deste trabalho.

Por fim, a todos cujos nomes não foram mencionados aqui e contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão desta etapa em minha vida.

Muito Obrigada!

RESUMO GERAL

BERTHOLOTO, Danielli Monsores. **Efeito da compostagem na comunidade bacteriana de cama de aviário proveniente de sistema de produção orgânico e convencional: uma abordagem em saúde única.** 2022. 81f. Tese (Doutorado em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

O uso indiscriminado de antimicrobianos pode intensificar a seleção e persistência de bactérias resistentes nos mais variados ambientes. O seu emprego na produção animal apresenta forte associação com a ocorrência de determinantes de resistência antimicrobiana nos solos, uma vez que é usual a aplicação dos resíduos animais como fertilizantes orgânicos em sistemas agrícolas, sendo a cama de aviário um dos materiais mais empregados. A compostagem é recomendada para redução ou eliminação de patógenos e de substâncias indesejáveis a fim de garantir a seguridade biológica e química de seu uso como fertilizante, mas são escassos estudos que avaliem o impacto deste processo na composição das comunidades bacterianas de camas de aviários. Diante disso, este trabalho objetivou avaliar como os diferentes tipos de sistemas de produção (convencional x orgânico) podem alterar a composição das comunidades bacterianas em camas de aviário, antes e após a compostagem. Em uma perspectiva de Saúde Única, buscou abordar o conhecimento e a percepção de estudantes da Educação Superior em relação ao uso e descarte comunitário de antimicrobianos a resistência antimicrobiana. No que diz respeito ao uso de antimicrobianos na saúde animal e os possíveis impactos na microbiota das aves e, consequentemente, nos resíduos desses animais, verificou-se que o sistema de produção (orgânico x convencional) refletiu em diferenças na composição da comunidade bacteriana das camas de aviários, com maior enriquecimento de *Vibrionaceae* e *Enterobacteriaceae*, ambas pertencentes ao filo Proteobacteria, na cama de aviário orgânico (CAO) e de Actinobacteria, δ-Proteobacteria e Myxococcales na cama de aviário convencional (CAC). Após a compostagem, a diversidade bacteriana diminuiu em CAO, no entanto, foi observado o oposto em CAC, uma maior diversidade após 125 dias. Além disso, CAO apresentou maior complexidade de interações, antes e após a compostagem, quando comparada a CAC. Com isso, fazem-se necessários mais estudos sobre o conhecimento da composição bacteriana de camas de aviário, uma vez que esses materiais são utilizados como fertilizantes orgânicos em sistemas agrícolas e podem carregar diferentes microrganismos edeterminantes de resistência aos antimicrobianos nesses ambientes. Em relação ao conhecimento dos estudantes, verificou-se que 44 % das pessoas entrevistadas, mesmo com acesso às informações sobre uso e descarte de antimicrobianos e os principais fatores que levam a resistência antimicrobiana, já realizaram o uso do fármaco sem prescrição médica em algum momento da vida e destinam o medicamento no lixo comum. Tais evidências podem estar associadas a um hábito cultural, uma vez que os discentes têm informações e conhecimento sobre o assunto. A partir de uma abordagem integradora entre saúde humana, animal e ambiental, bem como a ação conjunta das esferas sociais, políticas e econômicas, conclui-se que a mudança efetiva dessa prática se faz possível através de projetos que visem à ampla conscientização da população.

Palavras-chave: Antibióticos. Cama de Frango. Compostagem. Saúde Animal. Saúde Humana.

GENERAL ABSTRACT

BERTHOLOTO, Danielli Monsores. **Effect of composting in the bacterial community from poultry litter from organic and conventional systems: One Health approach.** 2022. 81p. Thesis (Doctorate in Science, Technology and Innovation in Agriculture). Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

The indiscriminate use of antimicrobials may intensify the selection and persistence of resistant bacteria in the most varied environments. Its employment in animal production has strongly been associated with the occurrence of antimicrobial resistance determinants in soils, since the application of animal residues as organic fertilizers in agricultural systems has usually been used, with poultry litter being one of the most employed materials. Composting has been recommended for the reduction or elimination of pathogens and chemical substances in order to guarantee biological and chemical safety as fertilizer, although there are few studies evaluating the impact of this process on the composition of bacterial communities from poultry litter. Therefore, this study aimed evaluating how different sorts of production systems (organic x conventional) might change bacterial communities in poultry litter, before and after composting. From One Health perspective, knowledge and perception of Higher Education students in relation to the use and disposal of antimicrobials, as well as antimicrobial resistance was approached. Regarding to as the use of antimicrobials on animal health, as possible impacts on poultry microbiota, and consequently on animal residues, differences about poultry litter composition from production systems (organic x conventional) were reported. In organic poultry litter (OPL) greater *Vibrionaceae* and *Enterobacteriaceae* enrichments (Proteobacteria), as well as Actinobacteria - Proteobacteria and Myxococcales in conventional poultry litter (CPL) were observed. After composting, bacterial diversity decrease in OPL was verified, however, CPL presented increase at 125 days. When compared to CPL, OLP showed greater complexity of interactions, before and after composting. Since these materials have been used as organic fertilizers in agricultural systems and might carry different microorganisms and antimicrobial resistance determinants on poultry litter bacterial composition, further studies might be advised. Concerning to students' knowledge, 44% from those ones interviewed, even with access to information about antimicrobials use and disposal, as well as main factors leading to antimicrobial resistance, had already employed the medicine with no medical prescription and disposing them in common waste. Such evidence might be associated with cultural habit, since students have been informed about the subject. From an integrative approach among human, animal and environmental health, as well as the joint action from social, political and economical spheres, an effective change of this practice through projects aiming broad public awareness might be concluded.

Keywords: Antibiotics. Poultry Litter. Composting. Animal Health. Human Health.

RESUMEN AMPLIADO

BERTHOLOTO, Danielli Monsores. **Efecto del compostaje en la comunidad bacteriana en las camas de pollos de engorde provenientes de sistemas de producción orgánica y convencional: un abordaje en solo Salud.** 2022. 81h.Tesis (Doctorado en Ciencia, Tecnología e Innovación em Agropecuaria). Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

1. Introducción

El descubrimiento de los antimicrobianos revolucionó la historia de la salud pública mundial, pues en resultado de su uso los índices de letalidad y secuelas provenientes de enfermedades infecciosas desaparecieron o por lo menos mostraron una disminución de incidencia en las últimas décadas (VENTOLA, 2015). Con el pasar del tiempo la innovación y tecnología posibilitaron la producción de nuevos antimicrobianos, tornándolos populares y de fácil acceso a las personas. Sin embargo, la facilidad del uso domiciliario de estos fármacos ha contribuido a la resistencia antimicrobiana, una vez que muchas personas abandonan el tratamiento antes del término previsto y pueden tener acceso a los antimicrobianos sin debida prescripción médica, ocasionando acumulo de medicamentos y descarte indebido (OLIVEIRA; TAKETANI, 2020). Sumándose a eso, los antimicrobianos son utilizados en la medicina veterinaria, con expresiva administración en animales de sistema de producción convencional (MADIGAN et. Al., 2016). Estos fármacos no son plenamente metabolizados por el organismo animal y consecuentemente son liberadas en el ambiente por medio de excreciones de la vejiga e intestinos (BURKI, 2018). Tal hecho ha generado una preocupación creciente en el sector avícola, pues el Brasil ocupa el tercer lugar en producción mundial de aves (ABPA, 2022). Los altos índices de productividad ocasionan grande proporción de excretas que son incorporadas en las camas de los pollos de engorde. Se sabe que la utilización sustentable de la cama de los pollos de engorde es priorizada por ley en la forma de abono orgánico en sistemas agrícolas y para garantizar la seguridad del producto final, el compostaje ha sido ampliamente difundida (BRASIL, 2018). Sin embargo, poco se sabe hasta ahora sobre su acción en la diversidad bacteriana de las camas de los pollos de engorde, así como la eliminación de determinantes de resistencia a los antimicrobianos, que cuando presentes en los fertilizantes orgánicos pueden intensificar la diseminación entre patogénicas y comensales, de humanos y animales. En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivos evaluar el efecto del compostaje en las comunidades bacterianas de las camas de pollos de engorde provenientes del sistema de producción orgánico y convencional, y abordar en una perspectiva pública de solo salud, el conocimiento de estudiantes de Educación Superior en relación al uso y descarte comunitario de antimicrobianos y la resistencia antimicrobiana. Para eso, dos capítulos fueron estructurados, siendo el capítulo I, se refiere a la evaluación de la composición de la comunidad bacteriana en las camas de pollos de engorde orgánico y convencional antes y después del compostaje y el capítulo II sobre el conocimiento de Estudiantes de Educación Superior en la enseñanza en relación a los antimicrobianos y resistencia antimicrobiana.

2. Materiales y Métodos

Capítulo I:

Las camas de pollos de engorde fueron provenientes de dos propiedades agrícolas con sistemas de producción distintos, orgánica y convencional, localizadas respectivamente en los municipios de São José do Vale do Rio Preto (22°09'S y 42°55'W) y Nova Friburgo (22°17'S

y 42°32'W), ambos pertenecientes a la Región Serrana del estado de Rio de Janeiro, Brasil. En el sistema de producción orgánico de las aves fueron criadas en espacios semiabiertos, con locales externos divididos con piquetes que permiten el pastoreo durante el día. En este sistema de producción convencional las aves fueron criadas en galpones con control de ventilación y temperatura. El productor utiliza antimicrobianos de forma terapéutica y como promotores de crecimiento. Para el experimento del compostaje, fueron confeccionadas tres pilas para tipo de residuo, cama de pollos de engorde convencional (CAC) y cama de pollos de engorde orgánico (CAO). El periodo total de compostaje fue de 125 días. En los tiempos de 0 y 125 días fueron recolectadas las muestras de compostaje en triplicado para la realización de los análisis químicos (pH, conductividad eléctrica y emisiones de CO₂ y NH₃). La extracción de DNA total de las muestras fue realizada utilizando el kit *Power Soil DNA Isolation* (MO BIO Laboratories INC.). La preparación de las bibliotecas y secuenciación en la plataforma Illumina fueron realizados por la empresa Macrogen. Los datos brutos fueron compuestos por 1'315,312 pares de secuencias (*forward and reverse*) obtenidas de las 11 bibliotecas de amplicones 16S rRNA. Después el tratamiento de las secuencias, se obtuvo 8,192 ASVs únicos pertenecientes al dominio Bacteria. Análisis estadísticos multivariados, cálculos de índices y correlaciones (HILLI, 1973) fueron realizados a través de funciones disponibles por bibliotecas R como “vegan”, “phyloseq” entre otros. Los gráficos fueron construidos con el paquete R “ggplot2” versión 3.3.3 (WICKHAM, 2016).

Capítulo II:

La investigación fue realizada en la Universidad Federal de Rio de Janeiro (UFRRJ), campus Seropédica, situada en la BR 465, KM 7, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. La institución fue invitada a participar con la divulgación de la investigación al público objetivo mediante un Plazo de consentimiento, y a voluntarios, estudiantes de Pregrado y posgrado con 18 años cumplidos a más, mediante Plazo de consentimiento libre e informado. Con el fin de investigar el conocimiento previo de los estudiantes de Pregrado y Posgrado de la UFRRJ, fue aplicado un cuestionario electrónico a través de *Google Forms* compuesto por 19 preguntas objetivas en relación a antimicrobianos, uso y descarte de antimicrobianos, y resistencia antimicrobiana. Las cuestiones fueron sistematizadas en dos conjuntos categóricos, conforme a lo recomendado por BARDIN (2011). La divulgación del cuestionario fue realizada por medio de las redes sociales, como *Instagram*, *Facebook* y *Whatsapp*, grupos de Investigación, Enseñanza y Extensión de la UFRRJ a través de la plataforma *online* del Sistema Integrado de Gestión y Actividades Académicas (SIGAA) de la Universidad. El acceso para la entrega de respuestas fue de 3 meses, de noviembre de 2020 a enero de 2021. Las respuestas de los alumnos al cuestionario electrónico fueron tabulados y filtrados a través del programa Microsoft Excel y representadas gráficamente a través del programa de diseño gráfico Canva *for Education*. El análisis cuantitativo y cualitativo fue realizado con base a la categorización de los datos como propuesta por el método de BARDIN (2011).

3. Resultados y Discusion

Capítulo I:

Los padrones de oscilación de temperatura fueron semejantes entre los dos compuestos, alcanzando picos de hasta 65 °C y 67 °C para la CAC y la CAO, respectivamente. Los picos de temperatura fueron alcanzados en los tiempos 3, 15, 33 y 61 días. La conducción adecuada de estos factores favorecen la intensificación de la actividad microbiana aeróbica, que libera calor y eleva la temperatura del material (KIEHL, 2012). Después de 68 días, los dos tratamientos registraron temperaturas medias inferiores a 45 °C,

permaneciendo en la fase mesófila hasta el final del compostaje. Temperaturas próximas a la temperatura ambiente, entre 33 °C y 35 °C, fueron registrados a los 123 y 125 días para ambos compuestos indicando el final del periodo de estabilización e inicio del periodo de cura o maduración. Esta etapa consiste en la fase final del compostaje, donde el material presenta características físicas, químicas y biológicas ideales para ser utilizado como fertilizante orgánico (KIEHK, 2012). Se observo que los tratamientos presentaron valores de pH inicial de 8.7 y 9.3, y final de 9.7 y 10.0 para la CAC y la CAO, respectivamente. La CAC fresca presento mayor valor de conductividad eléctrica ($2.54 \mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$) cuando es comparada al compuesto ($2.38 \mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$). Lo contrario fue observado para la CAO con valores de $1.99 \mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ en la fresca y $2.42 \mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ en el compuesto. Las emisiones potenciales de CO_2 (mg de CO_2 por g de masa seca por día) presentaron resultados semejantes para ambas camas, con valores elevados en el inicio de compostaje, de 20.67 mg g^{-1} y 22.53 mg g^{-1} , y valores más bajos después de 125 días de 7.71 mg g^{-1} y 7.46 mg g^{-1} para la CAC y la CAO, respectivamente. Las emisiones de NH_3 fueron altas en las CAC (1.29 mg g^{-1}) y la CAO (0.85 mg g^{-1}) frescas. Despues de 125 días los contenidos de NH_3 disminuyeron significativamente, alcanzando valores de $0.02 \text{ mg g}^{-1}\text{L}$ en la CAC y $0.00 \text{ mg g}^{-1}\text{L}$ en la CAO. La estabilidad de los compuestos puede ser inferida a través de las emisiones de CO_2 y NH_3 , en que los bajos valores detectados a los 125 días, indican la estabilización de ambos compuestos.

Capítulo II:

Participaron de esta investigación 486 entrevistados del campus Seropédica, siendo 37 % representados por estudiantes de pregrado (355/486) y 27 % por estudiantes de posgrado (131/486). En relación a las áreas de conocimiento deliberadas por el Consejo Nacional de Desarrollo científico y tecnológico (CNPq), la mayoría de los participantes tienen su formación en Ciencias Agrarias, que engloba los cursos de Agronomía, Ingeniería Agrícola, Medicina veterinaria, Licenciatura en educación en el Campo y ciencia agrícolas, Zootecnia, ingeniería Forestal y licenciatura en Educación en el campo, y representan el 37 % de los entrevistados (180/486). A fin de comprender la relación formalmente en la UFRRJ, fue realizada el siguiente abordaje: “Considerando los temas: Microorganismos, Bacterias patogénicas, resistencias a los antibióticos, antibióticos *One Health* - salud única, y Uso y descarte de medicamentos, ¿cuál (es) ya fueron abordados en su curso?”. Se verifico que el asunto mas discutido en clase fue “microorganismos” con 25 %, seguido de “Bacterias Patogénicas” con 20 %, “Resistencia a Antibióticos” con 18 %, “Antibióticos” con 17 %, “*One Health – Salud Única*” con 11 % y “Uso y descarte de medicamentos” con apenas 9 % de las respuestas. Posteriormente, al ser cuestionados cuanto a la eficacia del uso de antibióticos en el tratamiento de las enfermedades causadas por bacterias, hongos, protozoarios y virus con 22 % de los participantes (107/486) confían en la acción farmacológica del medicamento en las enfermedades parasitarias y virales. Estos datos mostraron asociación con las respuestas a la cuestión: “¿En cual (es) situaciones usted cree que los antibióticos deben ser prescritos?”. A pesar de que gran parte de los participantes tengan señalado que el antibiótico debe ser administrado “al contraer una infección bacteriana” (477 respuestas), 51 respuestas recomendaron su uso para tratar síntomas y enfermedades asociadas a la gripe y refriado. La frecuencia del uso de antibióticos fue baja entre los voluntarios de la investigación, siendo raramente utilizados por la mayoría con 79 % (382/486). Aun así, el empleo de antibióticos sin receta medica fue confirmado por 44 % de los participantes (214/486) en algún momento de la vida. En relación a los hábitos y actitudes en cuanto al descarte comunitario de estos medicamentos con 64 % de los entrevistados (310/486) dijeron destinar las sobras de los antibióticos vencidos, juntamente a los embalajes del producto en la basura común y apenas 17 % (85/486) encaminan adecuadamente a un

puesto de acopio. Cuando no se descarta, aun en el plazo valido, la mayoría prefiere guardar los antibióticos para uso familiar (305/486) o donar (23/486). Ambos presentas riesgos de automedicación, pues el fácil acceso es el factor primordial para su uso irregular (OPAS, 2016). Cuanto, al conocimiento de los entrevistados sobre bacterias resistentes a los antibióticos, fue solicitado que definan el termino “superbacterias”, y la mayoría, el 96 % (467/486) respondió correctamente como siendo bacterias resistentes a varios antibióticos. Escuchar hablar sobre superbacterias se tornó algo bastante común. En un primer momento el tema gano destaque en los ambientes hospitalarios, donde el uso de antibióticos es mas intenso y hay mayor recurrencia de transmisión de bacterias (VENTOLA, 2015). Con el propósito de comprender como los estudiantes de la UFRRJ obtenían información sobre los microorganismos multirresistentes, fue solicitada la indicación de las fuentes de acceso – redes sociales y medios de comunicación. Los medios mas indicados fueron los sitios de investigación en el internet, televisión, aulas de la Universidad, conversaciones informativas, redes sociales y Journal's y/o revistas impresas. La pregunta “¿Cuál (es) de los factores abajo puede causar resistencia a los antibióticos?” presento 96 % de respuesta correcta al colocar el uso de antibióticos como los principales riesgos para la resistencia. El 4 % restante nos remite al mismo cuestionamiento sobre la aplicación del antibiótico para el tratamiento de infección no bacteriana, pues mencionan el uso de anti-inflamatorios, analgésicos y vacunación contra enfermedades bacterianas como factores desencadenadores de la resistencia antimicrobiana. Aunque la mayoría de los participantes de esta investigación reconozca que la automedicación y la falta de adhesión al tratamiento clínico favorecieron la ocurrencia y diseminación de la resistencia antimicrobiana, el 44 % admitieron haber usado antibióticos sin prescripción médica y el 63 % guardan las sobras para reutilización, lo que evidencia tanto el termino anticipado del tratamiento en cuanto a la venta inadecuada del medicamento.

4. Conclusión

Capítulo I:

Diferentes condiciones de manejo en sistemas de producción orgánica y convencional de aves influenciaron en la comunidad bacteriana de las camas de pollos de engorde. La CAO presentaron mejor diversidad y complejidad cuando comparando la CAC. Uno de los factores considerables en esta diferenciación puede estar relacionado al uso intensivo de antimicrobianos, que actúan modificando la microbiota gastrointestinal de las aves y consecuentemente la composición bacteriana de las camas de pollos de engorde.

El proceso de compostaje también llevo a la modificación de la microbiota bacteriana de manera diferente en las camas de pollos de engorde obtenidas en los dos sistemas. En la CAC hubo un aumento de los índices de diversidad después del compostaje, mientras que en la CAO hubo una disminución de estos índices.

Capítulo II:

Esta investigación demostró que la práctica incorrecta del uso y descarte comunitario de antibióticos es un hábito cultural, y que los cambios de esa práctica hacen posible a través de la integración de acciones políticas, socio-económicas y educativas, que apunten la concientización de la población sobre la resistencia antimicrobiana. En este proceso, las instituciones formales de enseñanza superior deben proporcionar el desarrollo de competencias y habilidades, que favorecen la formación de sujetos capaces de influir en cambios que tengan repercusión en su vida personal, en la calidad de vida de la sociedad y del medio ambiente.

Palabras-llave: Antibióticos. Cama de pollos de engorde. Compostaje. Salud animal. Salud humana.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL.....	01
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1	Antimicrobianos: um Histórico até os Dias Atuais.....	03
2.2	Utilização de Antimicrobianos na Saúde Humana e Animal.....	04
2.3	Resistência Antimicrobiana.....	06
2.4	Saúde Única.....	08
2.5	Microbiota Gastrointestinal de Aves.....	09
2.6	O Uso de Cama de Aviário como Fertilizante Orgânico.....	10
2.7	Compostagem de Resíduos Animais	11
2.8	Ferramentas Moleculares para Estudos de Ecologia Microbiana.....	13
2.9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	14
3.	CAPÍTULO I - COMPOSIÇÃO DA COMUNIDADE BACTERIANA EM CAMA DE AVIÁRIO DE SISTEMA DE PRODUÇÃO ORGÂNICO E CONVENCIONAL ANTES E APÓS COMPOSTAGEM	21
3.1	RESUMO.....	22
3.2	ABSTRACT	23
3.3	INTRODUÇÃO.....	24
3.4	MATERIAL E MÉTODOS	26
3.4.1	Condução da Compostagem	26
3.4.2	Análises Químicas dos Resíduos	28
3.4.3	Extração de DNA Total dos Resíduos Orgânicos e Avaliação da Quantidade e Qualidade do DNA Total	28
3.4.4	Preparo da Biblioteca e Sequenciamento do Gene 16S rDNA	28
3.4.5	Processamento das Sequências.....	28
3.4.6	Análises Estatísticas	29
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
3.5.1	Temperatura e pH Durante a Compostagem das Camas de Aviário Orgânico e Convencional.....	30
3.5.2	Estrutura e Composição da Comunidade Bacteriana e Índices de Diversidade.....	33
3.5.3	Nicho de Ocupação das Comunidades Bacterianas	37
3.5.4	Enriquecimento das Comunidades Bacterianas em Diferentes Materiais e Tempos de Compostagem	39
3.5.5	Rede de Co-ocorrência das Comunidades Bacterianas	41

3.6	CONCLUSÕES.....	44
3.7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
4.	CAPÍTULO II - USO E DESCARTE COMUNITÁRIO DE ANTIBIÓTICOS E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA: UMA PREOCUPAÇÃO QUE CHEGA ÀS INSTITUIÇÕES DE ENSINO?.....	49
4.1	RESUMO.....	50
4.2	ABSTRACT	51
4.3	INTRODUÇÃO.....	52
4.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	54
4.4.1	Universo Amostral e Sujeitos da Pesquisa	54
4.4.2	Instrumento e Método de Investigação	54
4.4.3	Análise de Dados	55
4.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
4.5.1	Abordagem I - Perfil Acadêmico dos Entrevistados	56
4.5.2	Abordagem II - Conhecimento sobre Resistência Antimicrobiana e Hábitos e Atitudes em Relação ao Uso e Descarte Comunitário de Antibióticos	58
4.6	CONCLUSÕES.....	65
4.7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
6	APÊNDICES	70
7	ANEXOS	77

1. INTRODUÇÃO GERAL

A descoberta dos antimicrobianos revolucionou a história da saúde pública mundial, pois em decorrência do seu uso os índices de letalidade e sequelas provenientes de doenças infecciosas desapareceram ou, pelo menos, mostraram um decréscimo de incidência nas últimas décadas (VENTOLA, 2015). O grande marco dessa revolução ocorreu em 1928, por Alexander Fleming em seus estudos com *Staphylococcus aureus*, que ao cultivar essas bactérias percebeu uma contaminação accidental por fungos do gênero *Penicillium*. Fleming observou a presença de uma substância secretada pelos fungos que atuou inibindo o desenvolvimento das bactérias. Essa substância antibiótica é a penicilina e após sua produção industrial em 1940 transformou-se em um fármaco imprescindível contra as doenças infecciosas (CHAMBERS; DELEO, 2009). Essa nova conquista desencadeou muitas pesquisas na área e possibilitou a obtenção de novos antimicrobianos. Além disso, a facilidade do uso domiciliar desses fármacos na terapêutica humana, tornou-se algo bastante comum. Esse uso, quando conduzido de forma inadequada, uma vez que muitas pessoas abandonam o tratamento antes do término previsto e podem ter acesso sem a devida prescrição médica, ocasiona acúmulo de medicamentos e descarte indevido (OLIVEIRA; TAKETANI, 2020).

O descarte incorreto de sobras e/ou medicamentos vencidos é, geralmente, realizado no lixo comum e no vaso sanitário. Ao serem descartados no lixo comum, podem ser depositados a céu aberto e contaminar o solo e o lençol freático. Quando descartados no vaso sanitário atingem as redes de esgoto e contaminam os recursos hídricos. Os sistemas convencionais de tratamento de esgoto são insuficientes para a completa remoção de resíduos de antimicrobianos, pois os processos a que são submetidos, baseados na degradação biológica dos contaminantes, não são eficientes para a total eliminação de fármacos residuais, por possuírem estruturas químicas complexas não passíveis de biodegradação (CRUZ et. al., 2016; MACLNTOSH, 2018).

Além da aplicação na saúde humana, os antimicrobianos são utilizados na medicina veterinária, com expressiva administração em animais de sistema de produção convencional. Aproximadamente 50 % de todos os antimicrobianos produzidos são utilizados com finalidades agropecuárias (MADIGAN et. al., 2016). O emprego desses fármacos na saúde animal pode ocorrer de forma: i. Terapêutica - Os animais doentes são identificados e tratados de forma bastante específica; ii. Metafílica - Todos os animais (doentes / não doentes) são submetidos ao tratamento, após início dos sinais clínicos em uma parcela da população; iii. Profilática - O tratamento dos animais é realizado de forma individual ou em grupo, antes da apresentação de sinais da doença; iv. Aditivos zootécnicos em rações, a fim de melhorar a eficiência na conversão alimentar e estimular o crescimento (TORTOGA, 2005). O primeiro relato de uso de antimicrobianos como melhoradores de desempenho datam de 1946, quando a sulfasuxidina e a estreptomicina foram utilizadas em aves (KIRCHELLE, 2020).

Embora o uso de antimicrobianos melhore o desempenho animal e otimize a produção em larga escala, existe uma crescente preocupação com o aumento de microrganismos multirresistentes decorrentes dessa prática. Devido às propriedades físicas e químicas dos antimicrobianos, muitos não são plenamente absorvidos pelo organismo e, consequentemente,

liberados no ambiente por meio de excreções vesicais e intestinais. Uma vez no ambiente, a acumulação nos solos e o transporte via escoamento superficial para os corpos hídricos são favorecidos. A contaminação de produtos de origem animal, como carne e leite ou a absorção e acumulação nos tecidos vegetais também podem ocorrer. Como resultado, as comunidades bacterianas dos diferentes reservatórios ambientais são afetadas a nível estrutural e funcional, favorecendo a intensificação e disseminação da resistência bacteriana a antimicrobianos (BURKI, 2018; O'NEILL, 2015).

Ainda que a resistência antimicrobiana preceda a pressão seletiva provocada pelas atividades humanas, uma vez que as bactérias já possuam mecanismos para se defender desses agentes químicos, as evidências demonstram que a descoberta e utilização de substâncias antibióticas na saúde humana e animal impulsionaram o processo de transferência de genes de resistência, aumentando a diversidade de cepas bacterianas resistentes (MADINGAN et al., 2016). Com isso, muitas infecções se tornaram mais difíceis de tratar por não responderem a ação de diferentes antimicrobianos, exigindo o uso de tratamentos mais complexos e de maior custo quando disponíveis (BEN et. al., 2019).

A rápida interação gênica entre bactérias intra/interespecíficas, relacionadas/não relacionadas, bem como a relação homem/animal e a complexidade da vida nos ecossistemas, devem ser consideradas em uma perspectiva de Saúde Única, uma vez que os genes de resistência a antimicrobianos circulam em todos os compartimentos ambientais. A Saúde Única representa uma abordagem integrada entre a saúde humana, animal e ambiental, onde projetos, programas, políticas, legislações e pesquisas trabalham juntos para alcançar melhores resultados de saúde pública (WHO, 2017). Nessa perspectiva, a adoção de boas práticas em relação ao uso de antimicrobianos na produção animal e o manejo correto dos resíduos provenientes da produção intensiva, a fim de conciliar a produtividade agrícola e a redução dos impactos ambientais, devem ser considerados. Ademais, o uso inapropriado desses fármacos, seja na saúde humana ou animal, representa uma ameaça crescente para a saúde pública a nível global e torna tão necessária a abordagem do tema em diferentes esferas sociais.

Mediante esse contexto, esse trabalho foi dividido em dois capítulos: o Capítulo I aborda como o sistema de manejo das aves (convecional x orgânico) e a compostagem podem alterar a diversidade de comunidades bacterianas nas camas de aviário, corriqueiramente utilizadas como fertilizantes orgânicos; e o Capítulo II aborda o conhecimento de estudantes da Educação Superior em relação ao uso e descarte comunitário de antibióticos e a resistência antimicrobiana.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Antimicrobianos: um Histórico até os Dias Atuais

Os antimicrobianos são substâncias químicas de origem natural ou sintética, que podem inibir ou matar microrganismos. Geralmente, emprega-se o termo antibiótico, originário do grego “*anti*” (contra) e “*bio*” (vida), para definir as substâncias químicas produzidas por microrganismos de forma natural, enquanto o termo quimioterápico se refere à produção por síntese laboratorial, que pode ser parcial (semisintéticos ou biossintéticos) ou total (sintobióticos). A totalidade destes fármacos é conhecida como antimicrobianos (WALSH, p. 3, 2003; TIMENETSKY, 2022).

Substâncias com propriedades antimicrobianas têm sido utilizadas na medicina por séculos. No que se refere à Medicina Moderna, o reconhecimento do potencial clínico dos produtos microbianos como agentes terapêuticos é investigado desde o século XIX. Destaca-se nessa época, Paul Ehrlich (1854 – 1915), que em seus estudos desenvolveu um composto sintético a base de arsênio capaz de combater a sífilis, doença causada pela bactéria *Treponema pallidum*. A administração do medicamento foi amplamente comercializada pela Hoechst sob o nome Salvarsan, e posteriormente Neosalvarsan, mais solúvel e menos tóxico, até sua substituição pela penicilina (ADJAFRE et al., 2019).

A penicilina é considerada uma das conquistas mais relevantes da história da Ciência, pois além dos avanços na Medicina, representou uma porta de entrada para investimentos científicos na expansão da antibioticoterapia e, consequentemente, à obtenção de novos antimicrobianos. Descoberta por Alexander Fleming (1854 – 1915) em 1928 e produzida em escala industrial em 1940, transformou-se num fármaco imprescindível, o primeiro antibiótico da história (PEREIRA; PITA, 2005).

Ainda nesse período, Gerard Domagk (1895 – 1964), influenciado pelas pesquisas de Paul Ehrlich, dedicou-se a investigar o potencial de azocorantes em doenças infecciosas causadas por estreptococos. Em 1932, seus experimentos resultaram na descoberta de uma substância chamada Prontosil, primeiro derivado sulfamídico. Até 1945 foram produzidos vários derivados da sulfonamida, alguns utilizados até hoje, como o sulfametoxazol e a dapsona (ADJAFRE et al., 2019).

A busca por novos antimicrobianos prosseguiu e entre as décadas de 1940-1960 foram descobertos e introduzidos no mercado beta-lactâmicos, aminoglicosídeos, tetraciclínas, macrolídeos, peptídeos, dentre outros. Entre 1960-1980 foram produzidos antimicrobianos, análogos aos antibióticos naturais já existentes, como derivados de beta-lactâmicos e aminoglicosídicos e análogos da tetraciclina (GUIMARÃES et al., 2010).

Atualmente, ocorreu um decréscimo na descoberta de novos agentes antimicrobianos com progressivo aumento na incidência de bactérias resistentes, até mesmo, aos antibióticos de última geração. Em 2019, a OMS identificou 32 antibióticos em desenvolvimento clínico que atenderam à lista de patógenos prioritários, publicada em 2017. Desses 32, apenas seis foram classificados como inovadores (ANVISA, 2022).

O relatório “*Antibacterial Pipeline*” de 2021, que analisa os antimicrobianos em estágios clínicos de teste, bem como aqueles em desenvolvimento inicial, revela uma linha de pesquisa quase estática, com apenas alguns antimicrobianos sendo aprovados por agências regulatórias nos últimos anos. A maioria desses agentes em desenvolvimento oferece benefício clínico limitado em relação aos tratamentos existentes, com 82% dos antimicrobianos aprovados recentemente sendo derivados de classes descobertas na década de 1980 (WHO, 2022).

Dessa forma, é cada vez mais urgente a racionalização do uso de antimicrobianos na saúde humana e animal, uma vez que a resistência antimicrobiana representa um problema crescente de impacto mundial.

2.2. Utilização de Antimicrobianos na Saúde Humana e Animal

O corpo humano é habitado por vários microrganismos, que começam a surgir a partir do nascimento pelo contato com a mãe e o ambiente a sua volta. Esse conjunto de microrganismos representa a microbiota, que pode ser residente ou transitória. A pele, a boca, o trato respiratório superior, o trato gastrointestinal e o trato urogenital são os locais mais habitados por essa microbiota, uma vez que apresentam comunicação com o meio externo (TEÓFILO et. al., 2019).

Embora a maioria dos microrganismos seja inofensiva e até mesmo benéfica para os organismos vivos e o ambiente, as bactérias patogênicas podem prejudicar gravemente os seres humanos. A fim de combater, controlar e impedir o desenvolvimento dessas bactérias, fármacos antimicrobianos são utilizados no tratamento de doenças infecciosas. Além disso, ressalta-se a importante administração desses fármacos em nascimentos prematuros, cirurgias, transplantes e terapias citotóxicas para o combate a diferentes tipos de câncer, aumentando a expectativa de vida das pessoas. Até meados do século XX o uso dessas substâncias ocorria predominantemente em ambientes hospitalares, ampliando, em seguida, para ambientes comunitários (MADIGAN et. al., 2016; VENTOLA, 2015; BRITO; CORDEIRO, 2012).

Sabe-se que a administração de antimicrobianos em ambientes hospitalares é considerada uma fonte potencial para seleção de determinantes de resistência antimicrobiana, pois pessoas gravemente doentes, ao receberem altas doses desses agentes podem favorecer a disseminação da resistência em um ambiente em que várias outras doenças estão presentes (MACLINTOSH, 2018). No entanto, estudos têm demonstrado que a utilização comunitária de antimicrobianos também contribui de forma substancial para a intensificação da resistência antimicrobiana. A facilidade de acesso a esses medicamentos, a prescrição indevida e o uso indiscriminado são alguns dos fatores que contribuem para a seleção de bactérias resistentes e a intensificação da resistência antimicrobiana (O’ NEILL, 2015; VENTOLA, 2015).

O Brasil está entre os países que mais consomem medicamentos atualmente e assim como outros países em desenvolvimento, tem alguns dos maiores índices de resistência para determinadas bactérias. Dentre elas, a *Acinetobacter* spp., que pode causar infecções de urina, da corrente sanguínea e pneumonia, foi incluída na lista da OMS como uma das 12 bactérias de maior risco à saúde humana pelo seu alto poder de resistência. Cerca de 77,4 % das infecções da corrente sanguínea causadas por essa bactéria e registradas nos hospitais

brasileiros em 2015, ocorreram através de uma versão de cepas resistentes a carbapenêmicos, uma das últimas opções de tratamento disponível (BRASIL, 2018).

Segundo o Centro de Controle e Prevenção de Doenças causadas por bactérias (*Centers for Disease Control and Prevention–CDC*) dos Estados Unidos, mais de 2,8 milhões de infecções resistentes a antibióticos ocorrem nos EUA a cada ano e mais de 35 mil pessoas morrem como resultado destas infecções. Na União Europeia, a resistência microbiana aos antimicrobianos é responsável por cerca de 33 mil mortes por ano e estima-se que custe 1,5 bilhão de Euros anuais em gastos com saúde e em perda de produtividade (ANVISA, 2022).

Nos últimos anos, algumas ações governamentais brasileiras têm sido implantadas com o intuito de minimizar os danos do uso indevido de antimicrobianos e prevenir possíveis surtos de bactérias resistentes na população, como a restrição da venda, que somente pode ser realizada com prescrição médica e retenção da receita, segundo a Resolução da Diretoria Colegiada, RDC 44/2010 e 22/2011 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2011).

Além da aplicação na saúde humana, os antimicrobianos são utilizados na medicina veterinária, bem como em sistemas de produção animal. As principais classes de antimicrobianos administrados na saúde humana e animal são: betalactâmicos, marcrolídios, aminoglicosídeos, tetraciclinas, quinolonas, fluoroquinolonas, anfenicóis, sulfonamidas, lincosamidas, glicopeptídeos e ionóforos, sendo os betalactâmicos, tetraciclinas, marcrolídios, aminoglicosídeos e sulfonamidas, mais amplamente aplicados na produção animal intensiva. No Brasil, todo antimicrobiano utilizado em terapêutica humana e animal é regulamentado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde (ANDREOTTI; NICODEMO, 2004; VENTOLA, 2015; MADIGAN et al., 2016).

Na saúde animal, os antimicrobianos podem ser administrados individualmente para tratamento (terapia) ou prevenção (profilaxia) de doenças. Em sistemas de produção intensiva, o uso em animais clinicamente saudáveis pertencentes a um mesmo lote em que animais com manifestações clínicas estão presentes, também é recorrente. Uma forma de profilaxia conhecida como metafilaxia, onde todos os animais (doentes / não doentes) são submetidos ao tratamento e o período, em geral, é mais curto do que o tratamento terapêutico. Além dessas formas de tratamentos, os antimicrobianos são utilizados como aditivos zootécnicos, em concentrações subinibitórias para melhorar a eficiência metabólica e promover o desenvolvimento do animal. Essa prática é, sem dúvida, a medida mais controversa quanto ao uso de antimicrobianos na saúde animal, pois são administrados em uma concentração insuficiente para eliminar todas as bactérias patogênicas do organismo (KUTSZEPA et al., 2009; GUARDABASSI; KRUSE, 2010).

De acordo com a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO), entre os anos de 2015 a 2017, 118 países apresentaram dados quantitativos sobre o uso de antimicrobianos em animais de produção. Cerca de 89 novos relatórios estatísticos foram contabilizados nesse período (FAO, 2018). No Brasil, algumas ações legislativas foram adotadas a fim de controlar o uso dessas substâncias. A Instrução Normativa N° 26 de 09 de julho de 2009 regulamenta a proibição da administração de alguns antimicrobianos como aditivos zootécnicos e promotores de crescimento, dentre eles: anfenicóis, tetraciclinas, betalactâmicos (benzilpenicilâmicos e cefalosporinas de 3^a e 4^a gerações), fluoroquinolonas, quinolonas e sulfonamidas sistêmicas (BRASIL, 2009). A Instrução Normativa N° 14 de 17

de maio de 2012 proíbe a importação, fabricação e o uso da espiramicina e eritromicina como aditivo zootécnico (BRASIL, 2012). A Instrução Normativa Nº 45 de 22 de novembro de 2016 que regulamenta o uso da colistina apenas como alternativa terapêutica e proíbe seu uso como promotor de crescimento (BRASIL, 2016). Mais recentemente, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou a Portaria 171/2018, que proíbe o uso dos antimicrobianos tilosina, lincomicina, virginiamicina, bacitracina e tiamulina como aditivos melhoradores de desempenho animal (BRASIL, 2018).

Diante da preocupação crescente com o meio ambiente, a saúde humana e o bem-estar animal, empresas do setor agrícola têm investido na produção orgânica. No sistema de produção animal orgânico o uso de fármacos antimicrobianos é proibido, e só pode ser administrado em casos de doenças ou ferimentos em que o uso das substâncias permitidas não esteja surtindo efeito e o animal apresente sofrimento ou risco de morte. Caso sejam aplicados, os produtos, subprodutos e dejetos dos animais somente voltam a ter reconhecimento como orgânicos após duas vezes o período de carência estipulado na bula do produto, com o mínimo de 96 horas para qualquer caso. Além disso, a administração desses fármacos só pode ocorrer por, no máximo, duas vezes no período de um ano. Se houver necessidade de se efetuar um número maior de tratamentos, o animal deve ser retirado do sistema orgânico (BRASIL, 2011).

Embora o uso de antimicrobianos em animais no sistema de produção orgânico seja rigorosamente controlado, estudos recentes indicam que ambientes agrícolas orgânicos também atuam como fonte de resistência a antimicrobianos, por constituírem um reservatório natural de bactérias e genes de resistência (CADENA, et al., 2018; SANCHEZA, et al., 2016; HEUER; SMALLA, 2007).

Compreender a relação existente entre uso de antimicrobianos, na saúde humana ou animal, e a intensificação da resistência antimicrobiana nos mais variados reservatórios ambientais se mostrado o principal caminho ao combate dessa problemática.

2.3. Resistência Antimicrobiana

A resistência antimicrobiana pode ser uma característica natural ou intrínseca de bactérias, não necessariamente patogênicas, onde o organismo não é suscetível ao composto devido a uma inerente característica estrutural ou funcional, atribuída a mutações nos próprios genes. As bactérias produtoras de substâncias antibióticas carregam esses segmentos gênicos inseridos em frações genômicas relacionadas à biossíntese dessas moléculas, como uma forma de evitar a autointoxicação e a própria morte. A totalidade dessas unidades gênicas engloba o “resistoma”, um conjunto diversificado de determinantes de resistência, conhecidos e desconhecidos de um ecossistema. (BLAIR et al., 2014; KOZHEVIN et al., 2013; HEUER et al., 2011;).

Quando uma alteração genética é expressa fenotipicamente e representa uma vantagem adaptativa, como é o caso da resistência aos antimicrobianos para as bactérias, esses microrganismos predominam no ambiente e podem transmitir os genes de resistência a outras espécies relacionadas / não relacionadas, patogênicas / não patogênicas (BLAIR et al., 2014; SILVA; DINIZ, 2014). A transferência dos genes que conferem resistência aos antimicrobianos, também conhecida como transferência genética horizontal, pode ser mediada

por genes cromossômicos, genes situados em elementos extracromossomais, como plasmídeos, ou, ainda, elementos móveis do próprio genoma, como os transposons (BAPTISTA, 2013; MAYER, 2010; WALSH, 2003).

A resistência a certos agentes antimicrobianos também pode ocorrer em decorrência a uma seleção cruzada ou co-seleção. A seleção cruzada refere-se à presença de um único gene de resistência ou mutação que confere tal característica a dois ou mais grupos de antimicrobianos que, em geral, pertencem à mesma classe. Já a co-seleção deve-se à existência de genes distintos ou mutações na mesma cepa bacteriana, conferindo resistência a diferentes classes de antimicrobianos (GUARDABASSI; KRUSE, 2010).

As bactérias utilizam diversos mecanismos de resistência que as deixam imunes aos antimicrobianos. Um dos mecanismos utilizados é a alteração da permeabilidade da membrana celular. Em bactérias gram-negativas, a passagem de antimicrobianos pela membrana externa ocorre através de porinas, proteínas que atravessam a membrana formando um canal hidrofílico. Modificações estruturais e bioquímicas nas porinas, como tamanho da proteína, uma vez que elas atravessam toda a membrana celular, quantidade ao longo da membrana e seletividade, pode modificar a permeabilidade do antimicrobiano em relação à célula bacteriana. Antimicrobianos como os betalactâmicos, fluoroquinolonas e tetraciclínas penetram no interior da célula através desse mecanismo de transporte. Qualquer diminuição na função das proteínas porinas favorecerá a resistência antimicrobiana, pois o nível do antimicrobiano no interior da bactéria diminuirá significativamente (BAPTISTA, 2013).

Outro mecanismo de resistência antimicrobiana ocorre por meio da modificação do alvo de ligação do agente antimicrobiano. Grande parte dos antimicrobianos liga-se de forma específica aos seus alvos de ação. Neste caso, mudanças estruturais do peptidioglicano, uma macromolécula presente na parede celular da maioria das bactérias, bem como no ribossomo e na DNA polimerase, podem reduzir, consideravelmente, a afinidade do antimicrobiano ao seu sítio de ligação. Este mecanismo de resistência é observado para diversos antimicrobianos, dentre eles os betalactâmicos e glicopeptídeos. *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina e estafilococos coagulase-negativos, apresentam esse tipo de mecanismo de resistência. Essas bactérias adquirem o gene cromossômico *mecA*, que codifica a proteína de ligação da penicilina (PBP2a) resistente aos betalactâmicos e mantém a integridade da parede celular durante o crescimento, enquanto outras PBPs essenciais são inativadas por essa classe de antimicrobianos (BLAIR et al., 2014; BAPTISTA, 2013).

A produção de bombas *Multidrug resistance* (MDR), permite à célula bacteriana bombear o fármaco para o meio extracelular, mantendo as concentrações intracelulares de antimicrobianos em níveis mais baixos. O mecanismo de bombas de efluxo foi originalmente observado em tetraciclínas, mas também é responsável pela resistência a praticamente todas as principais classes de antimicrobianos, pois as bactérias normalmente apresentam muitas dessas bombas para eliminação de substâncias tóxicas. Nas últimas décadas, a resistência em bactérias Gram-positivas na presença do grupo de antimicrobianos MLSB (macrolídeos, lincosaminas e estreptogramina B) aumentou consideravelmente. Os genes *mef*, *msr* e *vga*, codificam proteínas que constituem as bombas de efluxo, diminuindo a concentração de antimicrobianos MLSB no interior da célula (OLIVEIRA et al., 2014; TORTORA, 2005).

A inativação ou degradação enzimática do antimicrobiano é um mecanismo resultante da produção, pela bactéria, de enzimas que degradam ou inativam o fármaco e pode ocorrer

por meio de reações de hidrólise, transferência de grupos químicos ou oxirredução. As enzimas betalactamases hidrolisam a ligação amida do anel betalactâmico, local onde esses antimicrobianos ligam-se às PBPs. Bactérias Gram-negativas e Gram-positivas podem produzir diversos tipos de betalactamases. As betalactamases de espectro estendido (ESBLs) medeiam à resistência a todas as penicilinas e cefalosporinas (BAPTISTA, 2013).

A formação de biofilme, produzida por algumas bactérias, pode dificultar a entrada de antimicrobianos na célula. *Pseudomonas* spp. e outras bactérias gram-negativas são grandes formadoras de biofilmes e possuem maior capacidade de resistir a terapias antimicrobianas e, por isso, são de difícil eliminação (MARSH, 2004).

Uma vez adquirida, a resistência aos antimicrobianos tende a se disseminar no ambiente de forma bastante eficaz, devido à alta taxa de reprodução das bactérias em curto período de tempo. No entanto, cabe ressaltar que a resistência varia para cada microrganismo de acordo com a classe e o gênero. Muitas bactérias, por exemplo, ainda são previsivelmente suscetíveis aos antimicrobianos, como *Brucella* spp. e *Clamydia* spp., enquanto outros desenvolvem rapidamente mecanismos de resistência contra até mesmo novos antimicrobianos como *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp., *Streptococcus pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*. Sendo, este último capaz de se adaptar mais facilmente a diversas circunstâncias ambientais, associados a infecções com elevado perigo de vida, tanto para os homens, quanto aos animais (BOOTHE, 2006; TORTORA, 2005).

Dados internacionais revelam níveis alarmantes de resistência antimicrobiana em países de todos os níveis de renda. Em alguns países membros da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE), cerca de 35% das infecções humanas comuns são causadas por bactérias resistentes aos medicamentos atualmente disponíveis. Em países de baixa e média renda, as taxas de resistência chegam até a 90%. Mais de 1/3 dos países que forneceram dados à OMS em 2017 relataram resistência generalizada a patógenos comuns (ANVISA, 2022). Considerando que vivemos em um contexto onde os seres vivos influenciam e são influenciados pelo ambiente que coexistem, uma ressignificação de saúde torna-se necessária, a fim de reforça que a resistência antimicrobiana precisa ser combatida urgentemente.

2.4. Saúde Única

A Saúde Única representa uma abordagem colaborativa, multissetorial e transdisciplinar, que atuanas esferas local, regional, nacional e global, com o intuito de alcançar melhores resultados de saúde pautados na relação existente entre os seres humanos, animais e ambiente (OHC, 2020).

Originário do inglês *One Health*, entrou em evidência a partir de 2004, em um simpósio na cidade de Nova Iorque realizado pela organização não-governamental *Wild Life Conservation Society*, que reuniu especialistas em saúde humana e animal de vários países para discutir o estudo integrado de zoonoses. No entanto, embora o termo Saúde Única seja recente, o conceito existe desde o século V a.C., época em que Hipócrates defendia a ideia de que a saúde pública estava ligada a um ambiente saudável (KAHN, 2016).

Atualmente, algumas estratégias vêm sendo desenvolvidas em todo o mundo, com o objetivo de disseminar o conceito de uma saúde global. Dentre essas ações destaca-se a

resolução da Assembleia Mundial da Saúde (WHA), intitulada ‘‘Plano de Ação Global sobre Resistência Antimicrobiana’’, em uma perspectiva de Saúde Única (*One Health*), que abrange a indissociabilidade da saúde humana, animal e ambiental (WHO, 2015). No Brasil, destaca-se o Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no Âmbito da Saúde Única 2018-2022 (PAN-BR), que visa fortalecer as ações de monitoramento da resistência aos antimicrobianos no país, dentre elas a otimização do uso racional de antimicrobianos na saúde humana e animal, bem como no setor agropecuário (BRASIL, 2018).

Nesse sentido, o conceito de Saúde Única é utilizado com grandes perspectivas frente ao controle da resistência antimicrobiana. Sabe-se que o uso inadequado de antimicrobianos para o tratamento de infecções (no homem e nos animais) intensifica a resistência antimicrobiana. Além disso, a produção animal intensiva, principalmente a produção avícola é reconhecida como fonte potencial de determinantes de resistência no ambiente, onde a rápida interação gênica entre as microbiotas intra e interespécificas favorecem a disseminação de determinantes de resistência.

2.5. Microbiota Gastrointestinal de Aves

Ao nascer, o trato gastrointestinal das aves é praticamente isento de microrganismos e a microbiota é formada por meio da ingestão alimentar, ou por contato com o ambiente. O intestino delgado é colonizado na segunda semana de vida e devido a esses fatores a composição da microbiota gastrointestinal de frangos é descrita na literatura com base na microbiota presente em aves adultas, com idade de 20 semanas ou mais, uma vez que a microbiota gastrointestinal de aves jovens é altamente variável (RYCHLIK, 2022; VIDENSKA, 2014).

As estruturas que compõem o trato gastrointestinal das aves compreendem a cavidade oral, esôfago, inglúvio, proventrículo, moela, intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) e intestino grosso (cecos, colón e cloaca) (BOLELI et al., 2008). No proventrículo e na moela ocorre o predomínio de lactobacilos em detrimento a outras espécies. Tal fato pode estar associado à tolerância dessas bactérias em relação ao pH altamente ácido e, embora seja menos comum, bactérias do filo Proteobacteria também são encontradas nessa região do trato digestório (VIDENSKA et al., 2013).

A microbiota intestinal varia ao longo dos intestinos, no entanto a composição encontrada no duodeno, jejuno e ílio são bastante semelhantes. As bactérias que colonizam o intestino delgado pertencem, principalmente ao filo Firmicutes, dentre elas *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Tricibacter* e *Clostridium*. Também são encontradas *Escherichia coli* e *Helicobacter* pertencentes ao filo Proteobacteria (KOLLARCIKOVA et al., 2019).

As partes mais distais do trato intestinal, como ceco e cólon, apresentam maior diversidade microbiana. No ceco predominam bactérias dos filos Firmicutes e Bacteroidetes, seguidos dos filos Actinobacteria e Proteobacteria, menos abundantes (CANDELA et. al., 2004).

O cólon de aves na fase adulta mede cerca de 10 cm de comprimento, um tamanho considerado relativamente curto. A maior parte do conteúdo intestinal das aves passa do intestino delgado para o cólon, com posterior excreção. No entanto, uma pequena quantidade

desse conteúdo passa para o ceco, onde é fermentado por aproximadamente 12h e depois segue para o cólon para ser excretado. As diferentes vias das excretas das aves nos fornece indícios sobre a composição microbiana do cólon, que pode ser similar à microbiota ileal ou à microbiota ilial e cecal, caso o conteúdo intestinal seja submetido ao processo de fermentação no ceco (RYCHLIK, 2022; SVIHUS et al., 2013).

A composição da microbiota intestinal das aves pode ser afetada por diferentes fatores como a composição da dieta, ambiente e práticas de manejo. No sistema de produção orgânico, as aves ao nascerem permanecem em contato com as aves progenitoras e com isso adquirem a microbiota proveniente dos adultos, garantindo-lhes maior proteção. No sistema de produção convencional esse contato é inexistente e resulta em uma composição bacteriana diferente da descrita anteriormente para aves criadas em ambientes naturais. Logo na primeira semana de vida o ceco das aves é colonizado por *E. coli*. Durante a segunda semana ocorre a prevalência de bactérias gram-positivas pertencentes ao filo Firmicutes, especificamente das famílias *Lachnospiraceae* e *Ruminococcaceae*, respectivamente, e posteriormente, representantes dos filos Firmicutes (*Veillonellaceae*) e Bacteroidetes (PROIETTI, 2006). Cabe ressaltar que os sistemas avícolas convencionais, geram grande quantidade de resíduos com carga microbiológica que são incorporados na cama de aviário, posteriormente utilizados como fertilizantes orgânicos em sistemas agrícolas.

2.6. Uso de Cama de Aviário como Fertilizante Orgânico

A prática de aplicação de resíduos animais para fornecer nutrientes às culturas e promover os atributos físicos e químicos do solo é bastante comum. Tal fato tem mostrado associação com a crescente demanda da produção avícola brasileira e a consequente facilidade de acesso à cama de aviário proveniente desse tipo de produção (ABPA, 2022; BLUM et al., 2006).

A cama de aviário é constituída por material orgânico absorvente, o qual durante o ciclo de criação das aves incorpora excretas, secreções, penas e restos de alimentos. Os insumos utilizados para essa finalidade geralmente compreendem subprodutos agroindustriais como casca de café, amendoim e vagem de feijão, sabugo de milho triturado, maravalha, serragem, feno de gramíneas, dentre outros. Esses materiais, quando bem manejados, minimizam as oscilações de temperatura, o excesso de umidade e promovem maior conforto e bemestar animal (VIEIRA, 2011). Com o intuito de diminuir os custos de produção e o impacto ambiental, um manejo comumente utilizado pelos criadores de frangos é a reutilização da cama de aviário por um período variável de cinco até seis lotes consecutivos, o que favorece o aumento da quantidade de nutrientes presentes no material (CARVALHO et al., 2011).

A composição da cama e resíduos de aves apresenta média de 14 % de proteína bruta, 16 % de fibra bruta, 13 % de matéria mineral e 0,41 % de extrato etéreo, constituídos predominantemente de água e carbono (C), com menores quantidades de nitrogênio (N) e fósforo (P) e traços de cloro (Cl), cálcio (Ca), magnésio (Mg), sódio (Na), manganês (Mn), ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn) e arsênico (As). Em alguns casos, a concentração de Ca pode ser alterada, uma vez que é comum o emprego de CaO e Ca (OH)₂ para esterilizar a cama entre lotes de frangos (VAZ, 2022; FIORENTIN, 2005; KELLEHER, 2002). No

entanto, devido ao potencial de aporte nutricional, o principal destino da cama de aviário tornou-se a utilização como adubo orgânico em solos agrícolas. Uma tonelada de cama de aviário fornece em média 30 Kg de nitrogênio (N), 24 Kg de óxido de fósforo (P_2O_5) e 36 kg de óxido de potássio (K_2O) (CASSOL et al., 2012).

Apesar dos benefícios mencionados em relação à utilização da cama de aviário como adubo orgânico, se manejada de forma inadequada, pode atuar como fonte de bactérias resistentes, resíduos de antimicrobianos e genes de resistência a antimicrobianos no ambiente. A Lei nº12.305 de 02 de agosto de 2010, que delibera sobre a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), classifica a cama de aviário, como um resíduo de alto risco à saúde pública e a qualidade ambiental devido seu potencial de patogenicidade (BRASIL, 2010).

A composição da população bacteriana da cama de aves é, em geral, muito aproximada à composição da biota fisiológica do íleo de frangos, representada por bactérias pertencentes às famílias *Peptostreptococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Erysipelotrichaceae* e *Clostridiaceae* (KOLLARCIKOVA, et. al., 2019; FIORENTIN, 2005). No entanto, essa composição pode variar de acordo com a administração de antimicrobianos na saúde animal. Muitas bactérias, patogênicas/não-patogênicas, presentes nas fezes dos frangos apresentam resistência aos antimicrobianos usualmente empregados em sistemas de produção. Além disso, cerca de 80% desses medicamentos são excretadas como substância inalterada ou como metabólitos que ainda podem estar ativos. Quando a cama de aviário é aplicada no solo sem um tratamento prévio adequado, pode se tornar fonte de resíduos de antimicrobianos, bactérias resistentes a antimicrobianos, genes de resistência a antimicrobianos e contaminar o ambiente (LADIRAT et al., 2013; HEUER et al., 2007; SARMAH et al., 2006).

2.7. Compostagem de Resíduos Animais

O aumento expressivo da atividade agropecuária brasileira nos últimos anos tem como consequência à geração de grande quantidade de resíduos animais (SCHNEIDER et al., 2012). A utilização desses resíduos em sistemas agrícolas como fertilizante orgânico é bastante promissora, pois aumenta o teor de matéria orgânica no solo, de maneira a melhorar suas propriedades físicas e químicas e intensificar a produtividade das culturas (SOUZA; RODRIGUES, 2017). Essa prática está em consonância com a Lei Federal nº 10.831 de 23 de dezembro de 2003, que preconiza a reciclagem de resíduos orgânicos com o intuito de reduzir ao mínimo o emprego de recursos não-renováveis em sistemas agrícolas orgânicos (BRASIL, 2003). No entanto, caso esses materiais não sejam manejados adequadamente, podem atuar como fonte de contaminação microbiológica, além de favorecer a disseminação de determinantes de resistência antimicrobiana no ambiente e resultar em risco à saúde pública (KYAKUWAIRE et al., 2019).

Uma alternativa de manejo que pode ocasionar na redução ou eliminação de patógenos e compostos indesejáveis dos resíduos animais é a compostagem, um processo natural de decomposição de matéria orgânica. A Legislação Ambiental Brasileira, através da Resolução CONAMA nº481 de 03 de outubro de 2017, define compostagem como um processo de decomposição biológica controlada de resíduos orgânicos, efetuado por uma população

diversificada de organismos, em condições aeróbias e termofílicas, resultando em material estabilizado, com propriedades e características completamente diferentes daqueles que lhe deram origem, podendo ser caracterizado como fertilizante orgânico, condicionador de solo e outros produtos de uso agrícola (BRASIL, 2017).

O processo de compostagem pode ser realizado de diferentes formas, como: i-aeração forçada, onde a matéria-prima é amontoada na forma de leira sobre um sistema que permita a circulação de ar entre o material sem a necessidade de revolvimentos mecânicos; ii - reatores biológicos, em que a matéria-prima é acondicionada dentro de um reator biológico, possibilitando o controle de parâmetros como temperatura, umidade, aeração, entre outros, sem sofrer influência do ambiente externo e iii - sistema “windrow” ou “leiras com revolvimento”. É um sistema de uso recorrente no Brasil e consiste no amontoamento da matéria-prima sobre o solo na forma de leiras com dimensões previamente estipuladas, sendo realizados procedimentos de reviramento e umidificação, quando necessário, até o fim do processo. Neste método o tempo total de compostagem é de 90 a 120 dias, em condições ideais (MATOS, 2014; BRASIL, 2011).

A compostagem tem início à temperatura ambiente (fase criófila), com colonização primária de bactérias e fungos produtores de substâncias ácidas que, através de reações metabólicas, aumentam gradualmente a temperatura do composto em intervalos de 25-35°C (fase mesófila). Muitos resíduos orgânicos, em especial estercos, já são ricos em microrganismos e permitem o início imediato da compostagem. Com o aumento consecutivo da temperatura para níveis acima de 40 °C, há mudança para uma população de microrganismos termófilos. A fase termofílica ocorre em torno de 40-45 °C, podendo atingir intervalos de maior amplitude 60-65 °C. Na fase termofílica a maior parte da matéria orgânica é degradada e consequentemente maior parte do oxigênio é consumido. Com isso, a atividade microbiana diminui assim como a temperatura, dando início a fase de maturação do composto produzindo substâncias semelhantes a húmus. Agora, com o composto já bioestabilizado, retorna para a fase mesófila com posterior retomada da fase criófila. O controle da temperatura ao longo do processo pode ser realizado pela aeração, umidade e disponibilidade de nutrientes. Além da temperatura, fatores como atuação bactericida da amônia liberada ao longo do processo, ação de antibióticos produzidos por alguns microrganismos e a competição microbiana, podem eliminar microrganismos patogênicos e resíduos de substâncias químicas do composto (MATOS, 2014; KIEHL, 2012; KIEHL, 2001; COOPERBAND, 2000;).

Embora a compostagem seja recomendada como uma técnica de manejo apropriada para garantir a segurança do produto final, ainda não há um consenso sobre seu efeito na microbiota intestinal de aves e determinantes de resistência presentes em camas de aviário, que tem variado em função da origem do material e das condições de condução ao longo do processo. Puño-Sarmiento e colaboradores, 2014, desenvolveram um estudo que buscou detectar cepas de *Escherichia coli* em fertilizantes orgânicos provenientes de resíduos de aves após compostagem. Esses autores demonstraram que ocorreu uma diminuição significativa do número de cepas ao compararem o material não compostado e compostado, cerca de 23 % (15/64). No entanto, 13 % das cepas encontradas (2/15), apresentaram resistência antimicrobiana a amoxicilina, tetraciclina e sulfonamidas, indicando risco de transferência de genes de resistência para *E. coli* humana. Outro estudo, desenvolvido por

Peng e colaboradores, 2015, evidenciou o aumento de genes de resistência a tetraciclina em solos aráveis que foram sujeitos a aplicação de esterco suíno compostado e fresco em um período de seis anos. Agostinho, 2018, detectou alta frequência de genes de resistência a tetraciclina, betalactâmicos e quinolonas em cepas de *E. coli* isoladas de fertilizante orgânico de aves, embora esses antimicrobianos sejam proibidos como promotores de crescimento no Brasil (BRASIL 2003, 2009).

Tais estudos evidenciam que a contaminação por bactérias patogênicas/não patogênicas de resíduos animais, bem como o uso indiscriminado de antimicrobianos na saúde animal, podem favorecer a disseminação e a persistência de genes de resistência aos antimicrobianos no ambiente. O que resalta os efeitos variados da compostagem nos diferentes contaminantes presentes nesses resíduos e reforça a importância de estudos que avaliem o potencial da aplicação da compostagem na obtenção de um composto final devidamente sanitizado.

2.8. Ferramentas Moleculares para Estudos de Ecologia Microbiana

Considerando a importância da composição bacteriana de camas de aviário utilizadas como adubo orgânico em solos agrícolas, bem como a diversidade genética apresentada por estes microrganismos que enriquecem o resistoma dos solos, torna-se necessária uma abordagem que forneça informações mais detalhadas da diversidade bacteriana desses materiais com técnicas independentes de cultivo. Dentre essas técnicas destacam-se as análises moleculares baseadas em ácidos nucléicos.

Desde a década de 70 foram desenvolvidas tecnologias de sequenciamento do material genético, como o método de Shotgun e Sanger. No entanto, foi a partir do final da década de 90 que o Sequenciamento de Nova Geração (NGS) começou a surgir e substituir as tecnologias anteriores (FADIJI; BABALOLA, 2020; GU et al., 2019).

A metagenômica ou NGS consiste no estudo da diversidade, taxonomia e potencial funcional de uma comunidade microbiana que coexiste em um ambiente (GU et al., 2019). O objetivo desta técnica é construir bibliotecas metagenômicas, contendo o material genético de todos, ou parte, dos microrganismos do ambiente analisado (LAUDADIO et al., 2019). Também é possível diferenciar os microrganismos em uma amostra, utilizando abordagens mais direcionadas como a amplificação prévia de regiões conservadas, por meio do RNA ribossomal 16s de bactérias, por exemplo (WEI, et al., 2019). As etapas do método consistem na coleta do material, extração de RNA / DNA, estratégias de otimização, sequenciamento de alto rendimento e análise bioinformática (GU et al., 2019).

Devido ao potencial e as enormes oportunidades apresentadas pela metagenômica, comunidades microbianas dos mais variados habitats têm sido conhecidas e novas possibilidades de aplicações práticas para a saúde humana, animal e ambiental têm se tornado uma realidade e um grande avanço para a Biotecnologia Moderna (WEI et al., 2019).

2.9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADJAFRE, G. L.; VIEIRA, D. F. M.; COSTA, M. R.; LEITÃO, A. M. F.; MEDEIROS, M. S. Introdução e classificação dos antimicrobianos. **Ebook Antimicrobianos: revisão geral para graduandos e generalistas**, Ed Unichristus, cap1 p. 16-22, 2019.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA) 2022 <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2021/confira-dados-mundiais-sobre-resistencia-microbiana> Acesso novembro de 2022.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução - RDC N° 20, de 5 de maio de 2011.

AGOSTINHO, J. M. A. Caracterização e padrões de resistência antimicrobiana de *Escherichia Coli* isoladas da cama de frango após tratamento de compostagem. Tese. **Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, UNESP**, Jaboticabal, SP, 2018.

ANDREOTTI, R.; NICODEMO, M. L. F. Uso de antimicrobianos na produção de bovinos e desenvolvimento de resistência **EMBRAPA**, Campo Grande, MS, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA). 2022. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/mercado-mundial>> Acesso: agosto de 2022.

BAPTISTA, M.G.F.M. Mecanismos de Resistência aos Antibióticos. 2013. 51 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, **Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia**, Lisboa, 2013.

BEN, Y.; FU, C.; HU, M.; LIU, L.; WONG, M. H.; ZHENG,C. Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review. **Environmental Research**, v. 169, p. 483 – 493, 2019.

BLAIR, J. M. A; WEBBER, M. A.; BAYLAY, A. J.; OGBOLU, D. O.; PIDDOCK, L J. V. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nat Ver Microbiol** 13: 42-51, 2014.

BLUM, L. E. B.; AMARANTE, C.V.T.; GÜTTLER, G.; MACEDO, A. F.; KOTHE, D. M.; SIMMLER, A. O.; PRADO, G.; GUIMARÃES, L.S. Produção de moranga e pepino em solo com incorporação de cama aviária e casca de pinus. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 4, p. 627–631, 2006.

BOOTHE, D. M. Principles of antimicrobial therapy. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 36, n. 5, p. 1003–1047, 2006.

BRASIL. Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, Seção 1, p.8, 2003.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 26 de 09 de julho de 2009. Regulamento técnico para a fabricação, o controle de qualidade, a comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Seção 1. 2009.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Política Nacional de Resíduos Sólidos, Lei nº 12305, de 02 de agosto de 2010. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, DF, Seção 1, 2010.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 481, de 03 de outubro de 2017. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Seção 1. 2017.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Plano de ação nacional de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos no âmbito da saúde única 2018-2022 (PAN-BR)**. Dezembro de 2018. Disponível em:<<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/dezembro/20/af-pan-br-17dez18-20x28-csa.pdf>> Acesso em 05 de agosto de 2021.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 14 de 17 de maio de 2012. Regulamento para a importação, fabricação e uso das substâncias antimicrobianas espiramicina e eritromicina com finalidade de aditivo zootécnico na alimentação animal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Seção 1. 2012.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 45 de 22 de dezembro de 2016. Regulamento para proibição, importação e fabricação da substância antimicrobiana sulfato de colistina, com a finalidade de aditivo zootécnico na alimentação animal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Seção 1. 2016.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 46 de 06 de outubro de 2011. Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção, listas de substâncias e práticas permitidas para uso nos Sistemas Orgânicos de Produção. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Seção 1. 2011.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 52 de 15 de março de 2021. Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção, listas de substâncias e práticas para o uso nos Sistemas Orgânicos de Produção. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Seção 1. 2021.

BRITO, M. A., CORDEIRO, B. C. Necessidade de Novos Antibióticos. **Jornal Brasileiro de Patologia Med Lab**, v. 48, n. 4, p. 247-249, 2012.

BURKI, T. K. Tackling antimicrobial resistance in food-producing animals. **The Lancet**, v. 7, n. 1, p. 93-94, 2018

CADENA, M.; DURSO, L. M; MILLER, D. N.; WALDRIP, H. M.; CASTLEBERRY, B. L.; DRIJBER, R. A.; WORTMANN, C. Tetracycline and Sulfonamide Antibiotic Resistance Genes in Soils From Nebraska Organic Farming Operations. **Frontiers in Microbiology**, 2018.

CANDELA, M.; VITALI, B.; MATTEUZZI, D.; BRIGIDI, P. Evaluation of the rrn operon copy number in *Bifidobacterium* using real-time PCR. **Lett. Appl. Microbiol.** 38, 229-232, 2004.

CARVALHO T.M.R.; MOURA, D. J.; SOUZA, Z.M.; SOUZA, G.S. E BUENO, L.G.F. Qualidade da cama e do ar em diferentes condições de alojamento de frangos de corte. **Pesq. Agropec. bras.**, Brasília, v.46, n.4, p.351-361, 2011.

CASSOL, P. C.; COSTA, A. C.; CIPRANDI, O.; PANDOLFO, C. M.; ERNANI, P. R.. Disponibilidade de Macronutrientes e Rendimento de Milho em Latossolo Fertilizado com Dejeto de Suíno. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.36, n.6, p.1911-1923, 2012.

CHAMBERS, H. F.; DELEO, F. R.; Waves of Resistance: *Staphylococcus aureus* in the Antibiotic Era. **Nat Rev Microbiol**, v. 7, n. 9, p. 629-641, 2009.

COOPERBAND, L. R. Composting: Art and Science of Organic Waste Conversion. **Laboratory Medicine**, v. 31, n. JUNE, p. 283–290, 2000.

CRUZ, R.M.; TEIXEIRA, J.L.P.; SOUZA, M.M.S.; SILVA, R.F.; GOMIDES, J.N. Investigação dos medicamentos comercializados nas drogarias e a conduta quanto à política de descarte. **Anais do Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG**, v. 3, 2016.

FADIJI, A. E., BABALOLA, O. O. Metagenomics methods for the study of plant-associated microbial communities: A review. **J Microbiol Methods**. 170:105860, 2020.

FAO. Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. **Monitoring Global Progress on Addressing Antimicrobial Resistance. Analysis report of the second round of results of AMR country self-assessment survey**, 2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/antimicrobial-resistance/resources/database/es/>> Acesso em 15 de outubro de 2020.

FIORENTIN, L. Reutilização da cama na criação de frangos de corte e as implicações de ordem bacteriológica na saúde humana e animal. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, **Embrapa Suínos e Aves**. Documentos, 94, p.23, 2005.

GUARDABASSI, L.; KRUSE, H. Princípios da Utilização Prudente e racional de antimicrobianos em animais. **Guia de antimicrobianos em Veterinária** p. 17-30, 2010.

GU, W., MILLER, S., CHIU, C. Y. Clinical Metagenomic Next-Generation Sequencing for Pathogen Detection. **Annu Rev Pathol.** 24; 14: 319-338, 2019.

HEUER, H. & SMALLA, K. Manure and sulfadiazine synergistically increased bacterial antibiotic resistance in soil over at least two months. **Environmental Microbiology**, v. 9, n. 3, p. 657-666, 2007.

HEUER, H., SOLEHATI, Q., ZIMMERLING, U., KLEINEIDAM, K., SCHLOTER, M., MÜLLER, T., FOCKS, A., THIELE-BRUHN, S., SMALLA, K. Accumulation of sulfonamide resistance genes in arable soils due to repeated application of manure containing sulfadiazine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 7, p. 2527-2530, 2011.

RYCHLIK, I. Composition and Function of Chicken Gut Microbiota. **Jornal Animals**, 10, 103, 2020.

KAHN, L. H. One Health and the Politics of Antimicrobial Resistance Emerging Infectious Diseases **Baltimore: John Hopkins University Press**. p. 200, 2016.

KIEHL, J. C. Produção de compostoorgânico e vermicomposto. **Informe Agropecuário**. v.22, n.212, p.40-52, 2001.

KIEHL, E. J. **Manual de compostagem: maturação e qualidade do composto**. Piracicaba. p.171, 2012.

KIRCHHELLE, C. Pyrrhic progress antibiotics in Anglo-American food production 1935–2013. **Newark: Rutgers University Press**. 2020.

KOLLARCIKOVA, M.; KUBASOVA, T.; KARASOVA, D.; CRHANOVA, M.; CEJKOVA, D.; SISAK, F.; RYCHLIK, I. Use of 16S rRNA gene sequencing for prediction of new opportunistic pathogens in chicken ileal and cecal microbiota. **Poultry Science**, v. 98, n. 6, p. 2347-2353, 2019.

KOZHEVIN, P. A; VINOGRADOVA, K. A; BULGAKOVA, B. G. The soil antibiotic resistome **Ecol** 68: 53-59, 2013.

KUTSZEPA, D. O uso indiscriminado de antibióticos na bovino cultura leiteira: uma análise dos riscos para o meio ambiente e a saúde humana. **Fórum Ambiental da Alta Paulista.**ANAP, 4, p.1-9, 2009.

KYAKUWAIRE, M., OLUPOT, G., AMODING, A., NKEDI-KIZZA, P., BASAMBA, T. A. How Safe is Chicken Litter for Land Application as an Organic Fertilizer? A Review **International journal of environmental research and public health**, v. 16, n. 19, p. 3521, 2019.

LADIRAT, S.E.; SCHOLS H. A; NAUTA, A.; SCHOTERMAN M. H. C.; KEIJSER, B. J. F.; MONTIJN, R. C.; GRUPPEN, H.; SCHUREN, F.H.J. High-throughput analysis of the impact of antibiotics on the human intestinal microbiota composition. **Journal of Microbiological Methods**. v. 92, n. 3, p. 387-397, 2013.

LAUDADIO, I., FULCI, V., STRONATI, L., CARISSIMI, C. Next-Generation Metagenomics: Methodological Challenges and Opportunities. **OMICS**. 23(7):327-333, 2019.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M.T. Antibiotics: therapeutic importance and perspectives for the discovery and development of new agents Review. **Quím. Nova.** n.3, p. 33, 2010.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. **Microbiologia de Brock.** 14º ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MARSH, P. D. Dental plaque as a microbial biofilm. **Caries Research**, v. 38, n.3, p. 204–211, 2004.

MATOS, A. T. **Tratamento e aproveitamento agrícola de resíduos sólidos.** Viçosa: Editora UFV, p.241, 2014.

MAYER, G. Genetic Exchange. In Microbiology and Immunology On-line, 2010. Disponível em: <<http://pathmicro.med.sc.edu/mayer/genetic%20ex.htm>> Acesso em 15 de janeiro de 2022.

MCLNTOSH, J. Antibiotic resistance: what you need to know. **Medical News Today**, 2018.

OLIVEIRA, A. L.D.; SOARES, M. M.; SANTOS, T. C. D.; SANTOS, A. Mecanismos de resistência bacteriana a antibióticos na infecção urinária. **Revista Uningá** v. 20, n. 3, 2014.

OLIVEIRA, B. A. D.; TAKETANI, N. F. A Ausência do Poder Público no Descarte Doméstico de Medicamentos. **Ensaios USF**, v. 4, n. 1, p. 25–42, 2020. Disponível em: <<https://ensaios.usf.emnuvens.com.br/ensaios/article/view/151>> Acesso em 15 de dezembro de 2021.

ONE HEALTH COMMISSION (OHC) Definitions of One Health, 2020. Disponível em: <https://www.onehealthcommission.org/en/why_one_health/what_is_one_health/> Acesso em novembro de 2022.

O'NEILL, J. Antimicrobials in agriculture and the environment: reducing unnecessary use and waste. **The Review on Antimicrobial Resistance**, 2015.

PENG, S.; WANG, Y.; ZHOU, B.; LIN, X. Science of the Total Environment Long-term application of fresh and composted manure increase tetracycline resistance in the arable soil of eastern China. **Science of the Total Environment**, The, v. 506–507, p. 279–286, 2015.

PEREIRA, A. L.; PITA, J. R. ALEXANDER FLEMING (1881-1955) Da descoberta da penicilina (1928) ao Prémio Nobel (1945). **Revista da Faculdade de Letras HISTÓRIA**. Porto, III Série, vol. 6, p. 129-151, 2005.

PUÑO-SARMIENTO, J.; GAZAL, L. E.; MEDEIROS, L. P.; NISHIO, E. K.; KOBAYASHI, R. K. T.; NAKAZATO, G. Identification of diarrheagenic *Escherichia coli* strains from avian organic fertilizers. **Int J Environ Res Public Health**. 11(9):8924-39, 2014.

SANCHEZA, H.M.; ECHEVERRIA, C.; THULSIRAJ, V.; ZIMMER-FAUST, A.; FLORES, A.; LAITZ, M.; JAY, J. A. Antibiotic Resistance in Airborne Bacteria Near Conventional and Organic Beef Cattle Farms in California, USA. **Water Air Soil Pollut.** v. 8, n.227-280, 2016.

SCHNEIDER, V. E.; PERESIN, D.; TRENTIN, A. C., BORTOLIN, T. A.; SAMBUUCHI, R. H. R. Diagnóstico dos resíduos orgânicos do setor agrossilvopastoril e agroindustriais associadas. **IPEA**, 2012.

SILVA, V. L.; DINIZ, G. C. **Microbiologia Humana** - CEAD UFJF – Juiz de Fora, MG, 2014.

SOUZA, G. H. R.; RODRIGUES, G. A. O tratamento da cama de equinos através do processo de compostagem. **Revista Interface Tecnológica**, v. 14, n. 2, p. 100-110, 2017.

SVIHUS, B.; CHOCT, M.; CLASSEN, H.L. Function and nutritional roles of the avian caeca: A review. **World Poult. Sci. J.**, 69, 249-263, 2013.

TEÓFILO, C. B.; ALBUQUERQUE, L. M.; SOUSA, L. A. F.; MEDEIROS, M. S. Microbiologia e flora humana normal. **Ebook Antimicrobianos: revisão geral para graduandos e generalistas** cap1 p. 16-22 Ed Unichristus, 2019.

TIMENETSKY, J. Antimicrobianos (antibióticos e quimioterápicos). Departamento de Microbiologia da Universidade de São Paulo. Disponível em: <<https://microbiologia.icb.usp.br/cultura-e-extensao/textos-de->>

<divulgacao/bacteriologia/bacteriologia-medica/antimicrobianos-antibioticos-e-quimioterapicos/>> Acesso em 10 de janeiro de 2022.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

VAZ, C. S. L. "Manejo da cama de frango." In: CONFERÊNCIA FACTA WPSA-BRASIL, 2022, Evento híbrido. Anais: avicultura o futuro é agora. Campinas: **FACTA**. Edição digital, 2022.

VENTOLA, C. L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. **Pharmacy and Therapeutics**, v. 40, n. 4, p. 277, 2015

VIDENSKA, P.; SEDLAR, K.; LUKAC, M.; FALDYNOVA, M.; GERZOVA, L.; CEJKOVA, D.; SISAK, F.; RYCHLIK, I. Succession and replacement of bacterial populations in the caecum of egg laying hens over their whole life. **Plos One**, 9, 2014.

VIDENSKA, P.; FALDYNOVA, M.; JUNICOVA, H.; BABAK, V.; SISAK, F.; HAVLICKOVA, H.; RYCHLIK, I. Chicken faecal microbiota and disturbances induced by single or repeated therapy with tetracycline and streptomycin. **BMC Vet. Res.**, 9, 30, 2013.

VIEIRA, M. F. A. Caracterização e análise da qualidade sanitária de camas de frango de diferentes materiais reutilizados sequencialmente. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) Universidade Federal de Viçosa**, 2011.

WALSH, C. Antibiotics: actions, origins, resistance. **American Society for Microbiology**. p. 3, 2003.

WARRISS, P. D.; WILKINS, L. J.; BROWN, S. N.; PHILLIPS, A. J.; ALLEN, V. Defaecation and weight of the gastrointestinal tract contents after feed and water withdrawal in broilers. **Br. Poult. Sci.**, 45, 61-66, 2004.

WEI, F. WU, K., HU, Y., HUANG, G., NIE, Y., YAN, L. Conservation metagenomics: a new branch of conservation biology. **Science China. Life sciences**. v. 62, 2. 2019.

WHO - 2021 Antibacterial agents in clinical and preclinical development: an overview and analysis 2022.

3. CAPÍTULO I

COMPOSIÇÃO DA COMUNIDADE BACTERIANA EM CAMA DE AVIÁRIO DE SISTEMAS ORGÂNICO E CONVENCIONAL ANTES E APÓS COMPOSTAGEM

3.1. RESUMO

A produção avícola consiste em uma atividade relevante do agronegócio brasileiro. O aumento da produção de aves tem por consequência a geração de grandes quantidades de resíduos, dentre eles a cama de aviário. Esse material, após compostagem, é aplicado como fertilizante orgânico em solos agrícolas, devido ao alto potencial de aporte nutricional e incremento de matéria orgânica nesses ambientes. No entanto, diferentes formas de manejo nos sistemas de produção de aves podem alterar a comunidade bacteriana presente nos resíduos animais e influenciar na disseminação de determinantes de resistência e bactérias patogênicas nos diferentes reservatórios ambientais. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar a composição, estrutura, interações e diversidades alfa e beta da comunidade bacteriana em camas de aviário, provenientes do sistema de produção orgânico e convencional, antes e após a compostagem. Um experimento de compostagem com camas de aviário do sistema de produção orgânico e convencional foi conduzido por 125 dias. A temperatura foi monitorada ao longo do processo. Amostras foram coletadas nos tempos 0 e 125 dias, e foram avaliados o pH, condutividade elétrica, emissões de CO₂ e de NH₃. O DNA total foi extraído e um segmento do gene 16S rDNA foi sequenciado utilizando a plataforma Illumina. As temperaturas das leiras dos compostos atingiram picos de até 67 °C, que é fundamental para a eficiência do processo. Houve uma queda das emissões de CO₂ e NH₃, indicando estabilização dos compostos. A cama de aviário orgânico (CAO) apresentou maior diversidade e complexidade de interações quando comparada a cama de aviário convencional (CAC). A diversidade em CAO diminuiu após a compostagem, no entanto, em CAC foi observado o oposto, uma maior diversidade após 125 dias. Dos 10 filos mais abundantes, Proteobacteria foi o mais representativo (53,3 %), principalmente após o processo de compostagem e, sobretudo, em CAO. Além disso, ocorreu maior proporção de ASVs (*Amplicon Sequence Variant*) classificadas como especialistas do que generalistas para ambas as camas de aviário, antes e após a compostagem, sugerindo que a forma de manejo das aves influenciou na composição da microbiota gastrointestinal e, consequentemente, dos resíduos incorporados às camas de aviários. A compostagem atuou modificando a população bacteriana presente nas camas de aviário orgânico e convencional, no entanto pode não ter sido eficiente para eliminar a maioria dos grupos de microrganismos. Nesse sentido, mais estudos sobre o conhecimento da composição bacteriana desses resíduos é relevante, uma vez que as camas de aviário são utilizadas como fertilizantes orgânicos em sistemas agrícolas e podem carrear diferentes microrganismos e determinantes de resistência para esses ambientes.

Palavras-chave: Antimicrobianos. Compostagem. Sistemas Agrícolas. Gene 16S rRNA. Comunidade Microbiana.

3.2. ABSTRACT

Chicken production has been a relevant activity in Brazilian agribusiness. The increasement in chicken production has resulted on large waste amounts incorporated into poultry litter, covering the floor of the production site. After composting, this material as an organic fertilizer for agricultural soils, due to the high nutritional contribution potential, as well as organic matter increasement at these environments, has been applied. However, different ways of management in poultry production systems may modify the bacterial community in animal waste supporting the dissemination of resistance determinants and pathogenic bacteria at different environmental reservoirs. Therefore, this study aimed evaluating the composition, structure, interactions, alpha and beta diversities of the community, in both fresh and composted poultry litters from organic and conventional production systems. The composition of the bacterial community in poultry litters from organic and conventional productions before (0 days) and at (125 days) composting, classified into ASVs (Amplicon Sequence Variant) was estimated. Organic poultry litter (OPL) presented greater bacterial diversity and interactions complexity, when compared to the conventional (CPL) one. After composting, bacterial diversity decreased in OPL, however CPL presented greater diversity at 125 days. From the 10 most abundant phyla, Proteobacteria showed to be the most representative (53.3%), mainly after the composting process, and above all, in CPL. In addition, a higher ASVs rate, classified as specialists than generalists for both poultry litters, before and after composting, suggested that the way poultry was managed, influenced the gastrointestinal microbiota composition and, consequently the waste incorporated into the poultry litter. The bacterial community from organic and conventional poultry litters was modified by composting, however it might not have been efficient eliminating all microorganisms groups. Since poultry litter has been used as organic fertilizer in agricultural systems and, may carry resistance determinants, as well as different microorganisms to these environments, further studies on the knowledge of the bacterial composition from these residues, are needed.

Keywords: Antimicrobials. Composting. Agricultural Systems. 16S rRNA gene. Microbial Community.

3.3. INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira atingiu patamares de eficiência que a transformaram em referência mundial. Atualmente, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de aves e o primeiro em exportação, cerca de 4.610 milhões de toneladas por ano (ABPA, 2022). Diante dos altos índices de produtividade no setor avícola, a preocupação em relação ao uso de antimicrobianos em sistemas de produção animal tem sido crescente (ABPA, 2022). Na produção convencional, os animais são criados em áreas de confinamento e a utilização de antimicrobianos é realizada para tratar e prevenir doenças e como promotores de crescimento, a fim de assegurar a eficiência da cadeia produtiva (RONQUILLO; HERNANDEZ, 2017). No sistema orgânico, o uso desses fármacos é controlado, sendo permitido apenas em casos de doenças ou ferimentos em que o uso das substâncias permitidas não esteja surtindo efeito e o animal apresente sofrimento ou risco de morte (BRASIL, 2011).

Embora a terapia antimicrobiana melhore o desempenho animal e otimize a produção, o uso dessas substâncias, principalmente em concentrações subinibitórias, submete a microbiota das aves à forte pressão de seleção e favorece a emergência e disseminação de bactérias resistentes, genes de resistência a antimicrobianos e resíduos de antimicrobianos no ambiente. Tal fato reflete diretamente na saúde das aves, pois interfere na homeostasia gastrointestinal e na defesa do organismo contra patógenos oportunistas (KOGUT, 2019).

Outro fator a ser considerado pela expressiva produtividade avícola é o aumento na geração de resíduos, principalmente a cama de aviário, que quando destinada de forma inadequada, pode poluir o ambiente. A utilização sustentável da cama de aviário é priorizada por lei e a aplicação desse material na forma de adubo orgânico em sistemas agrícolas é amplamente difundida, pois possui altas concentrações mineralógicas que melhoram as condições físicas e químicas dos solos (BRASIL, 2018; MENEZES, et. al. 2003). No entanto, apesar de benéfica, a composição da cama de frango pode apresentar e dar condições de desenvolvimento para muitas bactérias patogênicas. Sabe-se que a reutilização da cama de aves por vários lotes seguidos em sistemas de produção intensiva é uma prática recorrente e com isso a incorporação de excretas e determinantes de resistência ao material inicial torna-se acumulativa (FUKAYAMA, 2008). Uma vez no ambiente, sem tratamento prévio adequado, a cama de aviário torna-se um veículo de disseminação de bactérias patogênicas, além de afetar as comunidades bacterianas dos diferentes reservatórios ambientais a nível estrutural e funcional, favorecendo a intensificação da resistência antimicrobiana (BURKI, 2018; CHEN et al., 2018; O'NEILL, 2015; SELVAM et al., 2012).

Para garantir a segurança da cama de aviário em sistemas agrícolas, técnicas de tratamento destes resíduos devem ser implantadas. Nesse sentido, a compostagem tem se mostrado uma prática bastante promissora, pois apresenta eficiência na degradação de substâncias tóxicas e redução da população de microrganismos potencialmente patogênicos presente nos resíduos. O produto final é um composto de matéria orgânica parcialmente estabilizada, elementos minerais e substâncias húmicas, que pode ser utilizado no solo promovendo condições favoráveis a agricultura (SÁ et al., 2014). Ademais, é um procedimento ambientalmente correto, em consonância com as Leis Federais 10.831 de 23 de

dezembro de 2003 e 12.305 de 2 de agosto de 2010, que preconizam a reciclagem de resíduos orgânicos com o intuito de reduzir ao mínimo o emprego de recursos não-renováveis em sistemas agrícolas (BRASIL 2010;BRASIL, 2003).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a composição da comunidade bacteriana em camas de aviário frescas e compostadas, provenientes do sistema de produção orgânico e convencional.

3.4. MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1. Condução da Compostagem

A compostagem foi realizada com camas de aviário provenientes de duas propriedades agrícolas com sistemas de produção distintos, orgânico e convencional, localizadas respectivamente nos municípios de São José do Vale do Rio Preto ($22^{\circ}09' S$ e $42^{\circ}55' W$) e Nova Friburgo ($22^{\circ}17' S$ e $42^{\circ}32' W$), ambos pertencentes à região Serrana do estado do Rio de Janeiro, Brasil.

No sistema de produção orgânico as aves são criadas em espaços semi-abertos, com locais externos divididos com piquetes que permitem o pastejo durante parte do dia, como preconiza a prática de manejo orgânico em relação ao ambiente de criação. As aves são criadas com a finalidade de postura, corte e venda de ambos os produtos. A cama de aviário nesses ambientes é trocada a cada 60 dias, sem sobreposição de lotes. A cama fornecida para este estudo foi proveniente dos criadouros de aves de corte. O último registro de uso de antimicrobianos nas aves, especificamente nas galinhas poedeiras, ocorreu em 2017 em decorrência de problemas respiratórios.

No sistema de produção convencional as aves são criadas em galpões com controle de ventilação e temperatura. O produtor utiliza os antimicrobianos Enrofloxacina (Fluoroquinolona), Doxciclina (Tetraciclina), Sulfanoxalina (Sulfonamida) e Gentamicina (Aminoglicosídeo) de forma terapêutica e realiza o rodízio dos antimicrobianos Enramicina (Ionóforo), Avilamicina (Ortosomicina) e Virginiamicina (Estreptogramina) como promotores de crescimento.

O material foi transportado em 31 de outubro de 2019 para o Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA), conhecido por “Fazendinha Agroecológica Km 47”. O SIPA está localizado no município de Seropédica, região metropolitana do estado do Rio de Janeiro, entre as coordenadas $22^{\circ}46' S$ e $43^{\circ}41' W$ (DIAS, 2007).

Sete dias após, em 07 de novembro de 2019, foram confeccionadas três pilhas para cada tipo de resíduo, cama de aviário convencional (CAC) e cama de aviário orgânico (CAO). Para melhor otimizar o espaço e a manutenção ao longo do processo, as pilhas foram montadas com formato cilíndrico e dimensões aproximadas de 1 metro de altura por 1,20 metros de diâmetro, contidas por telas de viveiro (**Figura 1**).

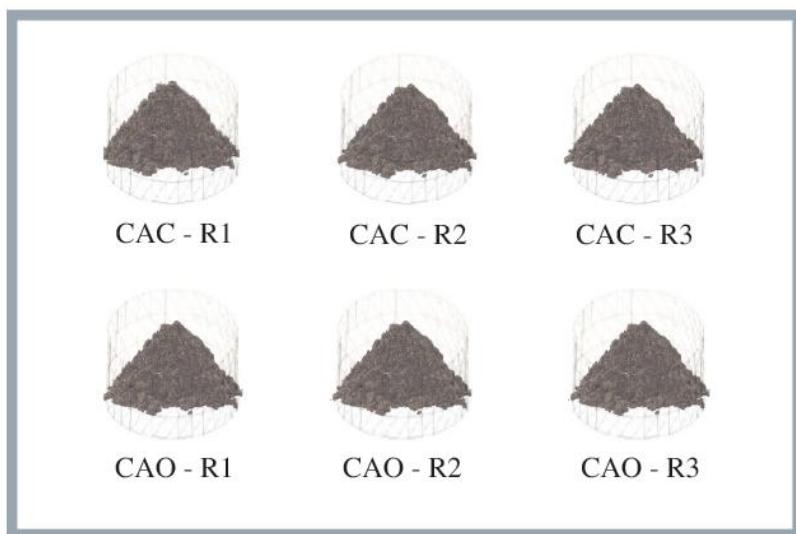


Figura 1. Esquema do acondicionamento do material para compostagem. CAC – cama de aviário de produção convencional; CAO – cama de aviário de produção orgânica; R1 – repetição 1; R2 – repetição 2; R3 – repetição 3.

O período total de compostagem foi de 125 dias. Para a manutenção da umidade em valores adequados para a atividade biológica, foi realizada avaliação da umidade e, posteriormente, os compostos foram revolvidos nos tempos 14, 32, 60, 90 e 125 dias e irrigados visando alcançar umidade de 45 %. Ao longo do processo, a temperatura do material foi avaliada diariamente nas duas primeiras semanas e posteriormente em dias alternados até a estabilização do material, por meio de um termômetro do tipo culinário inserido a 20 cm de profundidade em três pontos distintos da pilha. Amostras foram coletadas em triplicata nos tempos 0 e 125 dias para cada tipo de resíduo. As amostras foram obtidas a partir de três amostras simples coletadas após umidificação e revolvimento da pilha, em posições equidistantes, que ao serem misturas resultaram em amostras compostas (**Figura 2**). Em seguida foram acondicionadas em sacos plásticos e transportadas ao Laboratório de Genética Molecular de Microrganismos do Instituto de Veterinária da UFRRJ, onde foram armazenadas a -20 °C.

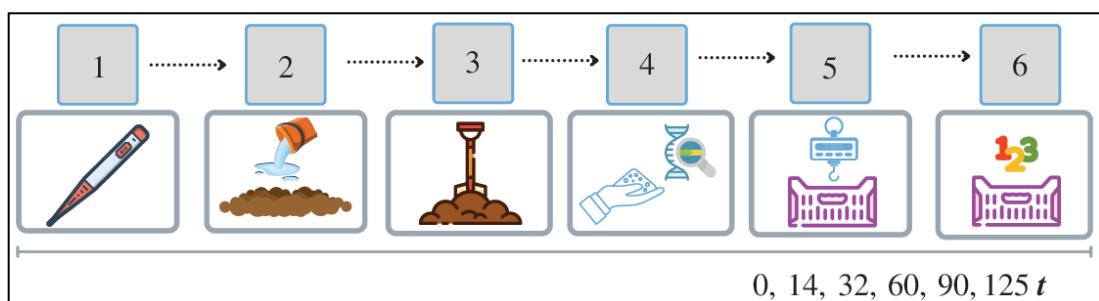


Figura 2. Etapas da condução da compostagem e procedimentos realizados nos tempos 0, 14, 32, 60, 90 e 125 dias. 1 – medição da temperatura; 2 – umidificação do material; 3 – revolvimento do material; 4 – coleta e acondicionamento de amostras nos tempos 0 e 125 dias; 5 – quantificação da massa; 6 –quantificação do volume.

3.4.2. Análises Químicas dos Resíduos

Nos tempos 0 e 125 dias foram coletadas amostras para análises físicas e químicas (pH, condutividade elétrica - CE e emissões de CO₂ e NH₃), conduzidas nos laboratórios da EMBRAPA Agrobiologia. O pH e a CE foram avaliados em solução de água destilada (5:1 v/v) (MAPA, 2007). As emissões potenciais de CO₂ e de NH₃ foram quantificadas conforme metodologia descrita por Oliveira et al. (2014), modificada alterando-se a temperatura de incubação para 30 °C, ao invés dos 25 °C do método original.

3.4.3. Extração de DNA Total dos Resíduos Orgânicos e Avaliação da Quantidade e Qualidade do DNA Total

A extração do DNA total das amostras de camas de aviário foi realizada utilizando o kit *Power Soil DNA Isolation* (MO BIO Laboratories INC.) a partir de 0,25g de resíduo, segundo protocolo fornecido pelo fabricante. Após a extração, as amostras foram armazenadas a -20 °C em ultrafreezer. A quantidade e qualidade do material genético foram avaliadas por espectrofotômetro Nano Drop ND-1000 (*Thermo Fisher Scientific*, Waltham, MA, USA). A integridade do DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 0,8% acrescido de SYBR *green* (Invitrogen). O gel foi visualizado sob luz UV (254 nm) e as imagens foram capturadas pelo sistema de fotodocumentação L-PIX EX (Loccus Biotecnologia).

3.4.4. Preparo da Biblioteca e Sequenciamento do Gene 16S rDNA

As amostras de DNA total foram encaminhadas para a empresa Macrogen (dna.macrogen.com - Seul, South Korea) para preparo das bibliotecas e sequenciamento genético. A biblioteca foi preparada com amplificação da região V3-V4 do gene 16S rRNA através dos primers Bakt_341F (5'-CCTACGGNGGCWGCAG-3') e Bakt_805R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') (HERLEMANN, 2011).

3.4.5. Processamento das Sequências

Os dados brutos foram compostos por 1.315.312 pares de sequências (*forward and reverse*) obtidas das 11 bibliotecas de amplicons 16S rRNA. Os adaptadores foram removidos, as sequências foram filtradas com base “*quality score*” e cortadas usando o pipeline DADA2 versão 1.16 (CALLAHAN et. al., 2016) na versão R 3.6.3 (R Core Team, 2021) em conjunto com R “Studio” 1.4.1717 (Equipe RStudio, 2021). As ferramentas FIGARO (WEINSTEIN et. al., 2019) foram usados para otimizar os parâmetros de comprimento de truncamento. Para remover as sequências de baixa qualidade, as *reads forward* e *reverse* foram truncadas em 263 e 222 bases, respectivamente. Após o truncamento, *reads forward* e *reverse* com mais de 4 e 3 erros esperados (maxEE) foram descartados, respectivamente. As *reads* foram truncadas na primeira instância de *quality score* (truncQ)

menor ou igual a 2. As taxas de erro de leitura foram adquiridas pelo DADA2 alternando entre a estimativa da taxa de erro e a inferência da amostra até a convergência.

As quimeras foram removidas de coleções desequências únicas pelo método de consenso entre amostras. Os ASVs (*Amplicon Sequence Variant*) foram classificados até o nível de gênero usando conjuntos do banco de dados Silva SSU 132 (Quast et al., 2013). Sequências atribuídas a cloroplastos, genoma mitocondrial e qualquer outra origem não bacteriana foram removidas. Após o tratamento, 398.559 sequências livres de “Chimeras” foram mantidas, agrupadas em 8.192 ASVs únicas pertencentes ao domínio Bacteria. Para análises estatísticas, uma rarefação de 30.400 *reads* por amostra foi feita, sendo o número de sequências encontradas na amostra de menor tamanho de dados, totalizando uma coleção de 334.400 *reads* aleatoriamente filtrados.

3.4.6. Análises Estatísticas

Para avaliar a diferença na estrutura das comunidades bacterianas presentes nas camas de aviário convencional e orgânico, bem como antes (T0d) e após (T125d) o processo de compostagem desses materiais, a Análise de Variância Permutacional Multivariada (PERMANOVA), usando análise de redundância baseada em distância (dbRDA), foram realizadas usando as matrizes de covariância e a medida de distância de Bray-Curtis com base nas matrizes de ASVs e nos dados ambientais pelo pacote “vegan” R versão 2.5-7 (OKSANEN, 2020). A predominância de ASVs raros, generalistas e especialistas entre os três nichos foi avaliada usando o Método de Classificação Multinomial de Espécies (CLAM) a partir do limiar de especialização da grande maioria ($K = 2/3$, $P = 0,001$) com ajuste para comparações múltiplas (CHAZDON et. al., 2011).

O predomínio das ASVs dentro de cada nicho também foi consultado através da Análise linear discriminatória (*Linear Discriminant Analysis - LDA*). O p-valor foi inferido pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste post-hoc de Dunn, todos ao nível estatístico $p < 0,05$.

As interações mais significativas entre ASVs dentro de cada resíduo (CAC e CAO) e nos tempos de compostagem (0d e 125d), foram avaliadas usando estimativas “bootstrap” dos coeficientes de correlação SparCC, disponíveis na biblioteca SpiecEasi R versão 1.1.0 (KURTZ, 2015). Para isso, apenas os ASVs que apareceram pelo menos 4 vezes foram inseridos na ferramenta R “sparccboot”, resultando em matrizes de nós e arestas. Apenas arestas com correlações significativas ($p\text{-valor} < 0,01$) e pesos iguais ou superiores a 0,9 foram selecionadas para representação gráfica das redes. O software Gehpi (versão 0.9.2) foi utilizado para criar as representações gráficas e parâmetros numéricos das redes (BASTIAN et. al., 2009), onde os ASVs foram identificados no nível de filo, destacando também o sinal das correlações, o número de conexões (grau) e centralidade de intermediação (BC).

As demais análises estatísticas multivariadas, cálculos de índices e correlações (HILLI, 1973) foram realizadas através dos recursos computacionais do R associados à biblioteca “vegan”. Os gráficos foram construídos com o pacote “ggplot2” R versão 3.3.3 (WICKHAM, 2016).

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1 Temperatura e pH Durante a Compostagem das Camas de Aviário Orgânico e Convencional

O processo de compostagem dos resíduos foi conduzido durante 125 dias. Neste período, os padrões de oscilação de temperatura foram semelhantes para os dois compostos, atingindo picos de até 65 °C e 67 °C para as camas de aviário convencional e orgânico, respectivamente. Os picos de temperatura foram alcançados nos tempos 3, 15, 33 e 61 dias. Os valores mínimos foram registrados aos 90 dias, período no qual a temperatura nas camas de aviário convencional e orgânica alcançou 16 °C e 17 °C, respectivamente (**Figura 3**).

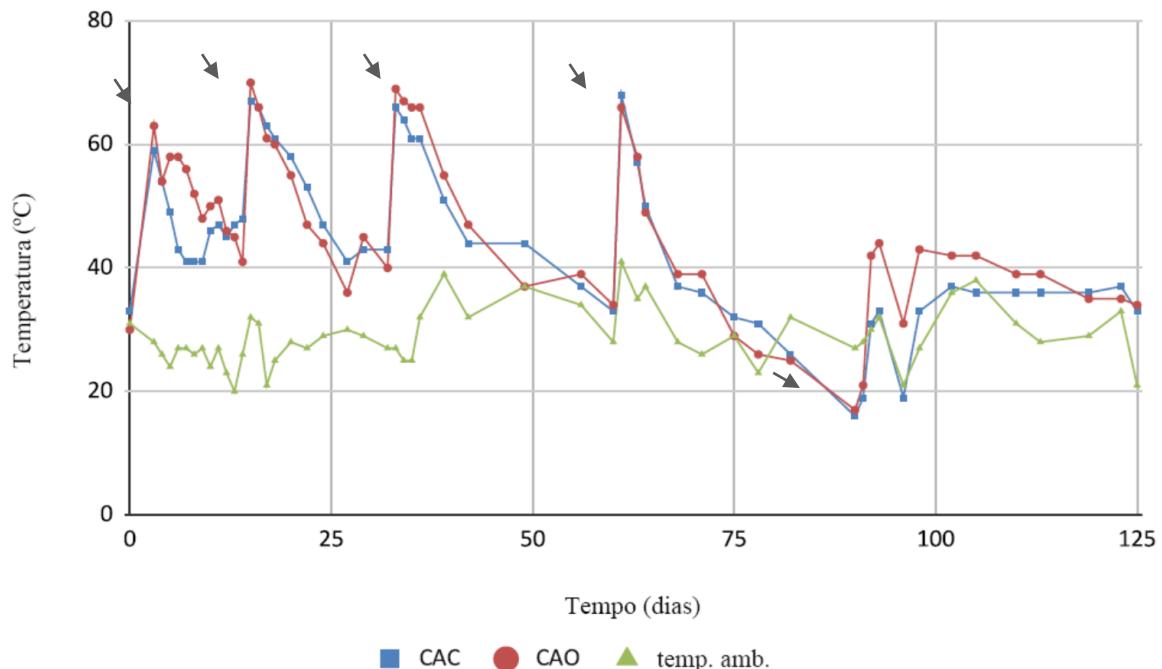


Figura 3. Temperatura durante o processo da compostagem. CAO = Cama de aviário orgânica; CAC = Cama de aviário convencional. As setas indicam as variações de temperatura máximas e mínimas dos compostos.

Os picos de temperatura alcançados nos tempos 3, 15, 33 e 61 dias mostraram associação à irrigação e aeração dos compostos conduzida em dias anteriores (0, 14, 32 e 60 dias). A condução adequada desses fatores favorece a intensificação da atividade microbiana aeróbica, que libera calor e eleva a temperatura do material (KIEHL, 2012). A manutenção da temperatura em intervalos de 55 °C e 65 °C é fundamental para a eficiência do processo de compostagem, pois representa um indicativo de intensa atividade degradativa da matéria orgânica e desinfecção adequada do composto (ORRICO JUNIOR et. al., 2012). Cabe ressaltar que temperaturas superiores a 65 °C por vários dias podem contribuir para a eliminação de alguns microrganismos bioestabilizadores e ocasionar o retardamento da maturação do composto, que é alcançada em aproximadamente 120 dias (VALENTE et al., 2016).

As camas de aviário convencional e orgânico apresentaram temperaturas acima de 65 °C aos 14 e 33 dias, respectivamente, mantendo-se assim por 4 dias consecutivos. Os parâmetros apresentados por ambos os tratamentos vão de acordo ao que é preconizado pela Legislação. Segundo a resolução CONAMA 481/2017, o período de tempo e temperatura necessários para higienização dos resíduos sólidos orgânicos durante a compostagem em sistemas abertos é de 55 °C durante 14 dias ou 65 °C durante 3 dias (BRASIL, 2017).

Diferentes fases termófilas e mesófilas foram observadas durante o processo de bioestabilização. Após 68 dias, os dois tratamentos registraram temperaturas médias inferiores a 45 °C, permanecendo na fase mesófila até o final da compostagem. Temperaturas próximas a temperatura ambiente, entre 33 °C e 35 °C foram registradas aos 123 e 125 dias para ambos os compostos indicando o final do período de estabilização e início do período de cura ou maturação. Essa etapa consiste na fase final da compostagem, onde o material apresenta características físicas, químicas e biológicas ideais para ser utilizado como fertilizante orgânico (KIEHL, 2012). Resultados similares foram apresentados por Valente e colaboradores, 2012, que ao conduzirem a compostagem de camas de frangos observaram um decréscimo na temperatura da biomassa (44 °C) aos 90 dias o qual persistiu até os 120 dias, com predomínio final de valores de temperaturas próximas a temperatura ambiente.

Os valores de pH, condutividade elétrica (CE) e emissões potenciais de CO₂ e NH₃ para as camas de aviário nos tempos 0 e 125 dias são demonstrados na **tabela 1**. Observa-se que os tratamentos apresentaram comportamento semelhante em relação aos valores de pH inicial com 8,7 e 9,3 e final com 9,7 e 10,0 $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ para as camas de aviário convencional e orgânico, respectivamente. A cama de aviário convencional fresca apresentou maiores valores de condutividade elétrica (2,54 $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$) quando compara a compostada (2,38 $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$). O contrário foi observado para a cama de aviário orgânico com valores de 1,99 $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ na fresca e 2,42 $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ na compostada.

As emissões potenciais de CO₂ apresentaram resultados semelhantes para ambas as camas, com valores elevados no início da compostagem, de 20,67 mg g⁻¹ e 22,53 mg g⁻¹ e menores valores após 125 dias de 7,71 mg g⁻¹ e 7,46 mg g⁻¹ para cama de aviário convencional (CAC) e cama de aviário orgânico (CAO), respectivamente.

As emissões de NH₃ foram altas nas CAC (1,29 mg g⁻¹) e CAO (0,85 mg g⁻¹) frescas. Após 125 dias os teores de NH₃ diminuiram significativamente, alcançando valores de 0,02 mg g⁻¹ em CAC e 0,00 mg g⁻¹ em CAO.

Tabela 1. Valores de pH, condutividade elétrica e emissões potenciais de CO₂ e NH₃ observados nos tempos 0 e 125 dias de compostagem das camas de aviário convencional (CAC) e orgânico (CAO).

	Ph	CE $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$	CO2 mg g ⁻¹ de $\mu\text{S}/\text{dia}^{-1}$	NH3
Cama de aviário convencional fresca - CAC T0d	8,7	2,54	20,67	1,29
Cama de aviário convencional compostada - CAC T125d	9,7	2,38	7,71	0,02
Cama de aviário orgânico fresca - CAO T0d	9,3	1,99	22,53	0,85
Cama de aviário orgânico compostada - CAC 125d	10,0	2,42	7,46	0,00

A literatura de referência apresenta um padrão de redução inicial de valores de pH durante a compostagem, com valores finais entre 7,5 e 9,0. Esta redução é resultante do desenvolvimento de microrganismos produtores de ácidos orgânicos (KIEHL, 2012; MATOS, 2014). No entanto, ambos os tratamentos apresentaram pH alcalino no início e fim do processo de compostagem.

Os valores de pH observados podem estar relacionados ao tipo de resíduo, manejo, taxas de degradação dos materiais orgânicos e às quantidades de nitrogênio amoniacal produzidas, transformadas ou volatilizadas (TOGNETTI et al., 2007). Neste estudo, as temperaturas termófilas atingidas durante grande parte do processo são um indicativo da elevada atividade de microrganismos decompositores e a ocorrência da mineralização do nitrogênio orgânico com o aumento da concentração de NH_4^+ e consequente elevação do pH. Resultados semelhantes foram encontrados por Leal e colaboradores, 2011. Segundo esses autores, os valores mais elevados de pH observados em compostos orgânicos ricos em N podem estar relacionados à transformação do N protéico em N amoniacal. Convém ressaltar que o pH ideal da compostagem pode oscilar entre 4,5 e 9,5 e que em casos extremos os próprios microrganismos controlam o pH, liberando subprodutos ácidos ou básicos, conforme a necessidade (PEREIRA NETO, 2007).

A condutividade elétrica está associada à presença de sais nos materiais durante o processo de compostagem e representa um indicativo da capacidade nutritiva do composto (KIEHL, 2012). Neste estudo, os valores obtidos para CE nas camas de aviário, antes e após compostagem, encontram-se de acordo com o proposto por Kiehl, 2012, em que a CE do composto orgânico não deve exceder $4,0 \mu\text{S cm}^{-1}$.

A estabilidade dos compostos pode ser inferida através das emissões de CO_2 . Observou-se que os valores iniciais de CO_2 foram altos para ambos os compostos entre 20 e 22mg g^{-1} , o que é esperado uma vez que a emissão está fortemente relacionada a temperaturas mais elevadas e consumo de O_2 , demonstrando intensa atividade biológica (OLIVEIRA et al., 2014).. Conforme os compostos atingem a estabilidade e posteriormente a maturação, as emissões de CO_2 diminuem consideravelmente. Aos 125 dias, ambos os compostos apresentaram emissões de CO_2 próximas a 8mg g^{-1} , indicando a estabilidade dos materiais de acordo com os parâmetros estabelecidos pela *California Compost Quality Council - CCQC*, 2001.

A emissão de NH_3 também pode ser utilizada como indicativo do nível de estabilidade de materiais orgânicos. Materiais ricos em N e com pH alcalino, emitem grande quantidade de NH_3 obtida a partir do processo de decomposição de proteínas e aminoácidos (LEAL, 2020). Além disso, o nível de NH_3 pode estar associado à temperatura do composto. Saraz, 2010, ao aferir os fluxos de NH_3 da cama de aves, associa o aumento das emissões desse gás às altas temperaturas, que favorecem a mineralização da matéria orgânica e, consequentemente, produção de NH_3 . Dessa forma, o comportamento das emissões de NH_3 em estudo, deve considerar as fases termofílicas que ocorreram durante grande parte do processo. À medida que a estabilização do composto é alcançada, a produção de NH_3 reduz significativamente (LEAL, 2020). Tal fato vai de encontro aos resultados obtidos, em que as emissões de NH_3 ao final da compostagem alcançaram valores praticamente nulos em CAC e CAO.

3.5.2 Estrutura e Composição de Comunidades Bacterianas e Índices de Diversidade

Após o tratamento dos dados brutos (formato fastq), o conjunto de dados analisado correspondeu a 398.559 sequências (*reads*) pareadas, distribuídas entre 11 amostras de compostos estudados, todas atribuídas ao domínio Bacteria, de acordo com o banco de dados SILVA 138 rRNA. Cabe ressaltar que das 12 amostras iniciais, 3 repetições para cada tipo de resíduo, CAC e CAO, apenas 11 amplificaram e foram sequenciadas. Essas sequências foram classificadas dentro de 8.192 ASVs (*Amplicon Sequence Variant*) distintas. Após o procedimento de rarefação, as amostras foram equalizadas pela amostra de menor tamanho, com 30.400 *reads*, resultando em um conjunto de dados com 334.400 *reads* e 5.293 ASVs únicas.

A estruturação das comunidades bacterianas (β -diversidade), presentes em ambas as camas de aviário (CAC e CAO) antes (0d) e após (125d) o processo de compostagem foi analisada (**Figura 4**). A análise de coordenadas principais (PCoA) demonstrou uma explicação de 47 % da variabilidade total, utilizando a matriz de distância UniFraq não ponderada (*Unweighted UniFrac Distance*), atribuindo, portanto, pesos semelhantes para comunidades raras e abundantes. A distância entre as amostras de CAC e CAO antes da compostagem demonstra diferenças na composição da população bacteriana devido aos diferentes sistemas de produção. O tempo de compostagem foi um fator relevante, e promoveu mudanças dentro de cada tipo de composto (isoladamente). A maior distância comunitária foi observada entre CAC-0d e CAO-125d, compostos que diferiram tanto com relação ao material de origem como em relação ao processo de compostagem, e a menor distância ocorreu entre as CAC-125d e CAO-0d, sugerindo que o tempo de compostagem em CAC favoreceu o desenvolvimento de grupos bacterianos semelhantes aos que foram observados na cama de aviário fresca.

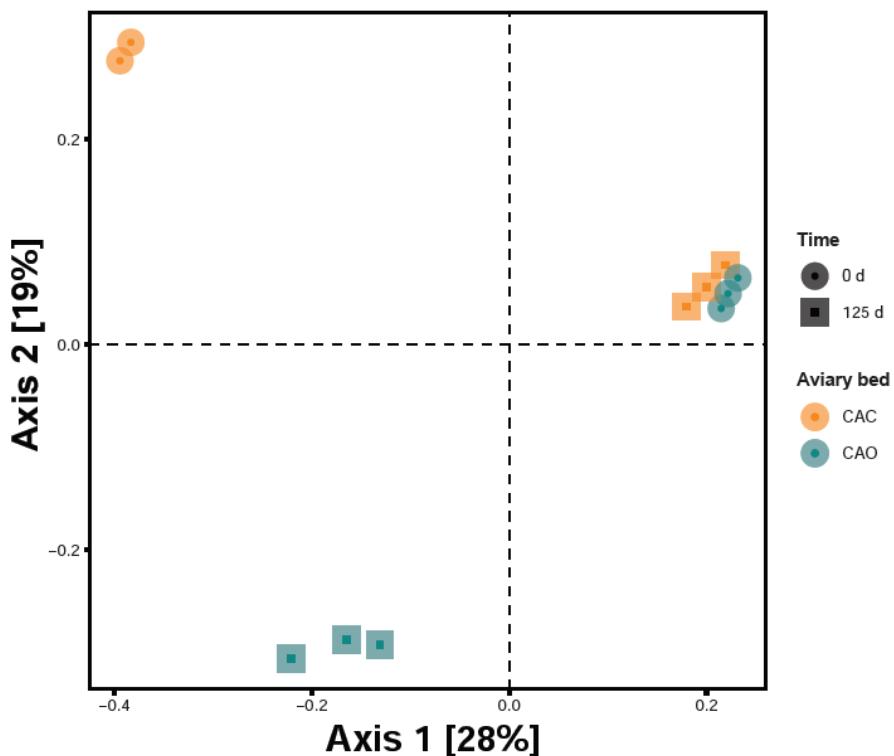


Figura 4. Análise de coordenadas principais (PCoA) baseada em distância UniFrac das comunidades bacterianas em camas de aviário proveniente de produção orgânico (CAO) e convencional (CAC), antes (0 dias) e após (125 dias) o processo de compostagem.

As respostas obtidas com as métricas de α -diversidade das comunidades bacterianas foram semelhantes às observadas para β -diversidade. Quando consideramos os resíduos frescos, a CAO apresentou as maiores médias para ASVs (*Amplicon Sequence Variant*) (Figura 5a), riqueza de espécies estimada por Chao1 (Figura 5b) e as métricas de diversidade de Shannon (Figura 5c) e Simpson (Figura 5d) quando comparada à CAC. Após a compostagem observamos um comportamento inverso, a diminuição destes índices nos resíduos de CAC e aumento dos valores dos índices na CAO.

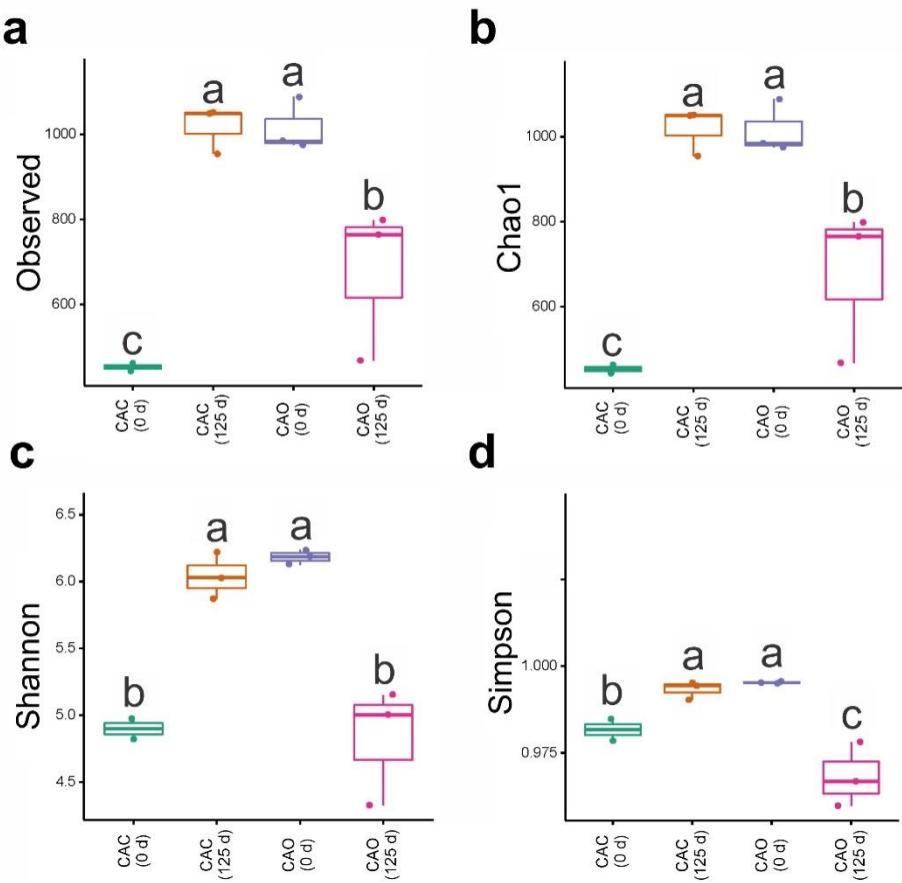


Figura 5. Índice de α -diversidade baseados na tabela de abundância de ASVs bacterianas identificadas nas comunidades bacterianas em camas de aviário proveniente de produção orgânico (CAO) e convencional (CAC), antes (0 d) e após (125 d) o processo de compostagem. (A) Observed richness (number of ASVs). (B) Estimador de riqueza Chao1 (C) Shannon-Winer diversity index. (D) Simpson's diversity index. Tratamentos seguidos por diferentes letras minúsculas foram estatisticamente distintos entre si pelo teste de Tukey HSD com correção de Bonferroni ($p < 0.05$).

A composição relativa dos níveis taxonômicos até o nível de classe foi analisada, considerando os 10 filos mais abundantes e as classes com abundância relativa superior a 1 %, agrupando os demais em um cluster denominado “Others” (Figura 6). Proteobacteria foi o filo mais abundante (53,2 %), principalmente após o processo de compostagem e, sobretudo, em CAO-125d (Figura 6a). Em seguida, foi observado o predomínio dos filos Actinobacteria (10,5 %), Bacteroidetes (9,4 %), Firmicutes (7,1 %), Planctomycetes (3,8 %), Acidobacterias (3,6 %), Choroflexi (3,0 %), Entotheonellaeota (1,0 %) e os demais não ultrapassaram 1% do total.

Ao nível de classe, para a alta frequência de Proteobacteria, destacaram-se as γ Proteobacteria (24,7 %), α -Proteobacteria (20,6 %) e δ -Proteobacteria (6,1 %), totalizando 51,4 % das sequências (Figura 6b). Dentre as classes mencionadas, γ Proteobacteria apresentou uma clara tendência de enriquecimento em materiais após os 125 dias de compostagem. A segunda maior ocorrência foi de ASVs classificadas como Bacteroidia (8,0 %) (filo Bacteroidetes). Outros grupos mais abundantes foram classificados como Bacilli (6,1 %) (filo Firmicutes), Actinobacteria (5,5 %) e Thermoleophilia (3,2 %) (filo Actinobacteria).

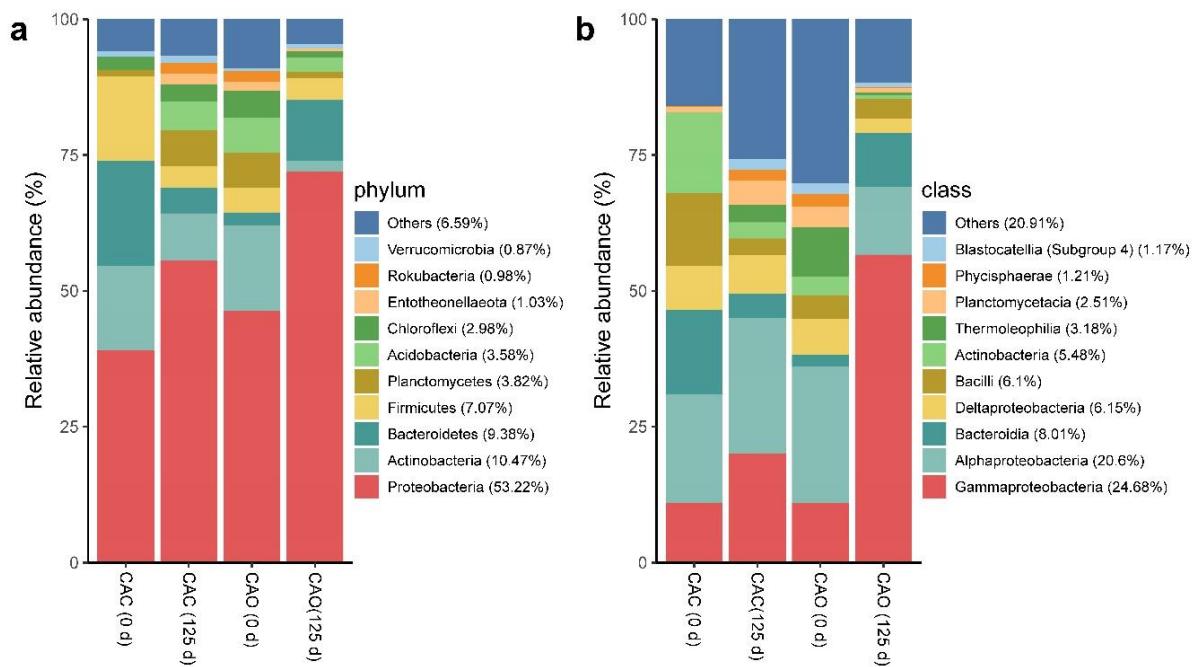


Figura 6. Ocorrência dos 10 principais filos (a) e das classes com abundância relativa superior a 1 % (b) do total de sequências de camas de aviário proveniente de produção orgânico (CAO) e convencional (CAC), antes (0 d) e após (125 d) o processo de compostagem.

A diferença na composição da população bacteriana observada entre CAC e CAO frescas pode estar relacionada ao manejo de criação dessas aves. No sistema de produção convencional, fatores como a forma de confinamento nos criadouros, estresse ambiental e jejum prolongado favorecem a suscetibilidade a patógenos (YIN, et al. 2010). Além disso, sabe-se que o uso de antimicrobianos de forma terapêutica e como promotores de crescimento também atua modificando a microbiota das aves (PROIETTI, et al., 2006).

No sistema de produção orgânico as aves são criadas em ambientes com acesso a pastagem durante o dia e em galpões fechados, com acesso a poleiros durante a noite. Essa dinâmica minimiza o estresse e a competição intraespecífica e reflete na composição bacteriana das aves (ALMEIDA, 2013). No sistema orgânico avaliado, as amostras de cama de aviário obtidas são provenientes de aves de corte, livre de antimicrobianos. No sistema de produção convencional as aves são submetidas a tratamentos terapêuticos com os antimicrobianos Enrofloxacina, Doxciclina, Sulfanoxalina e Gentamicina. Como promotores de crescimento utiliza os antimicrobianos Enramicina, Avilamicina e Virginiamicina, todos permitidos por lei e administrados em sistema de rodízio. Esses fármacos são utilizados tanto na medicina humana como animal (GUIGUÈRE, 2013). A proibição mais recente de antimicrobianos utilizados como promotores de crescimento e de importância para a saúde humana ocorreu em 2020 e compreende os antimicrobianos tilosina, lincomicina, e tiamulina, embora a proposta de Instrução Normativa do MAPA encaminhada a ANVISA incluísse, também, a Virginiamicina, classificada como altamente importante para a medicina humana (BRASIL, 2020; BRASIL, 2018).

A compostagem das camas de aviário também atuou modificando a composição da população bacteriana desses materiais. Nesse processo, ocorre intensa proliferação de microrganismos que provocam aumento brusco na temperatura, diminuindo a carga microbiológica do composto, principalmente patógenos (KIEHL, 2012). Tal fato explica o que foi observado nas camas em relação ao processo de compostagem, tanto separadamente quanto ao compará-las. A maior distância entre “CAC-fresca” e “CAO-compostada” evidencia a diferença na composição da população bacteriana presente em ambas, enquanto a menor distância entre “CAC-compostada” e “CAO-fresca” sugere a eliminação de bactérias presentes em CAC proveniente do manejo de criação das aves e uso de, bem como o favorecimento de grupos bacterianos que também estão presentes em CAO.

Os filos mais comumente relatados em pesquisas com abordagens tradicionais da microbiota intestinal de aves são Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria e Actinobacteria, com predomínio dos Firmicutes em relação aos demais filos (ZHAO et al., 2019; SHANG et al., 2018; XIAO et al. 2017; OAKLEY et al., 2014). Neste estudo o filo Proteobacteria foi o filo mais abundante em ambas as camas (CAC e CAO), antes e após a compostagem.

Bactérias pertencentes ao filo Proteobacteria são extremamente versáteis e, por esse motivo, podem ser encontradas nos mais variados ambientes. Embora a maioria das bactérias pertencentes a esse filo seja anaeróbia, algumas conseguem sobreviver na presença de oxigênio. As classes γ -Proteobacteria, α -Proteobacteriae δ -Proteobacteria, pertencentes a esse filo totalizaram mais de 50 % das ASVs, com maior representatividade de γ Proteobacteria, principalmente após a compostagem. Alguns estudos demonstram que a abundância do filo Proteobacteria na microbiota gastrointestinal de aves de produção pode estar relacionada a baixos índices zootécnicos devido à contaminação por γ -Proteobacteria, dentre elas *Escherichia/Shigella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas* e *Salmonella* (KOLLARCIKOVA et al., 2019; SINGH et al., 2012). As espécies do gênero *Escherichia* e *Salmonella*, são as que mais acometem as aves. A *Escherichia coli* é uma das principais bactérias patogênicas e oportunistas e pode colonizar o intestino delgado e o ceco das aves. A *Salmonella* entérica habita no ceco das aves. Algumas aves são portadoras assintomáticas de *Salmonella* e como seu desempenho produtivo não é afetado, contaminam outras aves e subprodutos como carne e ovos.

No entanto, é importante ressaltar que poucas espécies do filo Proteobacteria são patogênicas às aves e a abundância de espécies pertencentes a esse filo em frangos de produção pode estar associada à idade das aves, como aponta Ocejo e colaboradores em 2019, ao demonstrar em seu estudo que a abundância desse filo é maior em aves jovens do que em frangos com mais de quatro semanas de vida. Posteriormente foi destacada a abundância dos filos Actinobacteria, Bacteroidetes e Firmicutes.

3.5.3 Nicho de Ocupação das Comunidades Bacterianas

O método de classificação multinomial de espécies (*Multinomial Species Classification Method* - CLAM) também foi utilizado para determinar a intensidade e a composição de ASVs enriquecidas nos diferentes nichos contrastantes, isolando os grupos raros, generalistas e especialistas dentro de cada tratamento (**Figura 7**). Ao comparar CAO e

CAC, 56,5 % dos ASVs ocorreram em uma frequência relativamente baixa e foram classificados como bactérias muito raras. Do total de ASVs remanescentes, 17,8 % foram classificados como especialistas em CAO, 14,9 % especialistas em CAC e 10,8 % generalistas, ou seja, presentes em ambos os resíduos (**Figura 7a**). Os filos mais abundantes foram Proteobacteria (7,8 %), Actinobacteria (6,6 %), Bacteroidetes (6,3 %), Firmicutes (6,2 %), Planctomycetes (6,0 %), Acidobacteria (5,8 %) e Chloroflexi (5,8 %) e representaram 44,5 % do total (**Figura 7b**). Dentre esses filos, 41 % das bactérias pertencentes ao filo Proteobacteria e 36 % do filo Bacteroidetes eram especialistas em CAO com predomínio sobre os demais nichos. Da mesma forma, 51 % das bactérias pertencentes ao filo Bacteroidetes e 48 % pertencente ao filo Firmicutes foram destacadas como especialistas em CAC.

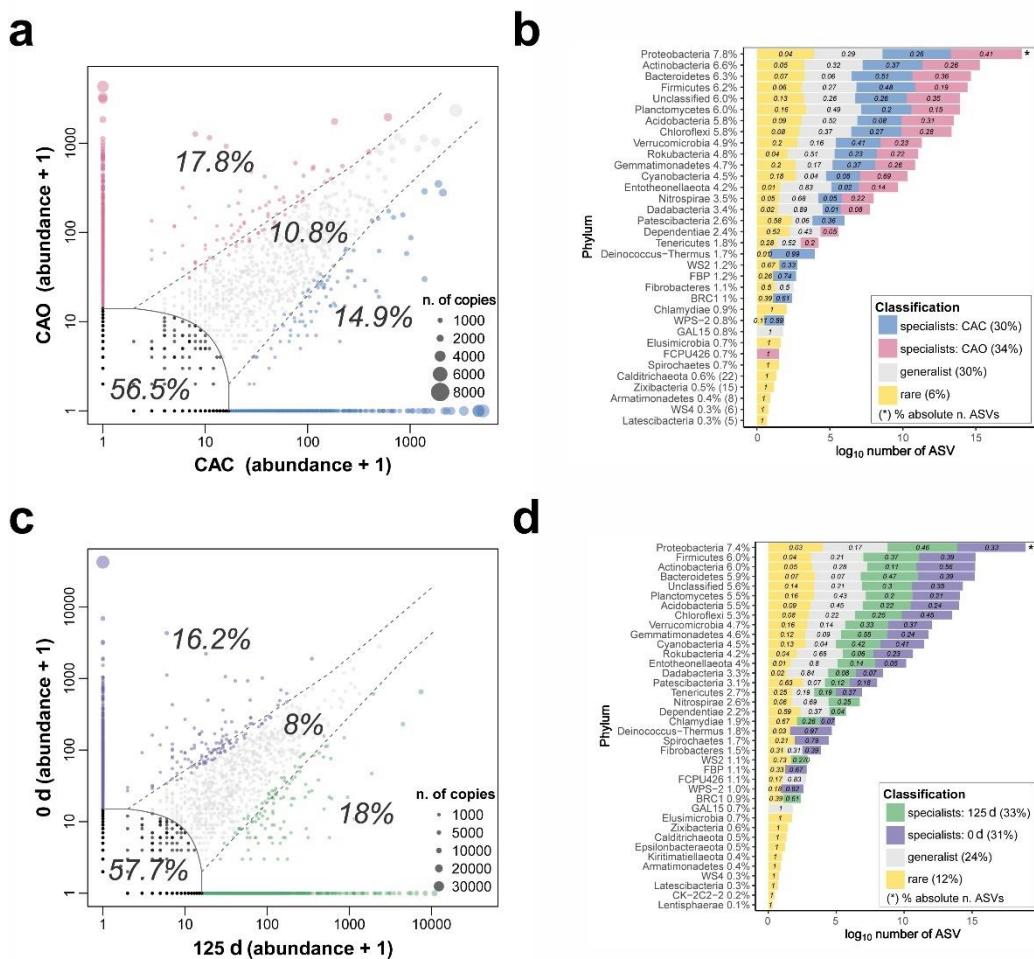


Figura 7. Enriquecimento dos principais filos bacterianos de acordo com o *Multinomial Species Classification Method* (CLAM). As comunidades bacterianas foram separadas em raras, generalistas e especialistas de dentro de cada nível de resíduo (CAO – orgânico e CAC – convencional) ou tempo de compostagem (0 e 125 dias após a compostagem).

Um padrão similar foi observado antes (0 d) e após (125 d) a compostagem, com 57,7% dos ASVs classificados como bactérias raras, 16,2 % como especialistas em camas de aviário frescas (0 d), 18% especialistas em camas de aviário compostadas (125 d) e 8 %

classificados como generalistas (**Figura 7c**). Os filos mais abundantes representaram 41,6 % do total: Proteobacteria (7,4 %), Firmicutes (6,0 %), Actinobacteria (6,0 %), Bacteroidetes (5,9 %), Planctomycetes (5,5 %), Acidobacteria (5,5 %) e Chloroflexi (5,3 %) (**Figura 7d**). Dentre esses filos, 56 % das bactérias pertencentes ao filo Actinobacteria e 45 % pertencentes ao filo Chloroflexi são especialistas em camas de aviário frescas e 47 % das bactérias pertencentes ao filo Bacteroidetes e 46 % das pertencentes ao filo Proteobacteria foram destacadas como especialistas em camas de aviário compostadas. A análise de ocupação de nicho mostrou maior proporção de ASVs classificadas como especialistas do que generalistas para ambas as camas de aviário, antes e após a compostagem. Sugere-se que tal fato esteja relacionado ao manejo das aves, que como demonstrado anteriormente influencia na composição da microbiota gastrointestinal e, consequentemente, dos resíduos incorporados às camas de aviários.

Durante o processo de produção de aves, há contato constante entre os animais e os microrganismos. Esse contato acontece desde a fase embrionária até seu pleno desenvolvimento e tempo de vida. Diferentes formas de condução na criação das aves podem proporcionar o contato com diferentes tipos de bactérias e refletir diretamente na comunidade bacteriana do trato gastrointestinal, com efeitos benéficos ou prejudiciais sobre a saúde desses animais (SHANG et al., 2018).

Dentre os fatores que alteram a microbiota das aves de criação e, consequentemente, a composição microbiológica da cama de aviário proveniente desses ambientes, menciona-se: i. o uso de algumas substâncias inseridas no trato gastrointestinal, que podem atuar como insumos ou substratos para modulação da microbiota e gerar alterações na fisiologia e equilíbrio do animal; ii. o uso de antimicrobianos visando otimizar a alimentação, maximizar a digestibilidade, saúde e desempenho das aves; iii. as instalações e equipamentos utilizados na ambiência de criação das aves, que ao fornecer ou não bem-estar, geram condições de impacto na microbiota intestinal contribuindo/não contribuindo para otimização dos ganhos zootécnicos durante a vida do animal (ALEXANDRINO, et al., 2020). Assim, as diferentes formas de manejo nos sistemas de produção orgânico e convencional em relação aos fatores supracitados, justificam o predomínio de espécies especialistas em relação às generalistas nos dois tratamentos.

3.5.4 Enriquecimento das Comunidades Bacterianas em Diferentes Materiais e Tempos de Compostagem

O predomínio das ASVs dentro de cada nicho, independentemente de ser especialista, generalista ou rara, também foi consultado através da Análise Linear Discriminatória (*Linear Discriminant Analysis - LDA*) (**Figura 8**). No primeiro contraste (**Figura 8a**), entre os diferentes compostos, foram identificadas 28 ASVs contrastantes, 16 pertencentes à CAC e 12 à CAO. Após filtragem das ASVs com o maior grau de significância (menores p-valores), em CAC houve um maior enriquecimento de bactérias pertencentes ao filo Actinobacteria, a classe δ -Proteobacteria e a ordem Myxococcales, enquanto na CAO houve um maior enriquecimento de bactérias pertencentes às famílias Vibrionaceae e Enterobacteriaceae, ambas pertencentes ao filo Proteobacteria, o mais abundante.

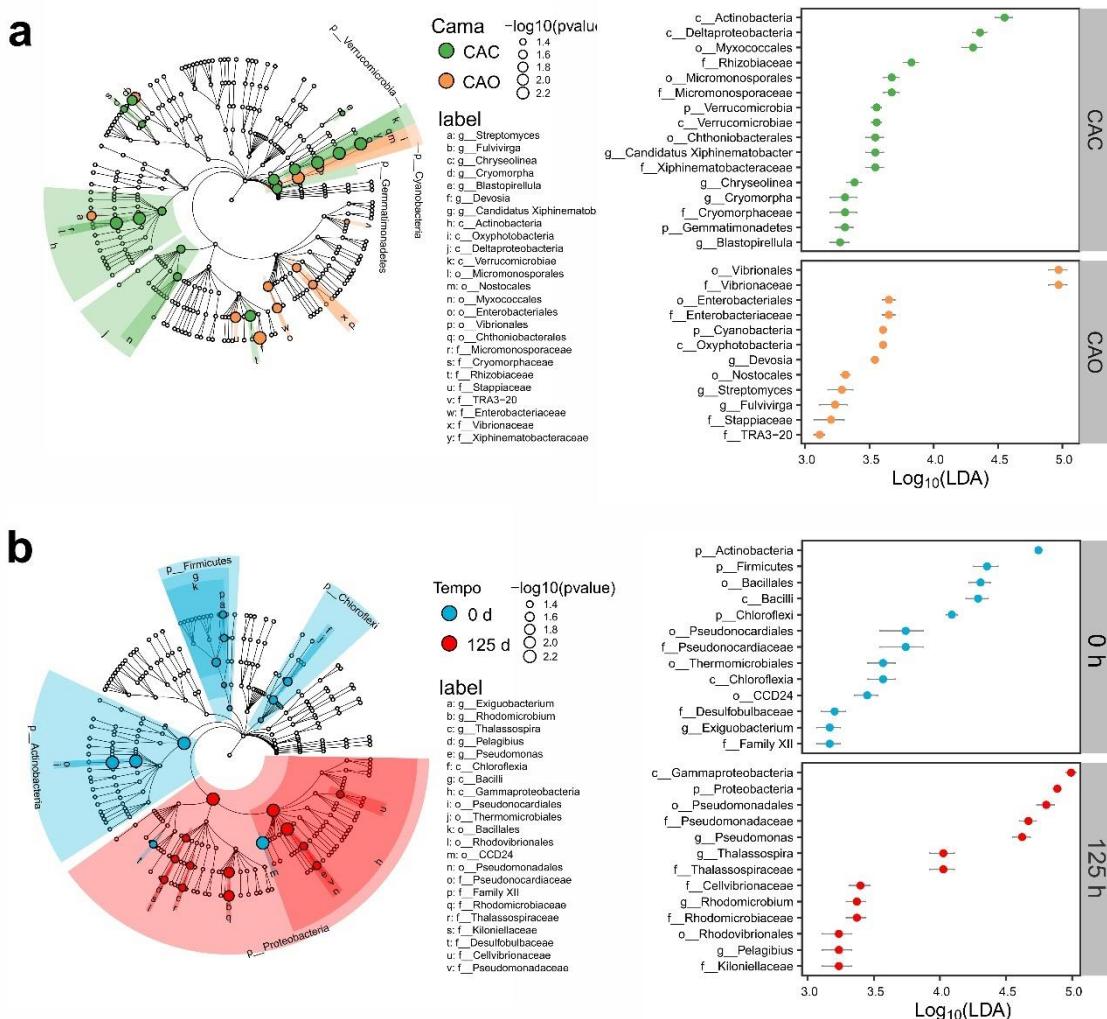


Figura 8. Análise linear discriminatória (Linear Discriminant Analysis - LDA) comparando a diferença na composição de táxons totais entre diferentes resíduos e tempos de compostagem. As cores indicam os diferentes tratamentos: cama de aviário orgânico (CAO - laranja), cama de aviário convencional (CAC - verde), antes (0dias - azul) e após (125dias - vermelho) a compostagem.

No segundo contraste (Figura 8b), comparando o enriquecimento de espécies durante o processo de compostagem, foram identificadas 26 ASVs contrastantes, sendo 13 relacionadas antes (0d) e após (125d) à compostagem, respectivamente. Antes do processo de compostagem houve um maior enriquecimento de bactérias pertencentes aos filos Actinobacteria, Firmicutes, sobretudo a classe Bacilli, e Cloroflexi. Após 125 dias, observou-se maior enriquecimento de espécies pertencentes ao filo Proteobacteria, principalmente do gênero *Pseudomonas*.

A diversidade de bactérias presentes no trato gastrointestinal das aves é numerosa, ultrapassando em número a quantidade de células germinais e somáticas do animal (FEITOSA et al., 2020). Devido a características intrínsecas das aves relacionadas à fisiologia e metabolismo desses animais, algumas barreiras naturais dificultam a colonização por diferentes espécies de bactérias. Geralmente o trato gastrointestinal é colonizado,

principalmente, por bactérias do filo Firmicutes, mais adaptadas ao pH ácido e alta concentração salina. No entanto, além dos Firmicutes, bactérias dos filos Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, Gemmatimonadetes, Tenericutes e Verrucomicrobia já foram identificadas e descritas por diferentes autores como integrantes do microbioma das aves (XIAO, et al., 2017; WILKINSON, et al., 2016; PICKLER, et al., 2011). Tais estudos corroboram com os resultados observados através da Análise Linear Discriminatória, que apresentou predomínio de Actinobacterias, Firmicutes e Proteobacterias nas camas de aviário, sendo Firmicutes o filo predominante nas camas frescas e o Proteobacteria nas camas compostadas.

3.5.5 Rede de Co-ocorrência das Comunidades Bacterianas

A análise de rede demonstrou interações complexas entre as comunidades bacterianas no nível de classe ao comparar CAC e CAO (**Figura 9a**) e os tempos de compostagem, T0d e T125d (**Figura 9b**), destacando ASVs com pesos maiores e significativos ($-0,7 < \text{SparCC} < 0,7$, $p < 0,001$).

A CAO apresentou maior conectividade entre as bactérias participantes na manutenção da rede e maior complexidade de interações entre esses microrganismos (número de nós = 391, bordas = 2719) quando comparado à CAC (número de nós = 49, bordas = 53). As correlações positivas foram abundantes em ambos os nichos, sendo 65 % para CAO e 51 % CAC (**Tabela 3**). Valores superiores da faixa de centralidade de intermediação (BC), com variações entre 51 % - 91 % destacaram espécies chaves pertencentes às classes α -Proteobacteria e Bacteroidia na rede CAC, e δ -Proteobacteria, γ Proteobacteria e Bacilli na rede CAO.

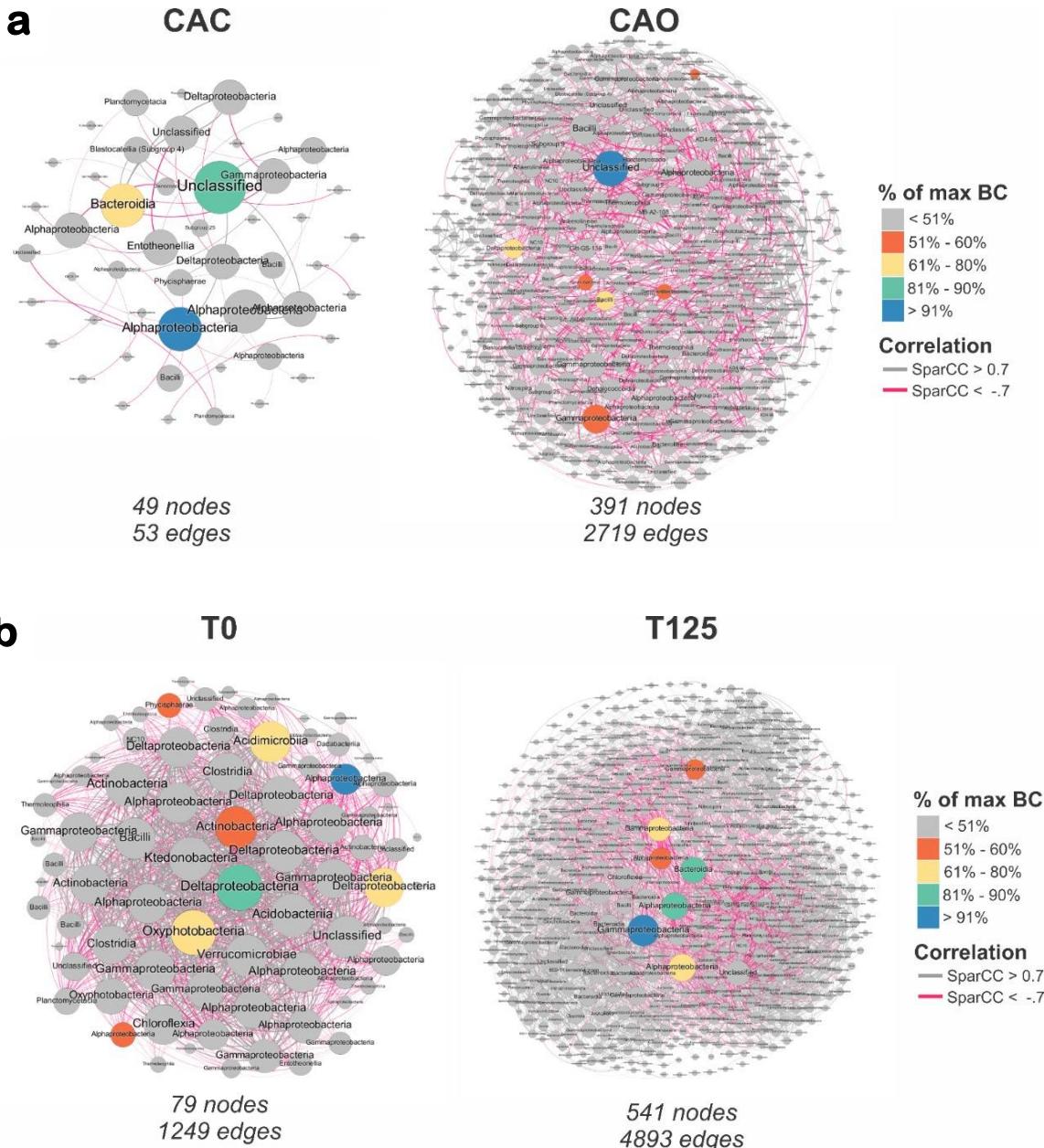


Figura 9. Análise de co-ocorrência em rede das comunidades bacterianas em camas de aviário frescas e compostadas de produção orgânico e convencional. A relação entre as classes bacterianas foi estimada pelo algoritmo SparCC e os valores p foram estimulados por bootstrapbootstrapped. Significant ($p < 0,001$) arestas (SparCC) com pesos acima 0.7 ($<-0,7$ e $>0,7$) foram preservados. Os nós são ASVs de uma única bactéria, aqui associados a classes de acordo com o classificador Silva SSU 132. O tamanho do nó é proporcional ao número de conexões (grau) e foram pintados em cinco intervalos de acordo com a faixa de centralidade de intermediação (BC).

Ao comparar as camas frescas e compostadas durante 125 dias, verificou-se maior diversidade de bactérias participantes na manutenção da rede e maior complexidade de interações entre esses microrganismos após a compostagem (número de nós = 541, bordas = 4893) em relação às amostras frescas (número de nós = 79, bordas = 1249). As amostras compostadas apresentaram 76 % de correlação positiva e as frescas foram menos abundantes,

com apenas 47% (**Tabela 3**). Valores superiores da faixa de centralidade de intermediação (BC), com variações entre os intervalos 51 % - 91 % destacaram espécies chaves das classes Actinobacteria, Acidimicrobiia, α -Proteobacteria, δ -Proteobacteria, Oxyproteobacteria e Phycisphaerae, na rede T0, e α Proteobacteria, γ -Proteobacteria e Bacteroidia na rede T125.

Tabela 3. Métricas de rede das comunidades bacterianas em camas de aviário frescas e compostadas de produção orgânico e convencional de São José do Vale do Rio Preto e Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brasil. com base no gene 16S rDNA

Métricas de rede	CAC	CAO	T0	T125
Número de nós	49	391	79	541
Número de bordas	53	2719	1249	4893
Bordas positivas	51%	65%	47%	76%
Bordas negativas	49%	35%	53%	24%
Componentes conectados	7	11	1	9
Diâmetro da rede	9	7	4	8
Densidade do gráfico	0,045	0,036	0,405	0,033
Modularidade	0,647	0,472	0,053	0,49
Grau médio	2,163	13,908	31,620	18,089
Média grau ponderado	1,758	11,189	25,872	13,975
Média coeficiente agrupamento	0,172	0,238	0,790	0,207
Comprimento do percurso	4,073	2,818	1,670	2,721

(*) Os valores foram calculados no software Gephi a partir dos nós e arestas estimados pelo bootstrap da correlação SparCC significativa ($p < 0,05$), com diferença significativa pelo teste F a 5 % e post hoc de Fisher Leste Significant Difference teste (LSD) em 5 % de significância, simultaneamente.

A rede de co-ocorrência mostrou que a cama de aviário orgânico possui comunidade bacteriana mais conectada que a de aviário convencional, com maior número de nós e arestas, sugerindo maior interação bacteriana nesse tipo de resíduo. O mesmo padrão foi observado nas camas de aviário compostadas, que também mostrou maior conectividade em relação às camas frescas. A maior complexidade e maior número de conexões dentro da comunidade bacteriana na cama de aviário orgânico e em T125d reflete a presença de diferentes grupos de nós com altas interconexões, sugerindo um aumento na sobreposição de nicho e estabilidade da comunidade (COSTA et al., 2022; SOUSA-LOPES et al., 2021). Além disso, ao comparar as camas em T0d e T125d, identificamos as espécies-chaves em cada rede com base na centralidade de intermediação, um importante recurso ecológico e biológico dentro de uma rede. Observou-se predomínio de espécies-chaves dos filos Actinobacteria, Actinomycetota, Proteobacteria e Planctomycetota na rede T0d e Proteobacteria e Bacteroidetes na rede T125d. Diferentes táxons têm papéis diferentes dentro das redes, e as espécies-chaves podem ser cruciais na inferência de fatores que modificam a composição e a estrutura do microbioma das aves, o que se reflete na comunidade bacteriana das camas de aviário.

A compostagem alterou a composição da população bacteriana das camas de aviário, mas não eliminou todos os grupos de microrganismos. O conhecimento da composição bacteriana desses resíduos é relevante, pois as camas de aviário são usadas como fertilizantes orgânicos em sistemas agrícolas e podem carrear microrganismos para esses ambientes.

3.6 CONCLUSÕES

Diferentes condições de manejo das aves (sistemas de produção orgânico e convencional) influenciam na comunidade bacteriana das camas de aviário. A cama de aviário orgânica apresentou maior diversidade e complexidade quando comparada a cama de aviário convencional. Um dos fatores consideráveis nesta diferenciação pode estar relacionado ao uso intensivo de antimicrobianos no sistema convencional, que modifica a microbiota gastrointestinal das aves e favorece a disseminação de resíduos de antimicrobianos, bactérias resistentes e genes de resistência a antimicrobianos.

O processo de compostagem também levou à modificação da microbiota bacteriana, porém, de maneira diferente nas camas de aves obtidas nos dois sistemas. Na cama de aviário convencional houve um aumento dos índices de diversidade após compostagem, enquanto na cama de aviário orgânico houve uma diminuição destes índices.

3.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRINO, S. L. de S.; COSTA, T. F.; SILVA, N. G. D.; ABREU, J. M.; SILVA, N. F.; SAMPAIO, S. A.; CHRISTOFOLI, M.; CRUZ, L. C. F.; MOURA, G. F.; FARIA, P.P.; MINAFRA, C. S. Microbiota intestinal e fatores que influenciam a avicultura. **Investigação, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 9, n. 6, p. e87963098, 2020.

ALMEIDA. L. R. Manejo de Parasitoses em Sistema Orgânico de Produção de Leite. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.80, p.129-134, 2013.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA). 2022. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/mercado-mundial> Acesso: agosto de 2022.

BASTIAN, M., HEYMANN, S., JACOMY, M. Gephi: An open source software for exploring and manipulating networks. **BT – International AAAI Conference on Weblogs and Social**. 361–362, 2009.

BRASIL. Lei n. 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, Seção 1, p.8, 2003.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Política Nacional de Resíduos Sólidos, Lei nº 12305, de 02 de agosto de 2010. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, DF, Seção 1, 2010.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 46 de 06 de outubro de 2011. Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção, listas de substâncias e práticas permitidas para uso nos Sistemas Orgânicos de Produção. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Seção 1. 2011.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 481, de 03 de outubro de 2017. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, Seção 1, 2017.

BURKI, T. K. Tackling antimicrobial resistance in food-producing animals. **The Lancet**, v. 7, n. 1, p. 93-94, 2018

CALLAHAN B.J.; McMURDIE P.J.; ROSEN M.J.; HAN A.W.; JOHNSON A.J.A.; HOLMES S.P. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nat. Methods**.13:581–583, 2016.

CALIFORNIA COMPOST QUALITY COUNCIL - CCQC. Compost Maturity Index. Nevada, CA. 2001.

CHEN, H., MOMMER, L., RUIJVEN, J., KROON, H., FISCHER, C., GESSLER, A., WEIGELT, A. Plant species richness negatively affects root decomposition in grasslands. **J. Ecol.** 105 (1), 209–218, 2017.

CHAZDON, R. L., CHAO, A., COLWELL, R. K., LIN, S.-Y., NORDEN, N., LETCHER, S. G., CLARK, D. B., FINEGAN, B., ARROYO J. P. A novel statistical method for classifying habitat generalists and specialists. **Ecology** 92, 1332–1343, 2011.

COSTA, D. P. da; ARAUJO, A. S. F.; PEREIRA, A. P. de A.; MENDES, L. W.; FRANÇA, R. F. de; SILVA, T. das G. E. da S.; OLIVEIRA, J. B. de; ARAUJO, J. S.; DUDA, G. P.; MENEZES, R. S. C.; MEDEIROS, E. V. de. Forest-to-pasture conversion modifies the soil bacterial community inBrazilian dry forest Caatinga. **Science of the Total Environment**, v. 810, p.151943, 2022.

FEITOSA, T. J. O.; SILVA, C. E.; SOUZA, R. G.; LIMA, C. D. S.; GURGEL, A. C.; OLIVEIRA, L. L. G.; NÓBREGA, J. G. S.; CARVALHO Jr. J. E. M.; MELO, F. O.; SANTOS, W. B. M.; FEITOZA, T. O.; COSTA, T. F.; BRANDÃO, P. A.; MINAFRA, C. S. Microbiota intestinal das aves de produção: revisão bibliográfica. **Research, Society and Development**, v. 9, p. e42952779, 2020.

HERLEMANN, D. P., LABRENZ, M, JURGENS, K., BERTILSSON, S., WARNIEK J. J., ANDERSSON, A. F. Transitions in bacterial communities along the 2000km salinity gradient of the Baltic Sea. **The ISME Journal** 5: 1571–1579, 2011.

HILLI, I. D. Algorithm AS66, the normal integral. **Applied Statistics**. 22, 424–427, 1973.

KIEHL, E. J. **Manual de compostagem: maturação e qualidade do composto**. Piracicaba. p.171, 2012

KOGUT, M. H. The effect of microbiome modulation on the intestinal health of poultry. **Animal Feed Science and Technology**, v. 250, p. 32-40, 2019.

KOLLARCIKOVA, M.; KUBASOVA, T.; KARASOVA, D.; CRHANOVA, M.; CEJKOVA, D.; SISAK, F.; RYCHLIK, I. Use of 16S rRNA gene sequencing for prediction of new opportunistic pathogens in chicken ileal and cecal microbiota. **Poultry Science**, v. 98, n. 6, p. 2347-2353, 2019.

KURTZ, Z. D., MÜLLER, C. L., MIRALDI, E. R., LITTMAN, D. R., BLASER, M. J., BONNEAU, R. A. Sparse and Composition ally Robust Inference of Microbial Ecological Networks. **PLOS Computational Biology** 11(5): e1004226, 2015.

LEAL, M. A. de A.; GUERRA, J. G. M.; PEIXOTO, R. T. dos G.; SANTOS, S. da S. Processo de compostagem a partir da mistura entre capim elefante e crotalária. Seropédica **Embrapa Agrobiologia**, Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 77, 2011. 23 p.

MATOS, A. T. **Tratamento e aproveitamento agrícola de resíduos sólidos**. Viçosa: Editora UFV, p.241, 2014.

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

OCEJO, M.; OPORTO, B.; HURTADO, A. 16S rRNAamplicon sequencing characterization of caecal microbiome composition of broilers and free-range slow growing chickens throughout their productive lifespan. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1-14, 2019.

OKSANEN, J., GUILLAUME BLANCHET, F., FRIENDLY, M., KINDT, R., LEGENDRE, McGLINN, D., MINCHIN, P.R., SIMPSON, G.L., SOLYMOS, P., STEVENS, M.H.H., SZOECS, E., WAGNER, H., O'HARA, R. B. Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-7, 2020.

OLIVEIRA, E.A.G.; LEAL, M.A.A.; ROCHA, M.S.; GUERRA, J.G.M.; RIBEIRO, R.L.D. Avaliação da estabilidade de materiais orgânicos por meio de incubação e da captura conjunta das emissões de CO₂ e de NH₃. Seropédica: **Embrapa Agrobiologia**, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 97, 2014.

O'NEILL, J. Antimicrobials in agriculture and the environment: reducing um necessary use and waste. **The Review on Antimicrobial Resistance**, 2015.

PICKLER, L.; SANTIN, E.; SILVA, A. V. S. Alternativas aos antibióticos para equilibrar a microbiota gastrointestinal de frangos. **Archives of Veterinary Science**, v. 16, p. 1-13, 2011.

QUAST, C., PRUESSE, E., YILMAZ, P., GERKEN, J., SCHWEER, T., YARZA, P., PEPLIES, J., GLÖCKNER, F.O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. **Nucleic Acids Res.** 4, D590–D596, 2013.

RStudio Team. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA p. 319, 2021.

SHANG, Y.; KUMAR, S.; OAKLEY, B.; KIM, W. K. Chicken gut microbiota: importance and detection technology. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 5, p. 254, 2018.

SINGH, K. M.; SHAH, T.; DESHPANDE, S.; JAKHESARA, S. J.; KORINGA, P. G.; RANK, D. N.; JOSHI, C. G. High through put 16S rRNA gene-based pyrosequencing

analysis of the fecal microbiota of high FCR and low FCR broiler growers. **Molecular Biology Reports**, v. 39, n. 12, p. 10595-10602, 2012.

SOUZA LOPES, L. de; MENDES, L. W.; ANTUNES, J. E. L.; SOUZA OLIVEIRA, L. M. de; MELO, V. M. M.; ARAUJO PEREIRA, A. P. de; COSTA, A. F. da; OLIVEIRA, J. de P.; MARTINEZ, C. R.; FIGUEIREDO, M. do V. B.; ARAUJO, A. S. F. Distinct bacterial community structure and composition along different cowpea producing ecoregions in Northeastern Brazil. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-12, 2021.

TOGNETTI, C.; MAZZARINO, M. J.; LAOS, F. Improving the quality of municipal organic waste compost. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 5, p. 1067-1076, 2007.

VALENTE, B. S.; XAVIER, E. G.; LOPES, M.; PEREIRA, H. D. S.; ROLL, V. F. Compostagem e vermicompostagem de dejetos líquidos de bovinos leiteiros e cama aviária. **Archivos de Zootecnia**, v. 65, n. 249, p. 79-87, 2016.

VALENTE, B. S.; XAVIER, E. G.; MANZKE, N. E.; MORAES, P. O.; BÜTTOW, V. F. Compostagem da mistura de carcaças de frangos de corte e cama de aviário. **Varia Scientia Agrárias**, v. 2, n. 2, p. 135-152, 2012.

WEINSTEIN, M. M., PREM, A., JIN, M., TANG, S., BHASIN, J. M., FIGARO: An efficient and objective tool for optimizing microbiome rRNA gene trimming parameters. **BioRxiv**, 610394, 2019.

WICKHAM, H. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis** vol 35. Springer, New York, p. 211, 2009.

WILKINSON, N.; HUGHES, R. J.; ASPDEN, W. J.; CHAPMAN, J.; MOORE, R. J.; STANLEY, D. The gastrointestinal tract microbiota of the Japanese quail, *Coturnix japonica*. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 100, p. 4201-4209, 2016.

XIAO, Y.; XIANG, Y.; ZHOU, W.; CHEN, J.; Li, K.; YANG, H. Microbial community mapping in intestinal tract of broiler chicken. **Poultry Science**, v. 96, p. 1387-1393, 2017.

YIN, Y.; LEI, F.; LIYING, Z.; LI, S.; WU, Z.; ZHANG, R.; GAO, G. F.; ZHU, B.; WANG, X. Exposure of different bacterial inocula to newborn chicken affects gut microbiota development and ileum gene expression. **Isme Journal. Beijing**, v. 4, p. 367-376, 2010.

ZHAO, Y.; LUO, H.; LONGCHUAN, D.; WEI, C.; WANG, M.; JIN, J.; LIU, S.; MEHMOOD, K.; SHAHZAD, M. Comparison of the intestinal microbial community in ducks reared differently through high-throughput sequencing. **BioMed research international**, v. 2019, 2019.

4. CAPÍTULO II

USO E DESCARTE COMUNITÁRIO DE ANTIBIÓTICOS E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA: UMA PREOCUPAÇÃO QUE CHEGA ÀS INSTITUIÇÕES DE ENSINO?

4.1. RESUMO

Uma nova perspectiva ao se pensar em Educação e Saúde, que considera o processo formativo nas instituições de Ensino Superior um dos principais caminhos para a mudança do quadro atual de resistência antimicrobiana tem sido proposta. Este trabalho buscou investigar o conhecimento de estudantes de Graduação e Pós-graduação da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em relação uso e descarte de antibióticos e a resistência antimicrobiana. A pesquisa foi realizada no campus Seropédica - RJ, mediante parecer favorável do Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos e assentimento dos Termos de Anuência da Instituição e de Consentimento Livre e Esclarecido dos discentes. Um questionário eletrônico composto por 19 questões objetivas, sistematizadas pelo método de Análise de Conteúdo de Bardin, foi aplicado aos discentes através da plataforma *online* do Sistema Integrado de Gestão e Atividades Acadêmicas (SIGAA) da Universidade e meios de comunicação sociais como *Instagram*, *Facebook* e *Whatsapp*, durante 3 meses. Participaram desta pesquisa 486 discentes, sendo 73 % estudantes de Graduação e 27 % estudantes de Pós-graduação, a maioria da área de Ciências Agrárias. Grande parte dos entrevistados comprehende o que são antibióticos, bactérias resistentes e resistência aos antibióticos. Porém, mesmo com acesso a informações sobre o assunto e reconhecimento dos principais fatores que levam a resistência, o uso do fármaco sem prescrição médica foi confirmado por quase metade dos participantes em algum momento da vida. Além disso, uma parcela significativa dos voluntários da pesquisa destina o medicamento no lixo comum e desconhece a legislação sobre uso e descarte de medicamentos. Sugere-se que a prática incorreta do uso e descarte comunitário de antibióticos representa um hábito cultural, uma vez que os discentes têm informações e conhecimento sobre o assunto. A mudança efetiva dessa práxis se faz possível através da integração de ações políticas, sócio-econômicas e educativas, que visem, não apenas a informação, mas principalmente a percepção e conscientização da população como ações transformadoras da resistência antimicrobiana na contemporaneidade.

Palavras-chave: Antibióticos. Superbactérias. Educação e Saúde. Ensino Superior.

4.2. ABSTRACT

A new perspective in relation to Education and Health, taking into account the educational process in Higher Education institutions as one of the main ways changing the current scenario of antimicrobial resistance was proposed. This study aimed investigating Undergraduate and Postgraduate students' knowledge from Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) in regard to antibiotics use and disposal, as well as antimicrobial resistance. The study was carried out in Seropédica campus - RJ after a favourable opinion from the Ethics and Research with Human Beings Committee and assent to the Institution's Terms of Consent and the Free and Informed Consent of the students. An electronic questionnaire composed by 19 questions, systematized by Bardin's Content Analysis Method by online platform from Sistema Integrado de Gestão e Atividades Acadêmicas (SIGAA) from UFRRJ and social media such as Instagram, Facebook and Whatsapp to the students was applied to the students for 3 months. A total of 486 students, 73 % from undergraduate course and 27% from Postgraduate one, most of them from Agricultural Sciences, participated in this study. Most of the students were able to understand the meaning of antibiotics, resistant bacteria and antibiotic resistance. However, even with access to information about the subject and recognition of the main factors causing resistance, the medicine use with no medical prescription by almost half of the participants at some point of their lives, was confirmed. In addition, a significant research volunteers rate used to disposal the drug in the common waste and were unaware about the legislation of the use and disposal of the medicines. Despite getting some information and knowledge about subject, the incorrect practice of community use and disposal of antibiotics has been a cultural habit. The effective change of this praxis might be possible through the integration of socio-economic, political and educational actions aiming not just information, but mainly perception and public awareness as transforming actions of antimicrobial resistance at contemporary ages.

Keywords: Antibiotics. Superbugs. Education and Health. University Education.

4.3. INTRODUÇÃO

A descoberta dos antimicrobianos trouxe muitos avanços para a Medicina Moderna, reduzindo drasticamente o índice de mortes por infecções bacterianas. Nas últimas décadas, a indústria farmacêutica investiu em inovação e produção de novos antimicrobianos, tornando-os populares e de fácil acesso às pessoas. No entanto, se por um lado os antimicrobianos apresentam significativa importância farmacológica para a humanidade, por outro podem favorecer a seleção e persistência de bactérias resistentes nos mais variados ambientes (O' NEILL, 2015; VENTOLA, 2015).

Nesse contexto insere-se a resistência antimicrobiana, um desafio para o mundo contemporâneo, pois embora represente um fenômeno natural, intrínseco às bactérias, é intensificada pelo uso e descarte inapropriados de antimicrobianos na saúde humana e animal, que contaminam ecossistemas através de resíduos de antimicrobianos, bactérias resistentes e genes de resistência a antimicrobianos (MACLNTOSH, 2018). Estima-se que em até 2050, se o quadro atual não mudar, poderá ocorrer mais mortes por resistência antimicrobiana do que doenças como o câncer (O'NEILL, 2016).

A ocorrência da resistência antimicrobiana não apresenta fronteiras e ocasiona impactos profundos no meio ambiente a partir da relação indissociável entre humanos, animais e ecossistemas. Essa consciência integradora reforça que os problemas decorrentes da emergência de bactérias resistentes devem ser compreendidos em uma perspectiva de Saúde Única e a divulgação de informações em relação à conduta correta sobre o uso e descarte de antimicrobianos possibilita a conscientização da população e, consequentemente, mudanças efetivas de hábitos e atitudes (MENDONÇA et al., 2020). Diante do exposto, o processo formativo nas instituições de ensino caracteriza um dos principais caminhos para a mudança do quadro atual de resistência aos antimicrobianos, pois contribui para o desenvolvimento de uma nova perspectiva ao se pensar em Educação e Saúde.

Nas instituições de ensino, onde a educação ali realizada é formalizada, garantida por lei e organizada de acordo com uma padronização nacional, as questões sobre saúde encontram espaço para diferentes abordagens metodológicas. Tais ambientes proporcionam a articulação de conhecimentos, atitudes, aptidões, comportamentos e práticas pessoais para serem aplicados e compartilhados com a sociedade. Nessa conjuntura, a Base Nacional Comum Curricular (BNCC), documento de caráter normativo que estabelece conhecimentos, competências e habilidades a serem desenvolvidos ao longo da escolaridade, menciona que a educação tem um compromisso com a formação e o desenvolvimento do ser humano em suas múltiplas dimensões, além de enfatizar o papel do conhecimento científico e tecnológico na saúde humana e ressaltar que a aprendizagem deve valorizar a aplicação dos conhecimentos na vida individual e coletiva, favorecendo o protagonismo do discente no enfrentamento de questões sobre a saúde e o ambiente (BRASIL, 2018).

Cabe ressaltar que o processo de ensino e aprendizagem em Saúde para garantir uma aprendizagem efetiva e transformadora de atitudes e hábitos de vida, seja na Educação Básica ou Superior, é um desafio. A Lei 9.394/96, Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional, Capítulo IV, artigo 43, VI, aborda como uma das finalidades da Educação Superior:

“estimular o conhecimento dos problemas do mundo presente, em particular os nacionais e regionais, prestar serviços especializados à comunidade e estabelecer com esta uma relação de reciprocidade.” (BRASIL, 1996)

Em síntese, considerando que a aprendizagem efetiva envolve o desenvolvimento crítico-reflexivo, tanto na construção do conhecimento como na formação de cidadãos conscientes para a prática em que se deseja transformar, o objetivo deste capítulo foi investigar o conhecimento prévio de estudantes do Ensino Superior da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em relação ao uso e descarte de antibióticos e a resistência antimicrobiana, a fim de demonstrar a relação entre o conhecimento adquirido e a conduta social sobre essa problemática.

4.4. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi desenvolvido em caráter quali-quantitativo. Inicialmente realizou-se uma busca por trabalhos acadêmicos publicados nos últimos 5 anos sobre uso e descarte de antibióticos, resistência antimicrobiana e Educação em Saúde, através do Google Acadêmico, Periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e *Scientific Electronic Library Online* (SCIELO). Os resultados da busca foram analisados por meio da leitura crítica dos textos para a construção do referencial teórico e a discussão dos dados obtidos com a pesquisa.

4.4.1. Universo Amostral e Sujeitos da Pesquisa

A pesquisa foi realizada na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), campus Seropédica, situada na BR 465, KM 7, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. O presente trabalho obteve parecer favorável do Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos da UFRRJ sob o número: 1358/19 de 22 de janeiro de 2020(Anexo 1). A Instituição foi convidada a participar com a divulgação da pesquisa ao público alvo, mediante Termo de Anuênciа (Anexo 2) e os voluntários, estudantes de Graduação e Pós-Graduação com 18 anos completos ou mais, mediante Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 3), disponível por meio de um *link* de acesso na primeira sessão do formulário eletrônico.

4.4.2. Instrumento e Método de Investigação

A fim de investigar o conhecimento prévio de estudantes de Graduação e Pós-graduação da UFRRJ foi aplicado um questionário eletrônico através do *Google Forms* composto por 19 questões objetivas em relação a antimicrobianos, uso e descarte de antimicrobianos e resistência antimicrobiana (Apêndice 1). As questões foram sistematizadas em dois conjuntos categoriais (BARDIN, p.160, 2011), sendo: i. Objeto da área social - Identificação do perfil acadêmico dos entrevistados (6 questões – 1 a 6); ii. Atributos quantitativos e qualitativos a partir de referenciais acadêmicos e comunitários - Conhecimento sobre resistência antimicrobiana e hábitos e atitudes em relação ao uso e descarte comunitário de antimicrobianos (13 questões – 7 a 19) (Quadro 1). O termo “antibiótico” ao invés de “antimicrobiano” foi utilizado no decorrer do processo investigativo, por ser mais reconhecido pelo senso comum.

Quadro 1. Conjuntos categoriais das abordagens investigativas do questionário eletrônico aplicado aos discentes da UFRRJ.

Abordagem	Categorização	Assunto abordado nas questões propostas
I	Objeto da área social (perfil acadêmico dos entrevistados)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Nível de curso superior em curso. 2. Instituição de Ensino a qual está vinculado. 3. Área de Conhecimento a qual o curso pertence. 4. Período que está cursando. 5. Mais de uma graduação concluída. 6. Temas relacionados à Microbiologia abordados no Curso Superior.
II	Atributos quantitativos e qualitativos a partir de referenciais acadêmicos e comunitários (Conhecimento sobre resistência antimicrobiana e hábitos e atitudes em relação ao uso e descarte comunitário de antimicrobianos).	<ol style="list-style-type: none"> 7. Conhecimento sobre o significado de antibióticos. 8. Situações em que os antibióticos devem ser prescritos. 9. Agentes aos quais os antibióticos podem ser utilizados para combater doenças. 10. Frequência de uso de antibióticos. 11. Utilização de antibióticos sem prescrição médica. 12. Descarte de antibióticos em condições de uso. 13. Descarte de antibióticos vencidos. 14. Legislação para descarte de medicamentos. 15. Conhecimento sobre o significado de resistência a antibióticos. 16. Fatores que causam resistência a antibióticos. 17. Já ouviu o termo superbactérias. 18. Fonte através da qual ouviu o termo superbactéria. 19. Conceituar o termo superbactéria.

A divulgação do questionário foi realizada por meio de Redes Sociais, como *Instagram*, *Facebook* e *Whatsapp*, grupos de Pesquisa, Ensino e Extensão da UFRRJ e através da plataforma online do Sistema Integrado de Gestão e Atividades Acadêmicas (SIGAA) da Universidade. O acesso para submissão de respostas foi de 3 meses, de novembro de 2020 a janeiro de 2021.

4.4.3. Análise de Dados

As respostas dos discentes ao questionário eletrônico foram tabuladas e filtradas através do programa Microsoft Excel e representadas graficamente através do *software* de *desing* gráfico Canva *For Education*. A análise quantitativa e qualitativa foi realizada com base na categorização dos dados como proposto pelo método de Bardin (2011), que constitui um conjunto de técnicas de análise para obter indicadores que permitam fazer inferências às condições de produção/recepção das mensagens emitidas.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.5.1. Abordagem I -Perfil Acadêmico dos Entrevistados

Participaram desta pesquisa 486 entrevistados do campus Seropédica, sendo 73% representados por estudantes de Graduação (355/486) e 27% por estudantes de Pós-graduação (131/486). Dentre os estudantes que preencheram o formulário, 63 possuíam mais de uma graduação concluída, que corresponde a 13% do total de entrevistados.

A UFRRJ é composta pelos campi Seropédica, Três Rios, Nova Iguaçu e Campos dos Goytacazes. Possui 13 Institutos de Ensino e Pesquisa, com 29.337 estudantes de matrícula ativa, sendo 27.300 estudantes de Graduação e 2.037 estudantes de Pós-Graduação (Catálogo Institucional UFRRJ, 2021). Em relação às Áreas de Conhecimento deliberadas pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a maioria dos participantes tem sua formação em Ciências Agrárias, que engloba os cursos de Agronomia, Engenharia Agrícola, Medicina Veterinária, Licenciatura em Ciências Agrícolas, Zootecnia, Engenharia Florestal e Licenciatura em Educação no Campo, e representam 37 % dos entrevistados (180/486). Em ordem decrescente os voluntários da área de Ciências Humanas representam 19,5 % (95/486) dos entrevistados, Ciências da Saúde, 11 % (53/486), Engenharias e Ciências Exatas e da Terra, com respectivamente 8,7 % (42/486), Ciências Sociais Aplicadas, 7,6 % (37/486), Multidisciplinar, 6,5 % (32/486), Linguística, Letras e Artes, 5,4 % (26/486) e Ciências Biológicas, 4,3 % (21/486) (**Figura 1**).

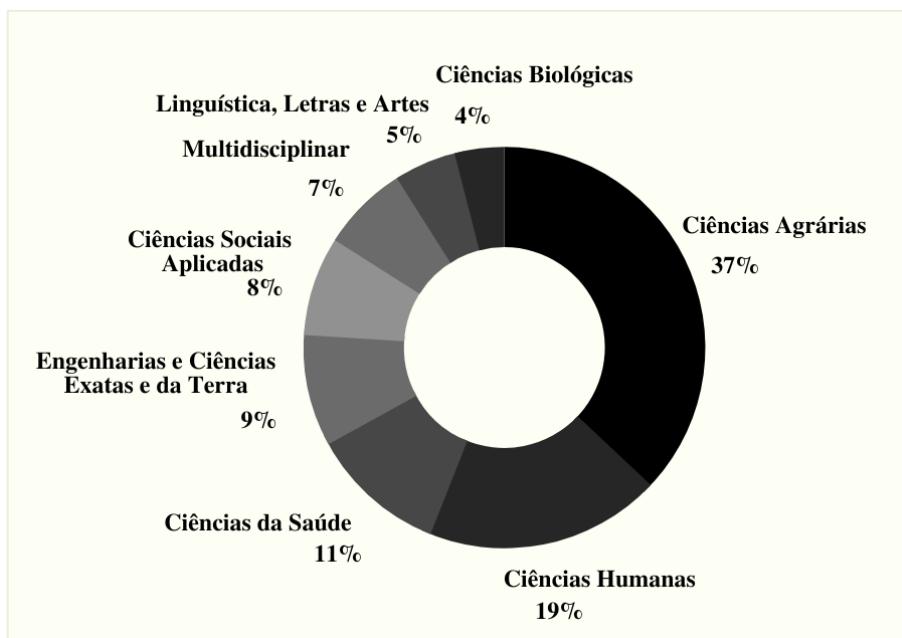


Figura 1. Atuação acadêmica dos participantes da pesquisa na UFRRJ, por Área de Conhecimento-CNPq.

O censo 2020 da Educação Superior, realizado pelo Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira – INEP demonstrou que os 10 cursos de maior representatividade nas universidades de todo o país estão relacionados às áreas de Ciências Humanas, Engenharias e Saúde com 146.628, 88.346 e 39.853 matrículas ativas, respectivamente (BRASIL, 2022). O perfil acadêmico dos participantes deste estudo aponta que, juntas, essas áreas representam 39,2% (148/486) do total de entrevistados. No entanto, a análise dissociada das áreas do conhecimento apresentou expressiva representatividade de discentes das Ciências Agrárias. Sugere-se que tal fato esteja relacionado ao perfil histórico e cultural da UFRRJ, que teve suas raízes na Escola Superior de Agricultura e Medicina Veterinária (ESAMV), criada em 20 de outubro de 1910 (Catálogo Institucional UFRRJ, 2021).

Os aspectos históricos e culturais fazem parte não somente de um processo social, são também reconhecidos como constituintes do pensamento e da ação humana. Dentro da perspectiva histórico-cultural, a cultura coletiva relaciona-se com a cultura individual e participa ativamente da constituição do sujeito psicológico que, por sua vez, influencia as diferentes formas de representatividade social (TUDGE; SCRIMSHER, 2002). A origem da UFRRJ faz parte da cultura coletiva da instituição na sociedade. Com isso, mesmo que a Universidade ofereça cursos em todas as áreas do conhecimento, o perfil acadêmico dos discentes ainda é fortemente representado pelo ensino de Agrárias.

A fim de compreender a relação existente entre os conhecimentos prévios dos discentes e o conhecimento adquirido formalmente na UFRRJ, foi realizada a seguinte abordagem: “Considerando os temas: Microrganismos, Bactérias Patogênicas, Resistência a Antibióticos, Antibióticos, *One Health*- Saúde Única e Uso e Descarte de Medicamentos, qual (is) já foram abordados em seu curso?”. Verificou-se que o assunto mais discutido em classe foi “Microrganismos”, com 25 %, seguido de “Bactérias Patogênicas”, 20 %, “Resistência a Antibióticos”, 18 %, “Antibióticos”, 17 %, “*One Health*- Saúde Única”, 11 % e, por fim, “Uso e Descarte de Medicamentos”, com apenas 9 % das respostas (**Figura 2**).



Figura 2. Temas relacionados à Microbiologia, de caráter interdisciplinar, abordados nos cursos de Graduação e Pós-graduação da UFRRJ.

Os temas priorizados nessa questão são considerados interdisciplinares por permearem diferentes áreas do saber, uma vez que o conhecimento acadêmico na contemporaneidade vem deixando de ser “fragmentado”. Nesse contexto, o processo de troca de saberes promovida pela multiplicidade de questionamentos, amplia a compreensão de questões transversais e favorece a interdisciplinaridade entre os diferentes objetos de conhecimento (RIOS et al., 2019).

O tema mais discutido nas aulas, independente da Área do Conhecimento dos entrevistados, foi “Microrganismos”. A Microbiologia envolve dois temas interconectados: o entendimento da natureza e funcionamento do mundo microbiano, e a aplicação do nosso entendimento acerca da Microbiologia para benefício da humanidade e do planeta Terra (MADIGAN et al., 2016). Devido à abrangência do tema, esse assunto pode ser abordado nos mais diversos tipos de aulas.

Posteriormente, os discentes apontaram “Bactérias Patogênicas”, “Resistência a Antibióticos” e “Antibióticos”, com respectivamente 20 %, 18 % e 17 % de indicações, como objetos de conhecimento referidos ao longo do curso. O intervalo ≤ 2 % entre as respostas sugere que a abordagem dos temas ocorreu de forma integrativa durante as aulas. De fato, diversos artigos científicos e de divulgação científica apresentam o assunto relacionando-o a circunstâncias de causa e efeito, onde a questão do uso de antimicrobianos no tratamento de infecções causadas por bactérias patogênicas está intrinsecamente relacionada à resistência antimicrobiana. Nesse sentido, cabe ressaltar que os textos direcionados a um público não especializado em uma determinada área de conhecimento destacam-se dos outros recursos de caráter científico, pois favorecem uma aprendizagem significativa de conceitos e estabelecem relações profundas com a temática principal (ROCHA, 2012).

O tema “*One Health – Saúde Única*” foi apontado por 11 % dos entrevistados. A Saúde Única encontra-se inserida em um contexto que visa projetar e implementar programas, políticas, legislação e pesquisa, nas quais vários setores se comunicam e trabalham juntos para alcançar melhores resultados de saúde pública (WHO, 2017). Logo, as discussões em Saúde Única perpassam pela tríade Homem, Animal e Meio Ambiente, e deve encontrar espaço na Universidade, um ambiente de caráter multidimensional, pautado em três pilares fundamentais: ensino, pesquisa e extensão. A indissociabilidade desses três elementos no Ensino Superior possui grande relevância para a formação acadêmica e favorece a socialização dos saberes em diversos cenários (SOUZA et al., 2017).

Em relação ao “Uso e Descarte de Medicamentos”, apenas 9% dos entrevistados relataram a menção desse assunto em aula. O uso irracional de medicamentos e o abandono do tratamento contribuem de forma significativa para o acúmulo de grande quantidade de fármacos nos domicílios, os quais posteriormente podem ser descartados em locais inadequados e ocasionar impactos para a saúde humana e animal, como pressão de seleção sob bactérias patogênicas e contaminação ambiental (OLIVEIRA, TAKETANI, 2020). Nesse contexto, a conscientização representa o principal caminho para a mudança da resistência antimicrobiana em projeções futuras, além de fazer parte do ensino e aprendizagem nas Instituições de Ensino Superior, uma vez que os discentes desempenham um papel social fundamental nesse processo.

4.5.2. Abordagem II - Conhecimento sobre Resistência Antimicrobiana e Hábitos e Atitudes em Relação ao Uso e Descarte Comunitário de Antibióticos

A análise dos atributos quantitativos e qualitativos do conhecimento dos discentes em relação à resistência antimicrobiana, temas correlatos (antimicrobianos e bactérias resistentes) e práticas comunitárias sobre uso e descarte de antimicrobianos, foi realizada em etapas

sequenciais e complementares com as palavras-chaves: antibióticos, superbactérias e resistência antimicrobiana, respectivamente (**Figura 3**). Os antimicrobianos são substâncias químicas de origem natural (antibióticos) ou sintética (quimioterápico), que podem atuar como bactericidas e bacteriostáticos. Os bactericidas matam bactérias e os bacteriostáticos inibem o desenvolvimento e multiplicação bacteriana (WALSH, 2003). No entanto, para evitar dúvidas em relação ao significado das terminologias “antibiótico” e “antimicrobiano”, e expressar com mais autenticidade o conhecimento dos entrevistados, optou-se pelo termo antibiótico, frequentemente reconhecido e compreendido pela linguagem popular. Do contrário, os resultados da pesquisa poderiam refletir a incompREENSÃO da linguagem mais do que a aprendizagem dos discentes quanto ao temaproposto.

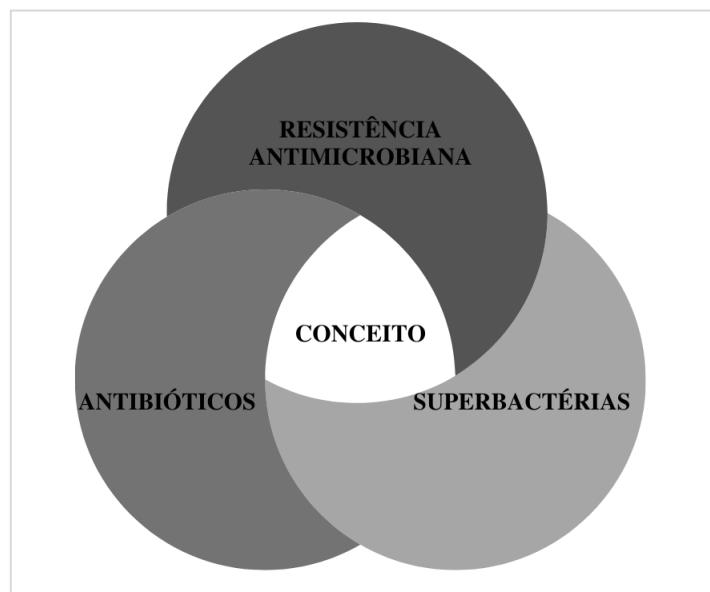


Figura 3. Diagrama de Venn das etapas que compõe a análise dos atributos quantitativos e qualitativos com indicativo das palavras-chaves: antibióticos, superbactérias e resistência antimicrobiana.

A descrição analítica dos significados - análise temática, com base nas palavras-chaves, de acordo com Bardin, 2011, demonstrou que a maioria dos entrevistados, 90 % (437/486) sabe o que é um antibiótico. Geralmente, emprega-se o termo antibiótico, originário do grego “*anti*” (contra) e “*bio*” (vida), para definir as substâncias químicas produzidas por bactérias de forma natural, capazes de inibir ou matar outras bactérias (WALSH, 2003). Posteriormente, ao serem questionados quanto à eficácia do uso de antibióticos no tratamento de doenças causadas por bactérias, fungos, protozoários e vírus, 22 % (107/486) dos participantes acreditam na ação farmacológica do medicamento em doenças parasitárias e virais. Esses dados mostram associação com as respostas à questão: “Em qual (is) situações você acha que os antibióticos devem ser prescritos?” Embora grande parte dos participantes tenha assinalado que o antibiótico deve ser administrado “ao pegar uma infecção bacteriana” (477 respostas), 51 respostas recomendaram seu uso para tratar sintomas e doenças associadas à gripe e resfriado (**Figura 4**).

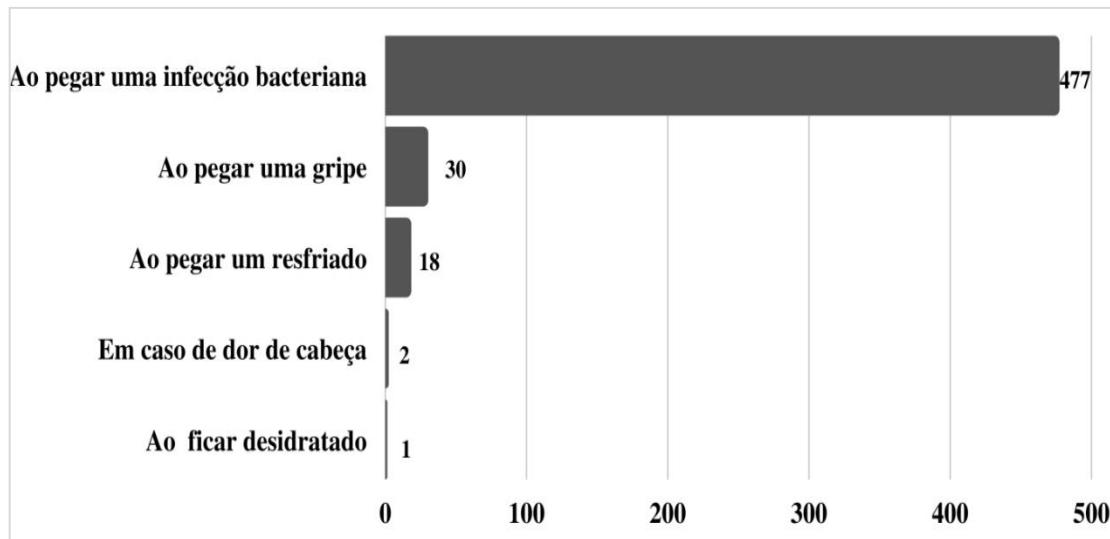


Figura 4. Doenças e sintomas relacionados/não relacionados à prescrição de antibióticos.

A frequência de uso de antibióticos foi baixa entre os voluntários da pesquisa, sendo raramente utilizados pela maioria, 79 % (382/486). Ainda assim, o emprego de antibióticos sem receituário médico foi confirmado por 44 % (214/486) dos participantes em algum momento da vida. A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 471, de 23 de fevereiro de 2021, que dispõe sobre os critérios para a prescrição, dispensação, controle, embalagem e rotulagem de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos, institui no Capítulo IV que a venda desse tipo de medicamento deve ser formalizada mediante receituário médico, com retenção da 2^a via da receita, devendo a dispensação de antimicrobianos atender essencialmente ao tratamento prescrito (BRASIL, 2021). No entanto, ao considerar a fala dos entrevistados, percebe-se que ainda existem farmácias que vendem antibióticos sem prescrição, infringindo a atual Legislação. Outro ponto importante a ser considerado é que muitos pacientes interrompem tratamentos com antibióticos precocemente, por julgarem que a infecção cessou quando os sintomas estão amenizados, e guardam as sobras desses medicamentos para utilizarem outro momento (O' NEILL, 2016; OPAS, 2016). Essas situações enfatizam a importância da conscientização quanto ao uso racional de antimicrobianos, e deve ser exercida com a participação ativa das Instituições de Ensino Superior através de programas de extensão que envolva a comunidade. Cabe ressaltar que a participação das esferas governamentais e das indústrias farmacêuticas também é imprescindível nesse processo.

Em relação aos hábitos e atitudes quanto ao descarte comunitário desses medicamentos, 64 % (310/486) dos entrevistados disseram destinar as sobras de antibióticos vencidos, bem como as embalagens do produto no lixo comum e apenas 17 % (85/486) encaminham adequadamente a um posto de coleta (**Figura 5**).

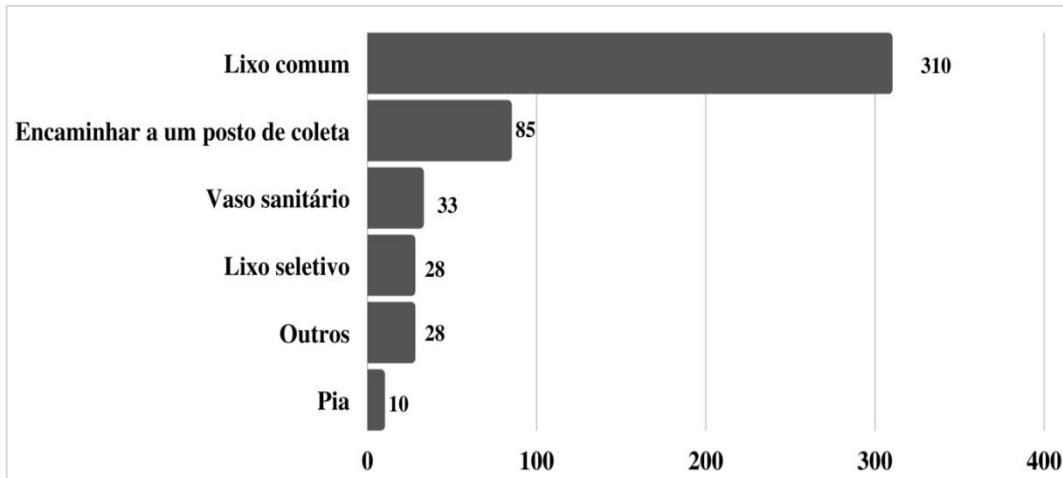


Figura 5. Hábitos e atitudes quanto ao descarte comunitário de antibióticos como prazo de validade vencido.

Quando não descartados, ainda no prazo de validade, a maioria prefere guardar os antibióticos para uso familiar (305/486) ou doar (23/486). Ambos apresentam riscos de automedicação, pois o fácil acesso é o fator primordial para uso irregular (OPAS, 2016).

O descarte comunitário inadequado de antibióticos, segundo os dados desta pesquisa, pode estar associado à falta de conhecimento sobre a Legislação que trata do descarte de medicamentos, uma vez que apenas 39 % dos entrevistados disseram saber da existência dessa Lei. A Lei que institui a Política Nacional dos Resíduos Sólidos, nº 12.305 de 2 de agosto de 2010, no art. 3º, parágrafo XII, apresenta como logística reversa o instrumento de desenvolvimento econômico e social caracterizado por um conjunto de ações, procedimentos e meios destinados a viabilizar a coleta e a restituição dos resíduos sólidos ao setor empresarial para destinação final ambientalmente adequada (BRASIL, 2010). O Decreto nº 10.388, de 05 de junho de 2020, que regulamenta o § 1º do caput do art. 33 da Lei mencionada, institui o sistema de logística reversa de medicamentos domiciliares vencidos ou em desuso, de uso humano, industrializados e manipulados, e de suas embalagens após o descarte pelos consumidores. No art. 7, o presente decreto aborda a importância da elaboração de um plano de comunicação com o objetivo de divulgar o sistema de logística reversa supracitada e qualificar formadores de opinião, lideranças de entidades, associações e gestores municipais com vistas a apoiar a sua ampla implementação (BRASIL, 2020).

Muitas pessoas desconhecem o funcionamento da logística reversa de medicamentos às empresas farmacêuticas. Ainda no ambiente domiciliar, o manuseio correto dessas substâncias e/ou embalagens deve ser realizado através do acondicionamento em sacos ou recipientes que evitem vazamentos, com identificação do conteúdo. Posteriormente esse material é direcionado a um posto de coleta primário, geralmente farmácias ou drogarias. A partir daí são transportados ao local de tratamento apropriado, para não causar danos ambientais. Cabe ressaltar que os fármacos antimicrobianos residuais são considerados contaminantes emergentes e uma vez no ambiente, o destino e o comportamento dessas substâncias podem influenciar uma variedade de fatores, como a disseminação de bactérias resistentes (STYSZKO et al., 2020).

Quanto ao conhecimento dos entrevistados sobre bactérias resistentes a antibióticos, foi solicitado que conceituassem o termo “superbactérias”, e a maioria, 96 % (467/486), respondeu corretamente como sendo bactérias resistentes a vários antibióticos. Ouvir falar sobre superbactérias tornou-se algo bastante comum. Em um primeiro momento o tema ganhou destaque nos ambientes hospitalares, onde o uso de antibióticos é mais intenso e há maior recorrência de transmissão de bactérias (VENTOLA, 2015). Embora esses ambientes estejam fortemente relacionados à ocorrência de infecções graves e disseminação de bactérias resistentes, atualmente as abordagens realizadas através das Tecnologias de Informação e Comunicação (TICs) mencionam a associação de superbactérias a indivíduos saudáveis da comunidade, animais, alimentos e meio ambiente (OLIVEIRA; PINTO, 2018).

Com o intuito de compreender como os discentes da UFRRJ obtinham informação sobre microrganismos multirresistentes, foi solicitada a indicação das fontes de acesso - sociais e midiáticas. Os meios mais apontados foram os sites de pesquisas na internet, televisão, aulas na universidade, conversas informais, redes sociais e jornais e revistas impressos (**Figura 6**). Esse resultado corrobora com o fato de que o tema, devido à sua importância e repercussão global, encontra-se veiculado às diversas mídias de comunicação e meio acadêmico, para facilitar a disseminação da informação e apropriação do conhecimento.

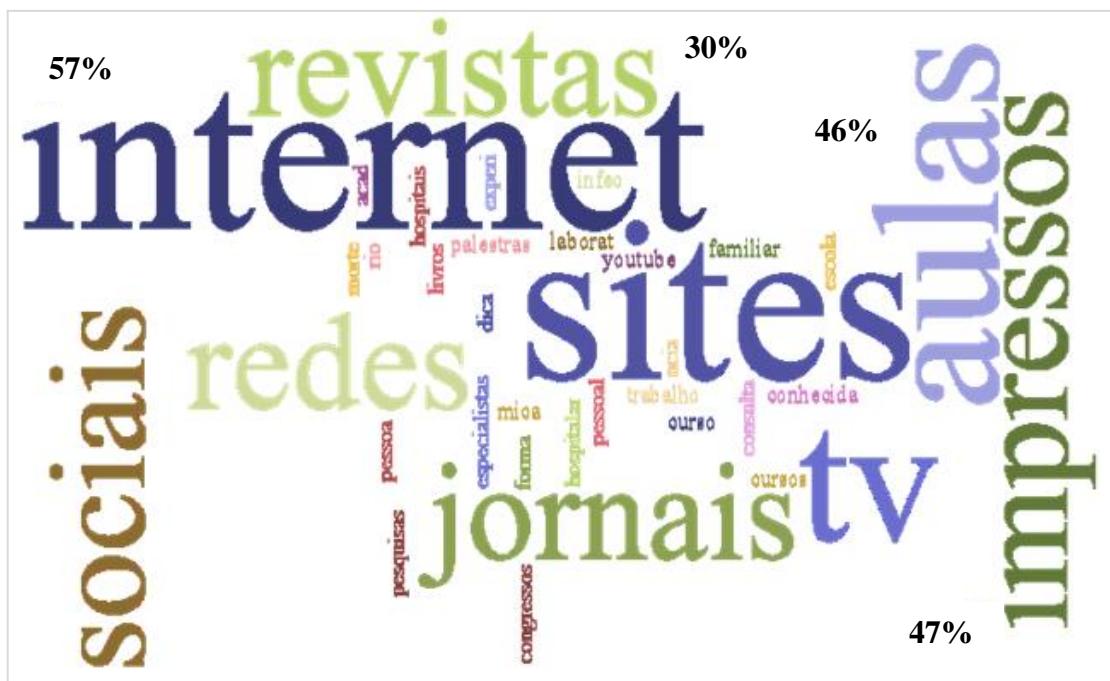


Figura 6. Nuvem de palavras com indicativo de fontes de informação sobre superbactérias.

Nos últimos anos a sociedade tem se adaptado à utilização de diferentes tecnologias como instrumento de divulgação e ensino. O desenvolvimento da internet e o crescimento acelerado das redes sociais permitiram o aparecimento de várias plataformas de comunicação. Além disso, jornais, revistas e programas de televisão, fazem parte do cotidiano das pessoas em diferentes esferas de atuação, como trabalho, educação e saúde. Nesse contexto, as mídias representam uma ferramenta eficaz para a difusão de informação. Outro aspecto relevante é a divulgação científica, em síntese, à popularização da Ciência. Pressupõe-se que um dos

principais propósitos da divulgação científica é tornar acessível e compreensível ao público, o conhecimento científico antes restrito ao meio acadêmico, que pode ser não somente interessante, mas útil a diversos âmbitos da vida (LIMA et. al., 2021).

Nesse cenário, em que o papel social do ser humano encontra-se veiculado à Educação e a Ciência, investigar o conhecimento prévio dos discentes sobre a resistência antimicrobiana e os fatores que causam a resistência pode auxiliar no desenvolvimento de estratégias pedagógicas que favoreçam a reconstrução desse conhecimento. Em relação a essa abordagem, os resultados demonstraram que a grande maioria dos participantes comprehende o que significa resistência a antibióticos 88 % (430/486).

Conceituada como “a capacidade de um microrganismo inibir a atuação de um antimicrobiano, garantindo a proliferação da sua linhagem”, a resistência antimicrobiana é um fenômeno natural, em que bactérias produtoras de substâncias antibióticas carregam segmentos gênicos inseridos em frações genômicas relacionadas à biossíntese dessas moléculas, como uma forma de evitar a auto-intoxicação e a própria morte (WHO, 2014). Há um grande consenso de que os genes de resistência antimicrobiana são tão antigos quanto às próprias moléculas antibióticas, pois os organismos produtores se equiparam destes genes para sua autoproteção (NOBRE, 2019).

Embora a resistência antimicrobiana seja um processo natural, que pode ocorrer sem que a bactéria tenha um contato prévio com o medicamento, alguns fatores podem intensificar a seleção de bactérias resistentes a antibióticos. A pergunta “Qual (is) dos fatores abaixo pode causar resistência a antibióticos?” apresentou 96 % de resposta correta ao colocar o uso de antibióticos sem prescrição médica e o término antecipado do tratamento com antibióticos como os principais riscos para a resistência. Os 4 % restantes nos remete ao mesmo questionamento sobre a aplicação do antibiótico para tratamento de infecção não bacteriana, pois mencionam o uso de anti-inflamatórios, analgésicos e vacinação contra doenças bacterianas como fatores desencadeadores da resistência antimicrobiana (**Figura 7**).

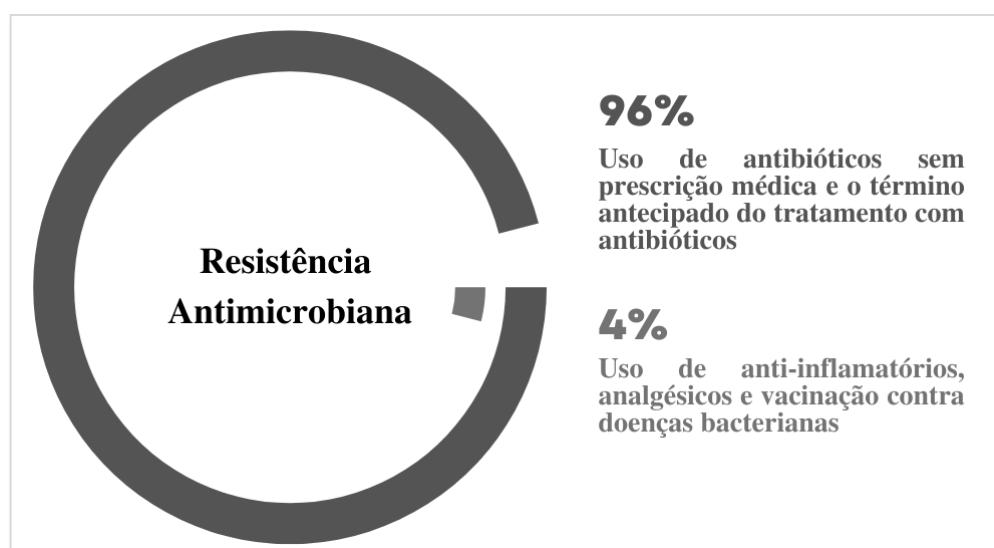


Figura 7. Fatores relacionados/não relacionados à resistência antimicrobiana.

Ainda que a maioria dos participantes desta pesquisa reconheça que a automedicação e a falta de adesão ao tratamento clínico favoreçam a ocorrência e disseminação da resistência antimicrobiana, 44 % admitiram já ter feito uso de antibióticos sem prescrição médica e 63 % guardam as sobras para reutilização, o que evidência tanto o término antecipado do tratamento quanto a venda inadequada do medicamento.

Sabe-se que ações governamentais brasileiras foram implantadas com o intuito de minimizar a automedicação e prevenir possíveis surtos de resistência antimicrobiana na população, como a restrição da venda de antibióticos, que somente pode ser realizada com prescrição médica e retenção da receita, segundo a Resolução da Diretoria Colegiada, RDC 44/2010 e 22/2011 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2011). No entanto, outras medidas se fazem necessárias, como a venda da quantidade exata do medicamento que corresponda à duração do tratamento. É fato que houve um avanço nessa questão, mas ainda não é o ideal. A Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 80, de 11 de maio de 2006, deliberada pela ANVISA, trata no artigo 1º que “as farmácias e drogarias poderão fracionar medicamentos a partir de embalagens especialmente desenvolvidas para essa finalidade de modo que possam ser dispensados em quantidades individualizadas para atender às necessidades terapêuticas dos consumidores e usuários desses produtos, desde que garantidas às características asseguradas no produto original registrado e observadas às condições técnicas e operacionais estabelecidas nesta resolução”. Todavia, poucos antimicrobianos se enquadram a essa possibilidade de venda, por não possuírem registro de fracionamento na ANVISA (ANVISA, 2022; BRASIL, 2006). A divulgação e a extensão da venda fracionada para um número maior de medicamentos ocasionariam redução no descarte, além de minimizar o custo na obtenção desses fármacos.

Assim sendo, é possível inferir que os problemas decorrentes da resistência antimicrobiana estão relacionados ao contexto sócio-econômico, político, cultural e tecnológico vigentes, e que apenas a apropriação de conhecimentos teóricos, como demonstrado pela maioria dos discentes da UFRRJ, não promove as mudanças necessárias para atenuar o quadro de resistência atual, como uso consciente e descarte apropriado de medicamentos. Para isso, a teoria e a prática devem ser indissociáveis em todo processo formativo, a fim de resultarem na práxis, uma ação efetiva, crítica e filosófica da atividade prática humana, a partir de uma consciência integradora entre reflexão, ação e transformação (VÁSQUEZ, 2011).

4.6 CONCLUSÕES

A maioria dos participantes comprehende o fenômeno da resistência a antibióticos e da existência de superbactérias. Além disso, possuem conhecimento de que os principais fatores que podem levar ao aumento da resistência antimicrobiana são o uso indiscriminado de antibióticos e o término antecipado do tratamento. Porém, mesmo tendo acesso a informações sobre o assunto e reconhecendo os principais fatores que levam a resistência, o uso do fármaco sem prescrição médica foi confirmado por quase metade dos entrevistados em algum momento da vida.

Após o tratamento com antibióticos, o problema existente é a falta de informação sobre o descarte adequado dessas substâncias. Grande parte dos participantes destina embalagens com resíduos e sobras de medicamentos no lixo comum ou recorre a outros tipos de descarte, comoseletivo e esgoto doméstico. Este é um fato preocupante, pois o uso e descarte incorreto ocasionam graves impactos para a saúde humana, ambiental e animal, com pressão de seleção sob bactérias ambientais que pode culminar com a disseminação de determinantes de resistência no ambiente e transferência de genes de resistência para bactérias comensais e patogênicas de humanos e animais. Nesse sentido, faz-se necessária a ampla divulgação da legislação sobre o descarte de medicamentos, indicando os locais de referência para coleta do material, pois poucos voluntários demonstraram ter conhecimento sobre o descarte adequado de medicamentos.

Além disso, essa pesquisa demonstrou que a prática incorreta do uso e descarte comunitário de antibióticos é um hábito cultural, e que a mudança dessa práxis se faz possível através da integração de ações políticas, sócio-econômicas e educativas, que visem o favorecimento da percepção e conscientização da população sobre a resistência antimicrobiana. Nesse processo, as instituições formais de Ensino Superior devem proporcionar o desenvolvimento de competências e habilidades, que favoreçam a formação de sujeitos capazes de influenciar mudanças que tenham repercussão em sua vida pessoal, na qualidade de vida da sociedade e do ambiente.

4.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta de medicamentos. Disponível em:<<https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/>> Acesso em: 5 set. 2022.

BARDIN, L. Análise de conteúdo. 5a Ed. Lisboa: Edições 70, 2011.

BRASIL, Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira (Inep). **Resumo técnico: Censo da Educação Superior 2020.** Brasília, DF: Inep, 2022.

BRASIL, Ministério da Saúde – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada nº471**, de 23 de fevereiro de 2021. Disponível em:<<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-471-de-23-de-fevereiro-de-2021-304923190>> Acesso em 15 de dez 2021.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Política Nacional de Resíduos Sólidos, Decreto nº 10.388, de 05 de junho de 2020. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, DF, Seção1, 2020.

BRASIL, Ministério da Educação. **Base Nacional Comum Curricular (BNCC)**. Portaria nº 1.570, de 20 de dezembro de 2017. Disponível em:<http://basenacionalcomum.mec.gov.br/wpcontent/uploads/2018/06/BNCC_EI_EF_1105_18_versaofinal_site.pdf> Acesso em 30 jan 2019.

BRASIL, Ministério da Educação. **Lei nº 9.394, de 20 de dezembro de 1996. Estabelece as diretrizes e bases da educação nacional.** Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9394.htm> Acesso em 14 de ago 2018.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Política Nacional de Resíduos Sólidos, Lei nº 12305, de 02 de agosto de 2010. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, DF, Seção 1, 2010.

BRASIL, Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada nº 80, de 11 de maio de 2006. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, DF, Seção 1, 2006.

LIMA, M.A.G.; MENDES, L.S.F.; MACHADO, A. L. L. B.; FREITAS, M. C.; SANTOS, T. R.; BEZERRA, A. D. C.; GOMES, F. T. B.; FEITOSA, K.C.S.; NASCIMENTO, C. E. M.; MARÇAL, M. E. A.; SILVA, V. C.; SILVA FILHO, L. S. Impacto das Mídias Sociais nas Ações de Educação em Saúde para a População. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 10, n. 2, p. e10810212231, 2021.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BERDEN, K. S.; BUCKEY, D. H.; STAHL, D. A. Microbiologia de Brock. 14º ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MACLINTOSH, J. Antibiotic resistance: what you need to know. **Medical News Today**, 2018.

MENDONÇA A.; VARELA JUNIOR, A. S.; PEREIRA, K. C. A. F.; SANTOS, T. S.; PEGORARO, J. S.; ZIMERMANN, E. A.; CORCINI, C. D. Conhecimento a respeito de resistência bacteriana e hábitos de utilização de antimicrobianos em uma população no sul do Brasil. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 2, p.5931-5947, 2020.

NOBRE, D. S. M. Percepção das buiatras sobre o impacto do emprego de antibióticos em bovinos leiteiros no Estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado. **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP**, São Paulo, 2019.

OLIVEIRA, L. M. A; PINTO, T. C. A. Resistência a Antibióticos e as Superbactérias. **Revista ComCiência**. Junho. 2018.

OLIVEIRA, B. A. D.; TAKETANI, N. F. A Ausência do Poder Público no Descarte Doméstico de Medicamentos. **Ensaios USF**, v. 4, n. 1, p. 25–42, 2020. Disponível em: <<https://ensaios.usf.emnuvens.com.br/ensaios/article/view/151>> Acesso em: 15 dez. 2021.

O’NEILL, J. Antimicrobials in agriculture and the environment: reducing unnecessary use and waste. The Review on Antimicrobial Resistance, 2015.

O’NEILL J., “The Review on Antimicrobial Resistance. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations”. Reino Unido, 2016.

Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS). Uso racional de medicamentos: fundamentação em condutas terapêuticas e nos macroprocessos da assistência farmacêutica - **Organização Pan-americana de Saúde/Organização Mundial de Saúde**; Boletim Informativo 1 (12), Brasília, 2016.

RIOS, D. R. S.; SOUSA, D. A. B.; CAPUTO, M. C. Diálogos interprofissionais e interdisciplinares na prática extensionista: o caminho para a inserção do conceito ampliado de saúde na formação acadêmica. **Interface, Comunicação, Saúde e Educação** 23: e180080, 2019.

ROCHA, Marcelo Borges. O potencial didático dos textos de divulgação científica segundo professores de ciências. **Revista Brasileira de Ensino de Ciência e Tecnologia**, v. 5, n. 2, 2012.

SOUSA, A. J.; CARNEIRO, S. R. O.; ROCHA, V. O. Extensão universitária na UFRB - UFRB, 2017.

STYSZKO, K.; PROCTOR, K.; CASTRIGNANÒ, E.; HORDERN, B. K. Occurrence of pharmaceutical residues, personal care products, lifestyle chemicals, illicit drugs and metabolites in wastewater and receiving surface waters of Krakow agglomeration in South Poland. **Science of the Total Environment**, v. 768, 2020.

TUDGE, J.; SCRIMSHER, S. Lev S. Vygotsky on Education: A Cultural-Historical, Interpersonal, and Individual Approach to Development. In ZIMMERMAN, B. J.; SCHUNK, D. H. **Educational Psychology: A Century of Contributions**, Routledge, 1st ed, p. 22, 2002.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO. **Catálogo Institucional – 2021**. Disponível em: <<https://institucional.ufrj.br/ccs/catalogo-institucional-2021/>> Acesso em 25 de outubro de 2021.

VÁZQUEZ, A. S. Filosofia da Práxis. **Expressão Popular. Clasco.** 2. ed. Rio de Janeiro, 2011.

VENTOLA, C. L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. **Pharmacy and Therapeutics**, v. 40, n. 4, p. 277, 2015.

WALSH, C. Antibiotics: actions, origins, resistance. **American Society for Microbiology**.p. 3, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION –WHO “**One Health**”, 2017. Disponível em:<<https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/one-health>> Acesso em: 15 dez 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO “**Antimicrobial resistance: global report on surveillance**”, 2014.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os antimicrobianos têm sido frequentemente utilizados de forma inadequada na saúde humana e animal. Tal prática favorece o aparecimento de microrganismos resistentes, que persistem e disseminam em variados ambientes, representando um sério risco por reduzirem as opções de fármacos efetivos no tratamento de infecções. Nesse contexto, a resistência antimicrobiana torna-se um desafio para o mundo contemporâneo e a conscientização da população pode representar uma ação eficaz no combate a essa problemática. Este trabalho buscou investigar a percepção e o conhecimento dos estudantes do Ensino Superior sobre antimicrobianos e resistência antimicrobiana, bem como a conduta quanto ao uso e descarte de antimicrobianos. Foi possível verificar que, embora a maioria dos entrevistados reconheça o que são antimicrobianos e os fatores que causam a resistência antimicrobiana, a maioria já fez uso inadequado desses fármacos. Além disso, embora seja alunos com diferentes formas de acesso a informação, a maioria desconhece a legislação sobre descarte de medicamentos, o que reforça a importância da conscientização em diferentes esferas sociais.

Outra questão relevante abordada neste estudo versa sobre a utilização de antimicrobianos em sistemas de produção avícola. O Brasil está no *ranking* de países que mais produzem e exportam carne de frango. A busca por máxima produtividade no setor relaciona-se ao uso de antimicrobianos como aditivos zootécnicos. Ao comparar dois sistemas de manejos diferentes para a criação de aves (orgânico e convencional), verificou-se que a mudança na composição microbiana em camas de aviário pode estar relacionada ao uso de antimicrobianos em sistemas intensivos de produção e que a compostagem pode não ter sido eficiente na eliminação de todos os grupos bacterianos, embora também tenha atuado modificando a carga microbiológica desses materiais. Nesse sentido, estudos posteriores que avaliem a presença de determinantes de resistência a antimicrobianos nesses materiais são extremamente relevantes, uma vez que o destino ambientalmente correto desses resíduos é a utilização como fertilizantes orgânicos em sistemas agrícolas.

Cabe ressaltar que a conscientização quanto ao uso e descarte adequado de antimicrobianos deve ser tratada em uma perspectiva *One Health*, onde a saúde humana, animal e ambiental estão intimamente conectadas no sentido de combater a intensificação da resistência antimicrobiana, um problema de saúde pública global.

6. APÊNDICES

Apêndice 1: Questionário eletrônico



Resistência antimicrobiana: uma preocupação global que chega às instituições de ensino?

Prezado Estudante,

Você está sendo convidado a participar voluntariamente do trabalho: "RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA: UMA PREOCUPAÇÃO GLOBAL QUE CHEGA ÀS INSTITUIÇÕES DE ENSINO?", cujo objetivo é investigar o conhecimento de estudantes sobre a resistência antimicrobiana e favorecer a conscientização quanto ao uso e descarte de antimicrobianos.

Esse trabalho contribuirá para minha tese de doutorado que está sendo desenvolvido sob orientação da Drª Irene Coelho (PPGCTIA-UFRRJ).

Neste sentido, gostaria de contar com a sua participação! No link abaixo está disponível o termo de assentimento para maiores esclarecimentos.

Atenciosamente,
Danielli M. Bertholoto

<https://www.dropbox.com/s/18zot4p2rromlre/Termo%20de%20assentimento.pdf?dl=0>

*Obrigatório

Endereço de e-mail *

Seu e-mail _____

Tenho 18 anos ou mais, e após ler o Termo de Assentimento em versão eletrônica, declaro que: *

Concordo em participar da pesquisa
 Não concordo em participar da pesquisa

Próxima

Nunca envie senhas pelo Formulários Google.

Este conteúdo não foi criado nem aprovado pelo Google. Denunciar abuso - Termos de Serviço - Política de



Resistência antimicrobiana: uma preocupação global que chega às instituições de ensino?



*Obrigatório

Resistência antimicrobiana: uma preocupação global que chega às instituições de ensino?

Nível de curso superior que está cursando *

- Graduação
- Pós graduação Latu Senso
- Pós graduação Stricto Senso - Mestrado
- Pós graduação Stricto Senso - Doutorado

Instituição de ensino a qual está vinculado *

- UFRRJ
- Outro: _____

Seu curso pertence a qual área de conhecimento? *

- Ciências Agrárias
- Ciências Exatas e da Terra
- Ciências Biológicas
- Ciências da Saúde
- Ciências Sociais Aplicadas
- Ciências Humanas
- Engenharias
- Linguística, Letras e Artes
- Multidisciplinar
- Outro: _____

Qual período está cursando? *

Sua resposta

Possui mais de uma graduação concluída? *

- Sim
- Não

Considerando os temas abaixo, quais já foram abordados em seu curso? *

- Microrganismos
- Bactérias Patogênicas
- Antibióticos
- Resistência a antibióticos
- Uso e descarte de medicamentos
- Saúde Única (One Health)
- Nenhum dos temas anteriores

1- Você sabe o que são antibióticos? *

- Sim
- Não

2- Os antibióticos podem ser utilizados para combater doenças causadas por: *

- Vírus
- Fungos
- Bactérias
- Protozoários

3- Em qual (is) situação(ões) você acha que os antibióticos devem ser prescritos? *

- Ao pegar um resfriado
- Ao pegar uma gripe
- Ao pegar uma infecção bacteriana
- Ao ficar desidratado
- Em caso de dor de cabeça

4- Com que frequência você utiliza antibióticos? *

- Sempre
- Às vezes
- Raramente
- Nunca

5- Você já usou antibióticos sem prescrição médica? *

- Sim
- Não

6- Como você destina sobras de antibióticos em condições de uso? *

- Guarda para uso familiar
- Doa
- Descarta
- Outro: _____

7- Como você destina antibióticos com prazo de validade vencido? *

- Lixo comum
- Lixo seletivo
- Vaso sanitário
- Pia
- Encaminha a um posto de coleta (ex.farmácia local)
- Outro: _____

8- Tem conhecimento de que há legislação para descarte correto de medicamentos? *

- Sim
- Não

9- Você sabe o que é resistência a antibióticos? *

- Sim
- Não

Qual (is) dos fatores abaixo pode causar resistência a antibióticos?

- Uso de antibióticos sem prescrição médica
- Uso de anti-inflamatórios
- Uso de analgésicos
- Término antecipado do tratamento com antibióticos
- Vacinação contra doenças bacterianas

10- Você já ouviu falar em superbactérias? *

- Sim
- Não

Qual a fonte?

- TV
- Sites de pesquisa na Internet
- Jornais e/ ou revistas impressos
- Durante as aulas, na Universidade
- Conversa informal
- Redes sociais
- Outro: _____

11- O que você entende como Superbactérias? *

- São bactérias mais patogênicas
- São bactérias resistentes a vários antibióticos
- Desconheço e portanto, não irei opinar

Uma cópia das suas respostas será enviada para o endereço de e-mail fornecido

[Voltar](#)

[Enviar](#)

[Limpar formulário](#)

Nunca envie senhas pelo Formulários Google.



Este conteúdo não foi criado nem aprovado pelo Google. [Denunciar abuso](#) - [Termos de Serviço](#) - [Política de Privacidade](#)

Google Formulários

7. ANEXOS

Anexo 1: Parecer de aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética da UFRRJ



Anexo 2: Termo de Anuênciâa da Instituição da pesquisa



TERMO DE ANUÊNCIA

Solicitamos vossa participação, de forma colaborativa, através da divulgação do trabalho intitulado: "Resistência antimicrobiana: uma preocupação global que chega às Instituições de Ensino?" junto aos estudantes de Graduação e Pós-Graduação desta instituição.

Esse trabalho está relacionado ao estudo sobre a resistência aos antimicrobianos, com o objetivo de investigar o conhecimento de estudantes da Educação Básica e da Educação Superior em relação à resistência antimicrobiana, além de favorecer a percepção e conscientização de estudantes do Ensino Médio quanto ao uso e descarte de antimicrobianos, incluindo os fatores de resistência e seus impactos na saúde pública e no ambiente.

Para o desenvolvimento desse trabalho, será aplicado um questionário eletrônico aos estudantes de Graduação e Pós-Graduação desta instituição com o intuito de verificar seus conhecimentos prévios a cerca do tema proposto. O questionário não será utilizado como forma de avaliação, não sendo, portanto, atribuído nenhum tipo de pontuação.

Embora não existam riscos previsíveis para participação nesse trabalho, que será realizado por meio eletrônico, os estudantes que sentirem algum tipo de constrangimento, emocional ou não, mesmo que mínimo, podem em qualquer momento retirar o consentimento da sua participação, sem qualquer prejuízo pessoal e sem lhe acarretar custos ou danos. Ao aceitar participar reiteramos que os nomes dos voluntários, bem como as informações desta instituição não serão, sob qualquer circunstância, divulgados em nenhum documento relacionado a esse trabalho, tendo garantido o sigilo de seus dados. Não haverá compensação alguma, seja ela financeira ou não, pela sua participação nesse trabalho.

Esse trabalho contribuirá para a tese de doutorado da discente Danielli Monsores Bertholoto, vinculada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Esse termo deve ser rubricado em todas as páginas, em duas vias. Uma via ficará em posse da equipe de pesquisa e a outra ficará com o representante legal da presente instituição.

Estaremos à disposição para quaisquer dúvidas sobre o projeto!

1

Contatos para obter maiores informações sobre a pesquisa:

Pesquisadora responsável: Irene da Silva Coelho

E-mail: irenecoelho@ufrj.br

Telefone: (21) 98387-1413

Colaboradora: Danielli Monsôres Bertholoto

E-mail: daniellibertholto@ufrj.br

Telefone: (24) 99208-3642

Comitê de Ética da UFRRJ: (21) 2681-4707; 2682-1220

Eu, abaixo assinado, autorizo a realização do trabalho intitulado: “Resistência antimicrobiana: uma preocupação global que chega às instituições de ensino?” com os estudantes de Graduação e Pós-Graduação da **Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)**, e declaro que fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador sobre o trabalho, os procedimentos nele envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes do mesmo. Foi-me garantido retirar o consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Seropédica, 10 de agosto de 2020

Nome: Ricardo Luiz Louro Berbara

Representante legal da Instituição: UFRRJ

Assinatura: Ricardo Luiz Louro Berbara

E-mail: gabinete@ufrj.br Telefone: (21) 2681-4908

Ricardo Luiz Louro Berbara
- Reitor da UFRRJ

Anexo 3: Termo de consentimento Livre e Esclarecido dos discentes

TERMO DE ASSENTIMENTO

Prezado Estudante,

Você está sendo convidado a participar voluntariamente do trabalho denominado: “Resistência antimicrobiana: uma preocupação global que chega às instituições de ensino?”

Esse trabalho está relacionado ao estudo sobre a resistência aos antimicrobianos, com o objetivo de investigar o conhecimento de estudantes da Educação Básica e da Educação Superior em relação à resistência antimicrobiana, além de favorecer a percepção e conscientização de estudantes do Ensino Médio quanto ao uso e descarte de antimicrobianos, incluindo os fatores de resistência e seus impactos na saúde pública e no ambiente.

Para o desenvolvimento desse trabalho, será aplicado um questionário físico com o intuito de verificar seus conhecimentos prévios a cerca do tema proposto e uma palestra informativa que atuará como uma ação educativa que visa o favorecimento da percepção e conscientização quanto ao uso e descarte corretos de antimicrobianos. O questionário não será utilizado como forma de avaliação, não sendo, portanto, atribuído nenhum tipo de pontuação.

Embora não existam riscos previsíveis para participação nesse trabalho, que será realizado na escola, nos horários de aula, caso apresente algum tipo de constrangimento, emocional ou não, mesmo que mínimo, pode em qualquer momento retirar o consentimento da sua participação, sem qualquer prejuízo pessoal e sem lhe acarretar custos ou danos. Ao aceitar participar, reiteramos que seu nome e informações pessoais não serão, sob qualquer circunstância, divulgados em nenhum documento relacionado a esse trabalho, tendo garantido o sigilo de seus dados. Não haverá compensação alguma, seja ela financeira ou não, pela sua participação nesse trabalho.

Esse trabalho contribuirá para a tese de doutorado da discente Danielli Monsores Bertholoto, vinculada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Esse termo deve ser rubricado em todas as páginas, em duas vias e deverá ser entregue à equipe de pesquisa na escola. Uma via ficará em posse da equipe de pesquisa e a outra ficará com o participante ou seu responsável legal.

Estaremos à disposição para quaisquer dúvidas sobre o projeto!

Contatos para obter maiores informações sobre a pesquisa:

Pesquisadora responsável: Irene da Silva Coelho

E-mail: irenecoelho@ufrj.br

Telefone: (21) 98387-1413

Colaboradora: Danielli Monsores Bertholoto

E-mail: daniellibertholoto@ufrj.br

Telefone: (24) 99254-6407

Comitê de Ética da UFRRJ: (21) 2681-4707; 26821220

Local e data _____, _____ de _____ de 20____

Assinatura do discente: _____

Assinatura do pesquisador: _____