



**UnB**

Instituto de Química  
Programa de Pós-Graduação em Química

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**EPIDEMIOLOGIA BASEADA EM ESGOTO COMO ESTRATÉGIA  
COMPLEMENTAR PARA ESTIMAR E COMPREENDER O CONSUMO DE  
ANTIBIÓTICOS NO DISTRITO FEDERAL**

PEDRO JUDAH DE MOURA MESSIAS

Brasília, DF

2024

PEDRO JUDAH DE MOURA MESSIAS

**EPIDEMIOLOGIA BASEADA EM ESGOTO COMO ESTRATÉGIA  
COMPLEMENTAR PARA ESTIMAR E COMPREENDER O CONSUMO DE  
ANTIBIÓTICOS NO DISTRITO FEDERAL**

Dissertação apresentada no âmbito da Defesa de  
Trabalho Final de Mestrado do Programa de Pós-  
Graduação em Química da Universidade de Brasília.

Orientador: Dr. Fernando Fabriz Sodré

Brasília, DF

**2024**

## RESUMO

O interesse global em utilizar o esgoto como um recurso de informação tem crescido nos últimos anos. A epidemiologia baseada no esgoto (EBE) representa uma abordagem estratégica para estimar a exposição de substâncias dentro de populações específicas. A EBE relacionada a antibióticos ganhou considerável destaque na última década. Dados obtidos a partir da análise do esgoto podem ser combinados com outros conjuntos de dados, incluindo prescrições, registros de dispensação e dados epidemiológicos, possibilitando o discernimento quanto aos padrões de uso. Este estudo teve como objetivo utilizar a rotina analítica empregada no laboratório AQQUA para análise de drogas ilícitas e seus metabolitos para verificar sua possível aplicação na análise de 10 antibióticos em amostras de esgoto do Distrito Federal (DF), estimar o consumo destas substâncias em regiões atendidas por diferentes estações de tratamento de esgoto (ETE), compilar dados sobre a comercialização de antibióticos no DF utilizando o Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados (SNGPC) e correlacionar dados estimados pela EBE com dados obtidos via SNGPC. Amostras compostas foram coletadas em agosto de 2023 e agosto de 2024, ao longo de sete dias consecutivos, em sete ETEs do DF. Os antibióticos amoxicilina, azitromicina, ciprofloxacina, cefalexina, levofloxacina, sulfametoxazol, trimetoprim, claritromicina, tetraciclina e penicilina G foram extraídos em fase sólida e quantificados por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas com curvas analíticas de superposição de matriz e padronização interna. O método, originalmente desenvolvido para quantificação de drogas ilícitas, apresentou recuperação variando entre 0,8% e 78,2%, indicando a necessidade de ajustes. Ainda assim, antibióticos foram detectados com concentrações variando entre 9 e 1005 ng/L, sendo azitromicina, cefalexina, sulfametoxazol, trimetoprim sendo as mais prevalentes. Estimativas de carga *per capita* exibiram pouca correlação com atividades de fim de semana enquanto estimativas de consumo indicaram valores mais altos para ciprofloxacina, azitromicina e sulfametoxazol, alinhando-se parcialmente com dados de vendas/dispensação de medicamentos, que também demonstraram quantidades elevadas para amoxicilina, composto instável em amostras ambientais.

Palavras-chave: antibióticos; epidemiologia baseada no esgoto; espectrometria de massas; cromatografia líquida; estimativa de consumo.

## ABSTRACT

Global interest in using sewage as an information resource has grown in recent years. Wastewater-based epidemiology (WBE) represents a strategic approach for estimating substance exposure within specific populations. Antibiotic-related WBE has gained considerable attention in the last decade. Data obtained from wastewater analysis can be combined with other data sets, including prescriptions, dispensing records and epidemiological data, enabling insights into usage patterns. This study aimed to use the analytical routine employed in the AQQUA laboratory for the analysis of illicit drugs and their metabolites to verify its possible application in the analysis of 10 antibiotics in sewage samples from the Federal District (DF), estimate the consumption of these substances in regions served by different sewage treatment plants (STP), compile data on the commercialization of antibiotics in DF using the National Controlled Products Management System (SNGPC) and correlate data estimated by WBE with data obtained via SNGPC. Composite samples were collected in August 2023 and August 2024, over seven consecutive days, in eight WWTPs in the Federal District. The antibiotics amoxicillin, azithromycin, ciprofloxacin, cephalexin, levofloxacin, sulfamethoxazole, trimethoprim, clarithromycin, tetracycline, and penicillin G were extracted in solid phase and quantified by liquid chromatography coupled to mass spectrometry with analytical curves of matrix superposition and internal standardization. The method, originally developed for quantification of illicit drugs, showed recovery ranging from 0.8% to 78.2%, indicating the need for adjustments. Nevertheless, antibiotics were detected with concentrations ranging from 9 to 1005 ng/L, with azithromycin, cephalexin, sulfamethoxazole, and trimethoprim being the most prevalent. Per capita burden estimates showed little correlation with weekend activities while consumption estimates indicated higher values for ciprofloxacin, azithromycin and sulfamethoxazole, partially aligning with drug sales/dispensing data, which also demonstrated elevated amounts for amoxicillin, an unstable compound in environmental samples.

Keywords: antibiotics; wastewater-based epidemiology; mass spectrometry; liquid chromatography; consumption estimation.

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	2
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	4
2.1.	ANTIBIÓTICOS.....	4
2.2.	PRINCIPAIS CLASSES DE ANTIBIÓTICOS .....	5
2.3.	DIFERENTES USOS DOS ANTIBIÓTICOS.....	6
2.4.	CONSUMO DE ANTIBIÓTICOS POR HUMANOS .....	8
2.5.	CONSUMO DE ANTIBIÓTICOS POR ANIMAIS.....	12
2.6.	ESTRATÉGIAS DO BRASIL PARA CONTROLAR O CONSUMO DE ANTIBIÓTICOS.....	14
2.7.	EPIDEMIOLOGIA BASEADA NO ESGOTO (EBE).....	17
2.8.	APLICAÇÕES DA EBE.....	20
2.9.	ESTABILIDADE, TAXA DE EXCREÇÃO E FATOR DE CORREÇÃO PARA OS ANTIBIÓTICOS.....	22
3.	OBJETIVOS .....	25
3.1.	OBJETIVOS GERAIS.....	25
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	25
4.	MATERIAIS E MÉTODOS .....	26
4.1.	CURVA ANALÍTICA .....	28
4.2.	AMOSTRAGEM .....	28
4.3.	CONDICIONAMENTO E PREPARO DE AMOSTRA .....	32
4.4.	ANÁLISE INSTRUMENTAL.....	34
4.5.	TRATAMENTO DE DADOS.....	38
4.6.	ENSAIO DE RECUPERAÇÃO .....	38
4.7.	RECEITAS PARA ANTIMICROBIANOS EMITIDAS NO DISTRITO FEDERAL .....	39
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	40
5.1.	VENDAS DE MEDICAMENTOS QUE CONTÉM ANTIMICROBIANOS NO DISTRITO FEDERAL .....	40
5.2.	ENSAIO DE RECUPERAÇÃO .....	46

5.3.	LINEARIDADE DAS CURVAS ANALÍTICAS .....	48
5.4.	QUANTIFICAÇÃO DOS ANALITOS NAS AMOSTRAS DE ESGOTO .....	52
5.5.	PERFIS DE CARGA <i>PER CAPITA</i> .....	56
5.6.	ESTIMATIVA DO CONSUMO <i>PER CAPITA</i> .....	59
6.	CONCLUSÃO .....	70
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Quantidade dos dez antibióticos mais vendidos no Brasil entre os anos de 2014 e 2021. Adaptado <sup>18</sup> .....	10
Tabela 2 - Consumo estimado per capita de antibióticos em outros países. ....	21
Tabela 3 - Taxas de excreção e fatores f dos antibióticos utilizados no estudo. ....	23
Tabela 4 - Dados dos padrões utilizados. ....	26
Tabela 5 - Características específicas de cada ETE do DF (CAESB,2023). ....	30
Tabela 6 - Vazão média obtida, por ETE, em L/s, no período amostral de 2023.....	30
Tabela 7 - Vazão média obtida, por ETE, em L/s, no período amostral de 2024.....	31
Tabela 8 - Parâmetros cromatográficos.....	35
Tabela 9 - Transições monitoradas de cada analito.....	37
Tabela 10 - Parâmetros da espectrometria de massas. ....	37
Tabela 11 - Venda total e venda de medicamentos que possuem algum antimicrobiano de interesse do estudo – junho de 2021. ....	40
Tabela 12 - Venda total e venda de medicamentos que possuem algum antimicrobiano de interesse do estudo – julho de 2021. ....	41
Tabela 13 - Venda total e venda de medicamentos que possuem algum antimicrobiano de interesse do estudo – agosto de 2021.....	41
Tabela 14 - Venda total e venda de medicamentos que possuem algum antimicrobiano de interesse do estudo – setembro de 2021.....	42
Tabela 15 - Venda total e venda de medicamentos que possuem algum antimicrobiano de interesse do estudo – outubro de 2021.....	42
Tabela 16 - Venda total e venda de medicamentos que possuem algum antimicrobiano de interesse do estudo – novembro de 2021. ....	43
Tabela 17 - Quantidade, em kg, dos antibióticos alvo que foram dispensados nos últimos meses completos de funcionamento do SNGPC. ....	45
Tabela 18 - Recuperações calculadas, em porcentagem, para os antibióticos alvo. ....	46
Tabela 19 - Comparação entre o branco das amostras filtradas e centrifugadas.....	48
Tabela 20 - Parâmetros das curvas analíticas.....	52
Tabela 21 - Limites de Quantificação e Detecção dos analitos. ....	53

Tabela 22 - Concentrações médias, em ng/L, dos antimicrobianos nas ETEs no Distrito Federal (ETEs SU, NO, PL e RF) no período amostral de 2023. ....	54
Tabela 23 - Concentrações médias, em ng/L, dos antimicrobianos nas ETEs no Distrito Federal (ETEs SS, GA e ME) no período amostral de 2023. ....	54
Tabela 24 - Concentrações médias, em ng/L, dos antimicrobianos nas ETEs no Distrito Federal (ETEs SU, NO, PL e RF) no período amostral de 2024. ....	55
Tabela 25 - Concentrações médias, em ng/L, dos antimicrobianos nas ETEs no Distrito Federal (ETEs SS, GA e ME) no período amostral de 2024. ....	55
Tabela 26 - Consumo médio estimado dos antimicrobianos no DF após correção com os valores de recuperação. ....	67
Tabela 28 - Consumo calculado estimado com a massa comercializada de agosto de 2021. ....	68



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Possíveis rotas dos antibióticos no meio ambiente. Adaptado <sup>12</sup> .....	8
Figura 2 - Estimativa do consumo de global de antibióticos no ano de 2018. Adaptado <sup>16</sup> .....	9
Figura 3 - DDD/1000hab/dia dos três antibióticos mais vendidos antes e após da pandemia do Covid-19. Adaptado <sup>18</sup> .....	11
Figura 4 - Consumo estimado em DDD de cinco países da América e a divisão das classes consumidas. Adaptado <sup>19</sup> .....	12
Figura 5 - Número de países participantes da pesquisa sobre o uso de antibióticos como agentes de Promoção de Crescimento. Adaptado <sup>21</sup> .....	13
Figura 6 - Porcentagem da quantidade de antibióticos utilizados em animais por 110 países em 2019. Adaptado <sup>21</sup> .....	13
Figura 7 - Exemplo de Objetivos Principais, Intervenções Estratégicas e Atividades implementadas pelo documento <sup>25</sup> .....	16
Figura 8 - Estabilidade dos analitos em três diferentes condições. a) 4 °C por 48 horas; b) -20 °C por 30 dias; c) -80 °C por 30 dias. Adaptado <sup>60</sup> .....	24
Figura 9 - Antibióticos utilizados no estudo, suas respectivas classes e estruturas moleculares..	28
Figura 10 - Localização das ETEs no Distrito Federal. ....	29
Figura 11 – Autoamostrador utilizado na coleta das amostras nas ETEs do Distrito Federal. ....	31
Figura 12 - Sistema de extração em fase sólida. A: recipiente contendo a amostra. B: cartucho de SPE. C: sistema manifold. ....	33
Figura 13 - Ilustração do funcionamento da espectrometria de massas triplo quadrupolo.....	36
Figura 14 - Sumarização das vendas, no DF, de medicamentos que contém antimicrobianos nos últimos meses de funcionamento da base de dados da ANVISA. ....	44
Figura 15 - Massa dispensada, em kg, dos antibióticos alvo. ....	45
Figura 16 - Ensaio interlaboratorial do grupo SCORE para drogas ilícitas, seus metabolitos e alguns adulterantes. O grupo AQQUA-UnB é o número 170. ....	47
Figura 17 - Curvas analíticas utilizadas em 2023 (TET e TMP).....	49
Figura 18 - Curvas analíticas utilizadas em 2024 (TET e TMP).....	49
Figura 19 - Curvas analíticas utilizadas em 2023 (Demais analitos).....	50
Figura 20 - Curvas analíticas utilizadas em 2024 (Demais analitos).....	51

Figura 21 – Cargas estimadas per capita por ETE no período amostral de 2023. ....	57
Figura 22 - Cargas estimadas per capita por ETE no período amostral de 2024. ....	58
Figura 23 - Consumo per capita estimado de Azitromicina no DF. ....	60
Figura 24 - Consumo per capita estimado de Cefalexina no DF. ....	60
Figura 25 - Consumo per capita estimado de Ciprofloxacina no DF. ....	60
Figura 26 - Consumo per capita estimado de Claritromicina no DF. ....	61
Figura 27 - Consumo per capita de Levofloxacina no DF. ....	61
Figura 28 - Consumo per capita estimado de Sulfametoxazol no DF. ....	61
Figura 29 - Consumo per capita estimado de Tetraciclina no DF. ....	62
Figura 30 - Consumo per capita estimado de Trimetoprim no DF. ....	62
Figura 31 - Dispensa dos antibióticos alvo no mês de agosto de 2019, 2020 e 2021. ....	63
Figura 34 - Razão SMX/TMP nas ETEs do DF sem correção com dados de recuperação. ....	66
Figura 35 - Comportamento SMX/TMP observado na literatura. Adaptado <sup>71</sup> . ....	66

## LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

ACN	Acetonitrila
AMX	Amoxicilina
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AQUA	Laboratório de Automação, Quimiometria e Química Ambiental
ATM	Azitromicina
CAESB	Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal
CAF-d9	Cafeína-d9
CIP	Ciprofloxacina
COCIC	Coordenação de Controle e Comércio Internacional de Produtos Controlados
CRMV	Conselho Regional de Medicina Veterinária
CTM	Claritromicina
DDD	Dose Diária Definida
DF	Distrito Federal
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
EBE	Epidemiologia Baseada no Esgoto
ESI	<i>Electrospray Ionization</i>
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
GA	Gama
GRAM	<i>Global Research on Antimicrobial Resistance</i>
HCl	Ácido Clorídrico
HRMS	Espectrometria de massas de alta resolução
IA	Inteligência Artificial
IQ	Instituto de Química
LC-MS/MS	Cromatografia Líquida acoplado à Espectrometria de Massas <i>tandem</i>
LD	Limite de Detecção
LEV	Levofloxacina
LEX	Cefalexina
LIN	Lincomicina
LQ	Limite de Quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
ME	Melchior
MeOH	Metanol
MJ	Ministério da Justiça
MRM	<i>Multiple Reaction Monitoring</i>
NH <sub>4</sub> OH	Hidróxido de Amônio
NO	Norte

OMS	Organização Mundial da Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
PAN-BR	Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no Âmbito da Saúde Única do Brasil
PAN-BR Agro	Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no âmbito da Agropecuária no Brasil
PENG	Penicilina G
PL	Planaltina
PVDF	Polivinilideno Fluoreto
RAM	Resistência Antimicrobiana
RF	Riacho Fundo
RTM	Roxitromicina
SENAD	Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas
SERS	Espectroscopia Raman amplificada por superfície
SMX	Sulfametoxazol
SNGPC	Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados
SPE	Extração em fase sólida
SPY	Sulfapiridina
SS	São Sebastião
SU	Sul
TET	Tetraciclina
TMP	Trimetoprim
TMP-d9	Trimetoprim-d9
UnB	Universidade de Brasília
UNEP	<i>United Nations Environment Programme</i>
UPLC	<i>Ultra Performance Liquid Chromatography</i>
WOAH	<i>World Organisation for Animal Health</i>

## 1. INTRODUÇÃO

É inegável que a descoberta dos antibióticos implicou em inúmeros benefícios para a sociedade mundial. A mais importante delas foi o aumento na expectativa de vida dos seres humanos. Por outro lado, seu consumo descontrolado tem gerado preocupações em todo o mundo. O surgimento de bactérias resistentes é, atualmente, uma pauta necessária e vem sendo estudada para que isso não tenha um impacto maior nas gerações futuras. A resistência antimicrobiana (RAM) é considerada, segundo a OMS, uma das dez ameaças globais enfrentadas pela humanidade. Por esse motivo, entidades governamentais internacionais e nacionais vem trabalhando para frear e conscientizar a população sobre o consumo inadequado dos antibióticos.

Apesar de esse trabalho ter seu foco no consumo humano de antibióticos, o problema ultrapassa essa barreira. Esse tipo de medicamento também é comumente utilizado em animais de estimação e, principalmente, na agropecuária e na aquicultura. De acordo com o site *World Animal Protection*, estima-se que mais da metade da produção global de antibióticos sejam destinados aos animais. Assim, considerando as elevadas taxas de excreção das moléculas antimicrobianas sem modificação pelo organismo, humano ou animal, a capacidade prejudicial dessas substâncias no meio ambiente torna-se expressiva.

No Brasil, existe uma grande dificuldade em monitorar as vendas e o consumo de antibióticos. Os dados públicos disponíveis no portal da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio do banco de dados do Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados – SNGPC, não são completos, visto que são restritos aos estabelecimentos comerciais privados. Dessa forma, dados sobre a dispensação em farmácias públicas e hospitais públicos e privados não são contabilizados. Ademais, a base de dados foi suspensa em dezembro de 2021 e apenas em novembro de 2024 testes iniciais preliminares do novo SNGPC foram implementados. A ANVISA pretende voltar com a utilização obrigatória dessa base de dados no primeiro semestre de 2025. Enquanto isso, nações desenvolvidas exibem valores constantes e até diminuição no uso de antimicrobianos ao longo dos anos; por outro lado, o aumento no consumo desse tipo de medicamento é comum em países em desenvolvimento, como o Brasil.

A utilização do esgoto como fonte de informação para entender melhor o comportamento de uma sociedade vem sendo mundialmente explorada nos últimos anos. A epidemiologia baseada no

esgoto (EBE) é uma estratégia que visa, por meio da análise de determinado biomarcador no esgoto, estimar o consumo de medicamentos, drogas ilícitas, entre outros. Dessa forma, esses dados podem ser utilizados para que os tomadores de decisão possam agir estrategicamente na melhoria do meio social. As informações levantadas via análise do esgoto podem ser combinadas a outras fontes complementares de informação, como prescrições, dispensação ou informações epidemiológicas. Essa abordagem permite então identificar padrões de uso e abuso, bem como possíveis vendas pela internet, farmácias ilegais e contrabando, por exemplo. Mundialmente, a EBE já é utilizada para diversos tipos de analitos, principalmente para a estimativa de consumo de drogas ilícitas. Em contrapartida, essa estratégia com foco na análise de antibióticos é relativamente nova, com trabalhos científicos que começaram a ser publicados aproximadamente a partir de 2015.

Nesse sentido, aliado a ações globais e nacionais no sentido de moderar o consumo de antimicrobianos por meio de regulamentação, melhorias na atenção à saúde, conscientização pública e de vigilância, a epidemiologia baseada em análises de esgotos pode complementar a produção dos dados balizadores de tomadas de decisão quanto à resistência antimicrobiana.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. ANTIBIÓTICOS

O termo antibiótico apresenta divergências de significado na literatura. A definição mais utilizada é que os antibióticos são uma classe de medicamentos criados de forma natural, por meio do metabolismo de bactérias ou fungos, e que são capazes de inibir ou parar o crescimento de microrganismos<sup>1</sup>. Tal definição exclui os antibióticos semissintéticos ou sintéticos. Dessa forma, segundo o livro *Antibiotics and Antibiotic Resistance in the Environment*, uma definição mais ampla seria: “antibióticos são uma classe de antimicrobianos utilizados para tratar ou prevenir infecções de bactérias, sendo que antimicrobianos são agentes que matam ou inibem o crescimento de microrganismos”<sup>2</sup>. O termo antimicrobiano é mais amplo e engloba, portanto, os naturais, semissintéticos e sintéticos<sup>1</sup>; além de incluir também vírus, fungos e parasitas.

Existem indícios de uso de antibióticos pela população chinesa há 2500 anos atrás. Apesar do uso, a história da observação das ações microbianas se inicia em 1665, com o trabalho do cientista Robert Hooke<sup>1</sup>. Em meados de 1870, diversos estudos mostraram o efeito antagonista entre microrganismos<sup>3</sup>, porém somente em 1893, Bartolomeo Gosio, microbiologista italiano, consegue isolar o primeiro antibiótico natural. O ácido micofenólico foi isolado da *Penicillium glaucum* (*P. brevicompactum*). A estrutura desse composto só foi completamente entendida em 1952 e sua completa síntese descoberta em 1969<sup>4</sup>. Em meados de 1910, Paul Ehrlich descobre a Arsfenamina, substância utilizada para tratar a sífilis. Esse antibiótico é mais conhecido e foi comercializado como Salvarsan<sup>3-5</sup>. Apesar da descoberta, o marco que alavanca a pesquisa para a criação de novas drogas antimicrobianas foi a descoberta da Penicilina por Alexander Fleming em 1928<sup>1</sup>. Somente na década de 1940 a produção industrial da Penicilina se iniciou<sup>3</sup> e a droga se tornou disponível para os médicos em 1946<sup>1</sup>.

Entre os anos de 1940 e 1970 ocorreu a grande era de ouro na descoberta dos antibióticos. Mais de 20 classes foram descobertas a partir de diversos tipos de bactérias ou fungos. Apesar de descobertas recentes de novas substâncias, as últimas descobertas de classes de antibióticos ocorreram na década de 1980<sup>3</sup>.

## 2.2. PRINCIPAIS CLASSES DE ANTIBIÓTICOS

De acordo com o livro *Antibiotics and Antibiotic Resistance in the Environment*<sup>2</sup>, algumas das principais classes de antibióticos e seus respectivos mecanismos de ação são:

1. Beta-lactâmicos: Essa classe inclui penicilinas naturais e semissintéticas, cefalosporinas naturais e semissintéticas, cefamicinas, carbapenêmicos, monobactâmicos e inibidores de beta-lactamases. Com exceção dos inibidores de beta-lactamases, a ação dessa classe consiste em inibir a formação da parede celular da bactéria, ocasionando, dessa forma, a morte do organismo<sup>6</sup>. Os inibidores de beta-lactamases são utilizados em conjunto com penicilinas ou cefalosporinas e possuem a função de proteção dessas substâncias, garantindo que ela não seja destruída por alguma enzima. Exemplos desses compostos protetores são o Clavunato e Avibactam.
2. Aminoglicosídeos: São incluídos nessa classe os antibióticos naturais e semissintéticos advindos de bactérias do solo do gênero *Streptomyces* e *Micromonospora*. Exemplos: Steptomomicina, Neomicina, Netilmicina. Essas drogas se ligam numa unidade ribossômica específica, inibindo a síntese proteica e ocasionando a morte bacteriana.
3. Macrolídeos: Incluem a Eritromicina e alguns derivados semissintéticos, como a Azitromicina. Atuam se ligando, reversivelmente, a um sítio ribossômico específico da bactéria, inibindo a síntese proteica das bactérias. Geralmente, apenas inibem o crescimento das bactérias (bacteriostáticos), mas em altas concentrações podem ser bactericidas, ou seja, ocasionar a morte bacteriana.
4. Licosamidas: é uma pequena classe que inclui a Lincomicina e seu derivado semissintético, a Clindamicina. Seu mecanismo de ação é similar ao dos Macrolídeos.
5. Estreptograminas: Existem duas subclasses (A e B) que atuam de forma similar e sinérgica, inibindo a síntese proteica das bactérias, o que impede seu crescimento e proliferação. Como exemplo temos a Dalfopristina (A), Quinupristina (B) e Virginiamicina. Essa última é utilizada somente na agropecuária.



6. Tetraciclina: Possui substâncias naturais e semissintéticas, tais como a Tetraciclina e a Doxiciclina. Atuam na inibição da síntese de proteínas nas bactérias.
7. Sulfonamidas: Essa classe atua na inibição da produção do ácido fólico na bactéria. O ácido fólico é essencial para a produção do Ácido Desoxirribonucléico (DNA) e de proteínas<sup>6</sup>. Dessa forma, a bactéria não se multiplica. Apesar de conter dezenas de compostos, o mais utilizado dessa classe é o Sulfametoxazol.
8. Trimetoprim: Apesar de outros compostos que estão incluídos nessa classe, o Trimetoprim é o mais utilizado. Sua função é de inibir etapas essenciais na produção do ácido fólico nas bactérias. Sua ação junto com o Sulfametoxazol é sinérgica e vantajosa, por esse motivo, essas duas substâncias são administradas em conjunto.
9. Quinolonas: A última classe a ser clinicamente utilizada. Fazem parte dessa classe, por exemplo, as fluoroquinolonas (Ciprofloxacina, Levofloxacina, entre outros). Basicamente, essa classe inibe a produção de DNA nas bactérias.

### 2.3. DIFERENTES USOS DOS ANTIBIÓTICOS

Os antibióticos são amplamente utilizados atualmente. Apesar da preocupação com o uso indiscriminado pelos seres humanos, também deve-se ter atenção ao uso agropecuário, veterinário e industrial<sup>7</sup>. Após a era da descoberta desses medicamentos, a expectativa de vida do ser humano aumentou, em média, cerca de 23 anos<sup>5</sup>. Um dos fatores que impulsionou essa maior qualidade e expectativa de vida foi a descoberta e a evolução dos antibióticos. Por outro lado, seu uso indiscriminado vem aumentando a resistência das bactérias nos mais diversos organismos existentes. O uso humano é focalizado no tratamento e prevenção de doenças, que podem ser mortais ou não. A forma de administração em humanos varia com o tipo, o local da infecção e as características da substância utilizada. Usualmente, o antibiótico deve atingir as vias sanguíneas para que seja carregado para as diversas partes do organismo<sup>7</sup>. Assim, o modo mais comum de administração é oral, por pílulas ou líquido. Outras maneiras são por injeção diretamente na corrente sanguínea ou no músculo<sup>7</sup>. Os antibióticos são parcialmente absorvidos pelo corpo humano. Estima-se que 30-90% dos antibióticos que adentram o organismo humano são excretados sem alterações pela urina ou fezes em até 24h após o consumo<sup>8</sup>. Dessa forma, existe

uma frequente descarga desses medicamentos nos esgotos, fazendo com que microrganismos fiquem cada vez mais resistentes no meio ambiente.

Já no uso veterinário, é estimado que 25-75% da molécula consumida é excretada pela urina ou fezes, a depender do medicamento<sup>9</sup>. Em 2013, o consumo global de antibióticos para uso veterinário foi aproximadamente 131 mil toneladas. É projetado para que esse consumo supere as 200 mil toneladas até 2030<sup>7</sup>. Estima-se que mais da metade dos antibióticos produzidos globalmente são destinados para os animais. Na pecuária os antibióticos são administrados para todos os animais, independente da situação de sua saúde. Isso ocorre para a prevenção de doenças e para que os animais engordem de maneira mais rápida, aumentando a produtividade (agentes de promoção de crescimento, do inglês *Growth Promoters*). A utilização de antibióticos para esse fim, nos Estados Unidos, por exemplo, ultrapassa o consumo humano. Essa técnica não possui um controle específico sobre a concentração de antibiótico ingerido por cada animal, logo favorece a seleção de bactérias resistentes<sup>10</sup>. Existem diversos países europeus que já baniram o uso de antibióticos como agentes de promoção de crescimento<sup>7</sup>.

A excreção dos animais na pecuária ocorre majoritariamente no campo, ou seja, após a contaminação do solo, a atividade da comunidade microbiana é completamente alterada<sup>9</sup>. Além disso, o provável destino dos antibióticos são os lençóis freáticos e águas superficiais, atingindo também a fauna e flora aquática. Na produção de peixes para consumo (aquicultura), o uso de antibióticos também ocorre, alterando a biota aquática<sup>11</sup>. Estima-se que o uso anual de antibióticos nesse ramo aumente em 33% até o ano de 2030. Dessa forma, bactérias resistentes são selecionadas e a preocupação delas no meio ambiente aumenta. A Figura 1 mostra uma esquematização do possível caminho percorrido desde o uso até o descarte de antibióticos por humanos e por animais.

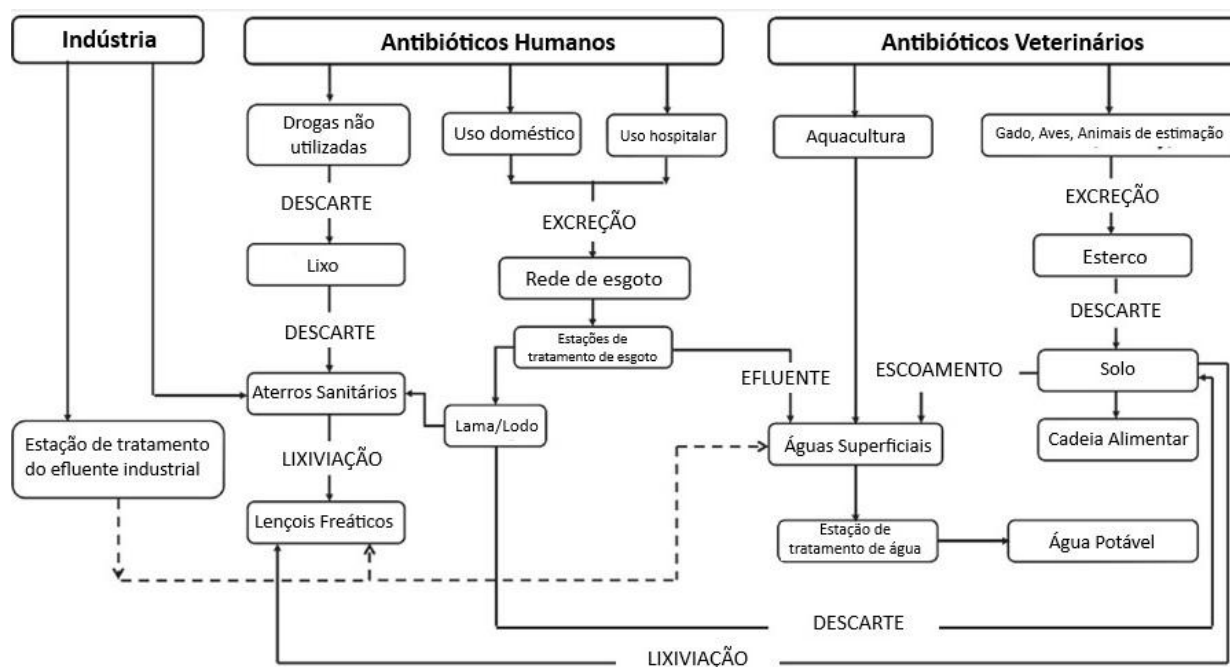


Figura 1 - Possíveis rotas dos antibióticos no meio ambiente. Adaptado<sup>12</sup>.

A Organização Mundial da Saúde (OMS)<sup>12</sup> considerou a resistência antimicrobiana (RAM) como uma das dez ameaças globais enfrentadas pela humanidade. Aproximadamente 5 milhões de pessoas morrem anualmente por infecções causadas por patógenos resistentes a antibióticos<sup>13</sup>. De acordo com a UNEP - *United Nations Environment Programme*, a RAM “acontece quando os microrganismos evoluem e deixam de responder, ou respondem menos, ao tratamento”<sup>14</sup>. Quanto maior o contato de uma determinada bactéria com um antibiótico, maior é a probabilidade de se adaptarem e deixarem de responder ao tratamento que, anteriormente, era eficaz. Assim, as denominadas “superbactérias” são selecionadas e podem infectar os mais diversos organismos vivos, desde humanos e animais até na flora e no ambiente aquático.

#### 2.4. CONSUMO DE ANTIBIÓTICOS POR HUMANOS

Em uma pesquisa realizada pelo *Global Research on Antimicrobial Resistance (GRAM)*<sup>15</sup>, foi encontrado que, entre os anos de 2000 e 2018, considerando 209 países, ocorreu um aumento de 46% no uso antibióticos. O consumo no ano 2000 era de 9,8 doses diárias definidas (DDD) por

1000 habitantes por dia; e aumentou para 14,3 DDD por 1000 habitantes por dia. Para tal pesquisa, foi utilizado dados de vendas de antibióticos e dados de pesquisas domiciliares aplicados a um modelo geostatístico bayesiano<sup>16</sup>. A Figura 2 apresenta os dados gerados no mapa, mostrando a DDD/1000 habitantes/dia de todos os países estimados no ano de 2018.

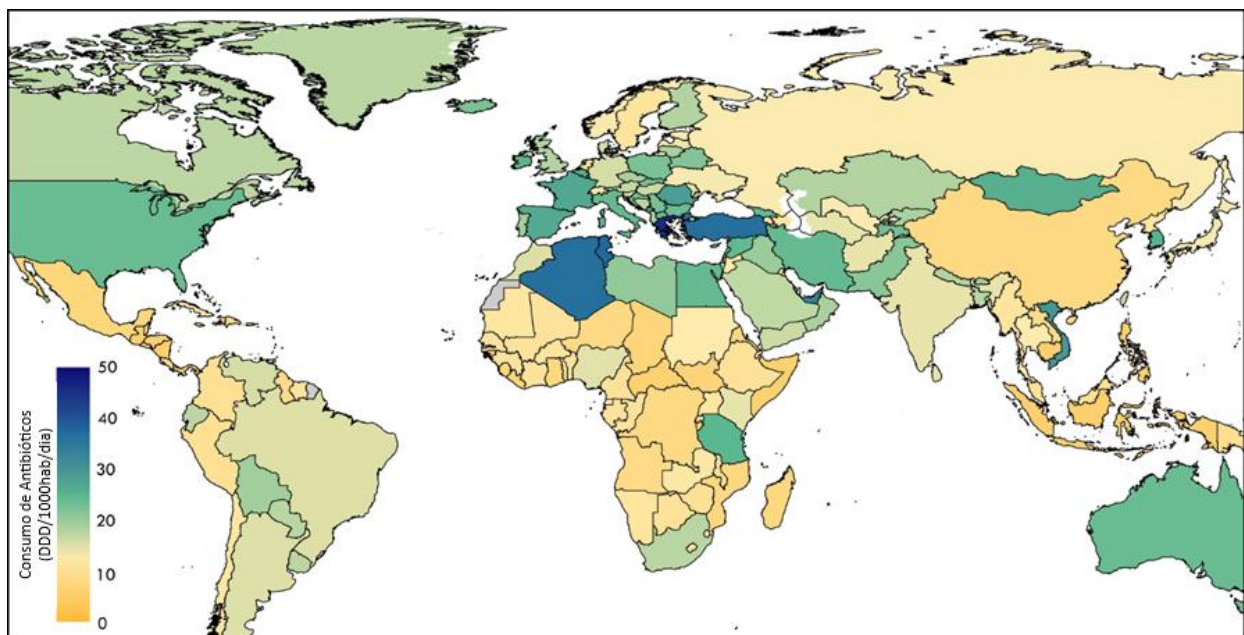


Figura 2 - Estimativa do consumo de global de antibióticos no ano de 2018. Adaptado<sup>16</sup>.

A OMS publicou o *WHO Access, Watch, Reserve (AWaRe) classification of antibiotics for evaluation and monitoring of use, 2023*<sup>17</sup> que separa os antibióticos em três grupos: *Access Group*, são aqueles que possuem um menor potencial de resistência. Estão nesse grupo, por exemplo, a Amoxicilina, Benzilpenicilina, Cefalexina, Sulfametoxazol e Trimetoprim; *Watch Group* são os antibióticos que possuem um maior potencial de resistência, tais como Azitromicina, Ciprofloxacina, Claritromicina, Eritromicina e Levofloxacina; por fim, o *Reserve Group* que inclui medicamentos utilizados como última opção de tratamento, como a Daptomicina e a Telavancina. Além dessa classificação, esse documento não recomenda o uso de determinadas combinações de antibióticos para uso clínico, tais como Azitromicina/Levofloxacina, Amoxicilina/Ácido Clavulânico/Nimesulida, Eritromicina/Trimetoprim, entre outros.

No Brasil, uma pesquisa<sup>18</sup> mostrou quais foram os dez antibióticos mais comercializados no Brasil entre os anos de 2014 e 2021. Aproximadamente 560 milhões de pacotes desses antibióticos foram vendidos em farmácias particulares. A Tabela 1 elenca esses antibióticos e mostra a porcentagem das vendas.

*Tabela 1 - Quantidade dos dez antibióticos mais vendidos no Brasil entre os anos de 2014 e 2021. Adaptado<sup>18</sup>.*

<b>Antibióticos</b>	<b>Pacotes Vendidos</b>	<b>%</b>	<b>% Acumulada</b>
<b>Amoxicilina</b>	179,518,563	32,0	32,0
<b>Azitromicina</b>	102,948,874	18,3	50,3
<b>Cefalexina</b>	93,291,489	16,6	66,9
<b>Ciprofloxacina</b>	67,369,118	12,0	78,9
<b>Levofloxacina</b>	39,009,875	7,0	85,9
<b>Sulfametoxazol e Trimetoprim</b>	20,763,544	3,7	89,6
<b>Metronidazol</b>	19,924,333	3,6	93,2
<b>Ceftriaxona</b>	15,331,526	2,7	95,9
<b>Cefadroxila</b>	12,034,288	2,1	98,0
<b>Norfloxacina</b>	11,367,427	2,0	100,0
<b>Total de pacotes vendidos</b>	<b>561,559,037</b>	<b>100,0</b>	

No mesmo estudo, foi realizado o consumo em DDD/1000habitantes/dia calculada dos três antibióticos mais consumidos no Brasil (Amoxicilina, Azitromicina e Cefalexina), sua progressão anual e a mudança que ocorreu após a pandemia do Covid-19. O resultado mostrou uma regularidade antes da pandemia, como pode-se observar na Figura 3. O consumo de Amoxicilina e Azitromicina obedecia a uma sazonalidade, enquanto o consumo da Cefalexina era constante. Após o surto do Covid-19, o uso da Azitromicina aumentou, enquanto os outros dois antibióticos diminuíram. É interessante observar também que existe um padrão anual de consumo desses três antibióticos. Em meados de outubro o consumo é maior, enquanto o consumo é menor no primeiro quadrimestre do ano. Esse fato pode estar relacionado com doenças relacionadas à sazonalidade climática que ocorre no Brasil.

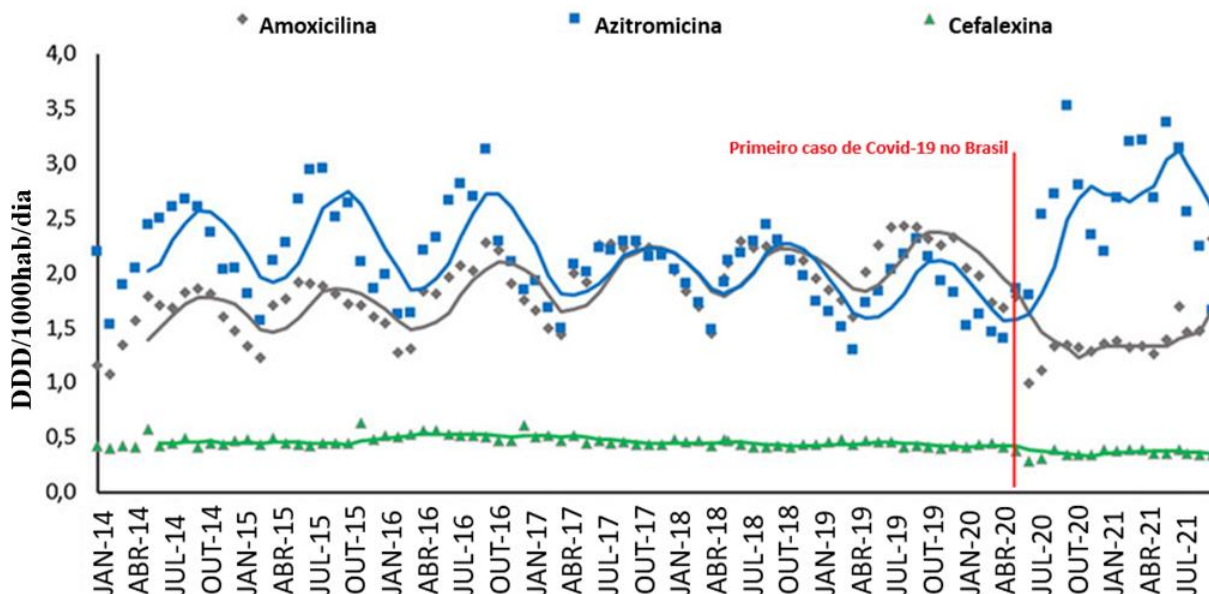


Figura 3 - DDD/1000hab/dia dos três antibióticos mais vendidos antes e após da pandemia do Covid-19. Adaptado<sup>18</sup>.

De acordo com o Relatório da OMS sobre o consumo de antibióticos de 2016-2018<sup>19</sup>, o Brasil possui DDD de 22,75/1000habitantes/dia para antibióticos (dados de 2016). Houve um crescimento no consumo, visto que, em 2006, a DDD observada era de aproximadamente 16/1000 habitantes/dia<sup>20</sup>. Ademais, o relatório comparou a DDD de seis países do continente americano, dividindo quais são as classes dos antibióticos que são mais consumidas em cada país. Pode-se observar esses dados na Figura 4.

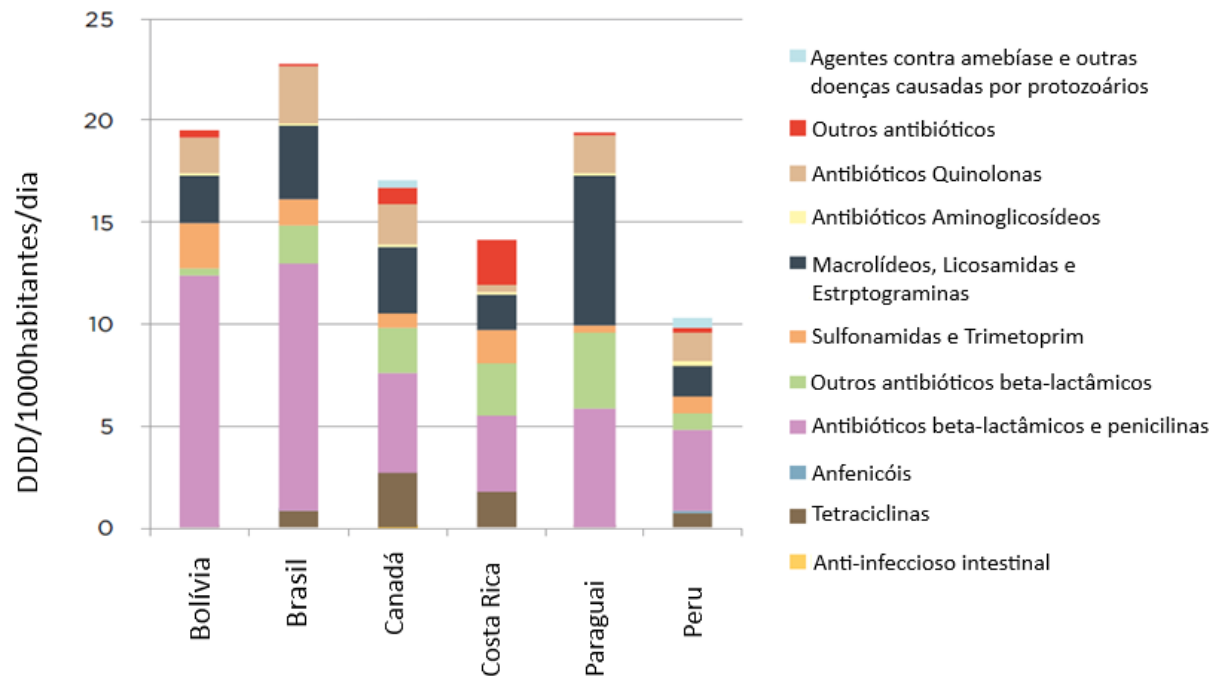


Figura 4 - Consumo estimado em DDD de cinco países da América e a divisão das classes consumidas. Adaptado<sup>19</sup>

## 2.5. CONSUMO DE ANTIBIÓTICOS POR ANIMAIS

De acordo com o *7th Annual Report on Antimicrobials Agents intended for Use in Animals* publicado pela *World Organisation for Animal Health (WOAH)*<sup>21</sup>, com a participação de 157 países, em 2021, 68% dos países admitem não utilizar antibióticos como agentes de promoção de crescimento, 26% utilizam antibióticos como agentes de promoção de crescimento e 6% não souberam responder. A separação por continentes dessa pesquisa encontra-se na Figura 5.

De todos os países participantes, 110 forneceram dados qualitativos. Dessa forma, foi estimado que, em 2019, cerca de 77 mil toneladas de antibióticos foram destinadas aos animais. A Figura 6, retirada do relatório, mostra a porcentagem de diversas classes de antibióticos que foram destinadas para o uso animal no ano de 2019.

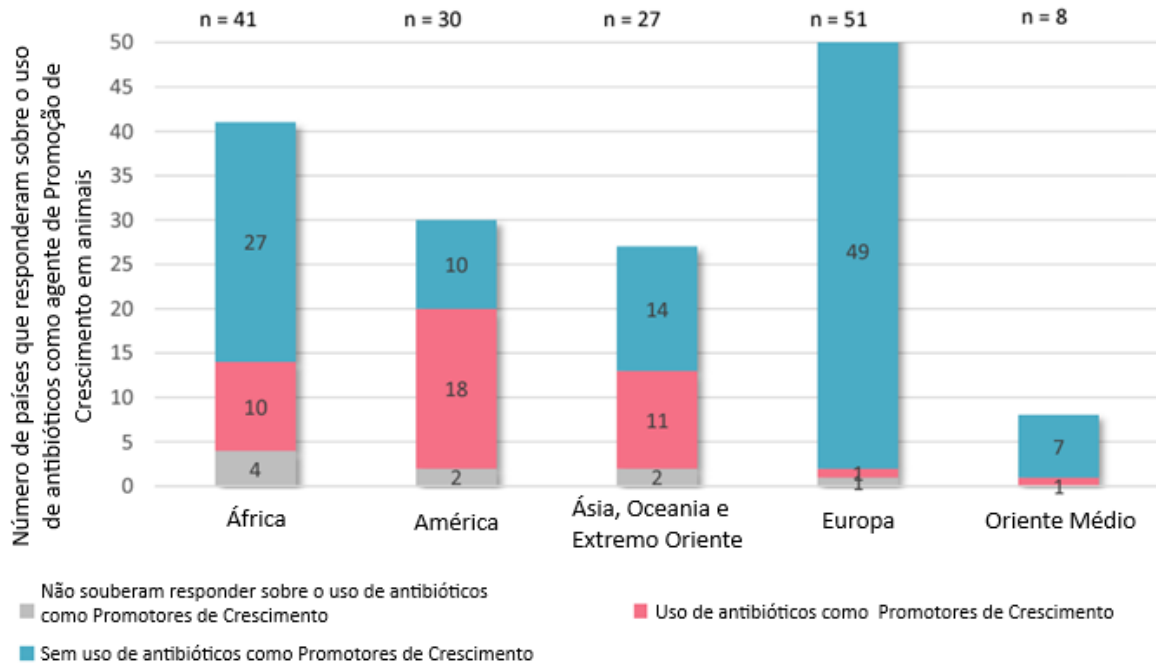


Figura 5 - Número de países participantes da pesquisa sobre o uso de antibióticos como agentes de Promoção de Crescimento. Adaptado<sup>21</sup>

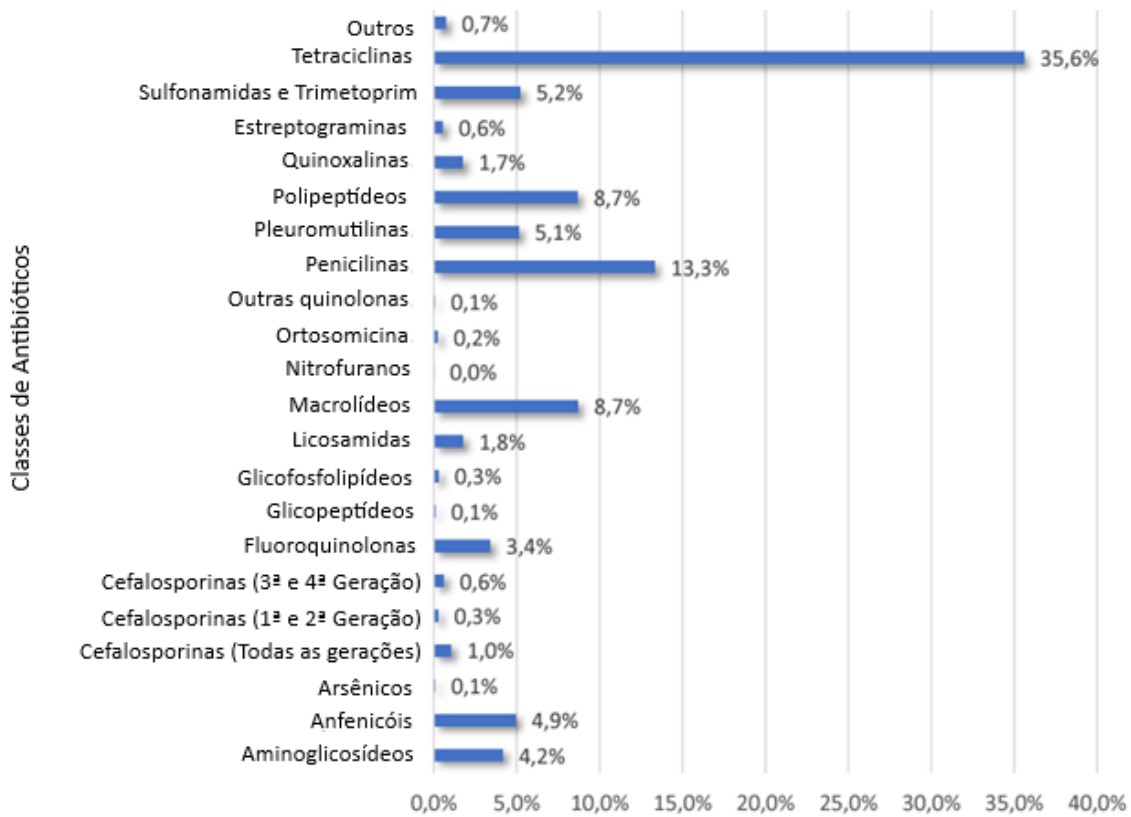


Figura 6 - Porcentagem da quantidade de antibióticos utilizados em animais por 110 países em 2019. Adaptado<sup>21</sup>



Para que os antibióticos sejam utilizados em animais, deve-se encontrar um equilíbrio de ação em seus organismos. O medicamento deve cumprir seu efeito, mas também se deseja que ocorra uma baixa absorção intestinal, para que se evite a contaminação nos produtos comestíveis pelo ser humano, como por exemplo a carne e o leite. Também é desejável que a substância possua amplo espectro de ação sobre bactérias Gram-positivas<sup>22</sup>. Além disso, evita-se o uso de antibióticos utilizados para a terapia humana. No Brasil, a utilização desse tipo de medicamento como promotor de crescimento não é proibida, mas o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) já realizou diversas proibições de substâncias para esse fim. Em 2009, fenicóis, tetraciclina, beta-lactâmicos (penicilinas e cefalosporinas), quinolonas e sulfonamidas sistêmicas foram banidas. O último banimento ocorreu na Instrução Normativa SDA/MAPA nº 1, de 13 de janeiro de 2020, proibindo os antimicrobianos tilosina, lincomicina e tiamulina, classificados como importantes da medicina humana<sup>23</sup>.

## 2.6. ESTRATÉGIAS DO BRASIL PARA CONTROLAR O CONSUMO DE ANTIBIÓTICOS

O Brasil possui falhas na contabilização das vendas de antibióticos. Com base nas informações fornecidas pela Coordenação de Controle e Comércio Internacional de Produtos Controlados (COCIC), da ANVISA, é possível obter informações de dispensações de medicamentos sujeitos à escrituração do banco de dados do Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados - SNGPC. Porém, esse banco de dados armazena informações provenientes apenas de farmácias e drogarias privadas e não recebe informações de dispensações realizadas em farmácias públicas e em hospitais. Além disso, é importante destacar que possíveis informações não escrituradas pelo farmacêutico responsável técnico não estarão contidas no banco de dados do SNGPC. De forma semelhante, os dados disponibilizados nas ferramentas citadas reproduzem as informações transmitidas pelo farmacêutico responsável técnico nos arquivos enviados ao banco de dados do SNGPC.

Outro problema observado é que, a partir de outubro de 2021, a instabilidade do SNGPC culminou na suspensão da obrigatoriedade do envio dos arquivos contendo as informações de dispensa de medicamentos controlados, uma vez que a oscilação do sistema dificultava o envio

das movimentações ao banco do SNGPC. Em dezembro de 2022, com o objetivo de implementar melhorias identificadas em testes no sistema, foi necessário suspender, de forma temporária, o acesso geral ao SNGPC. Em novembro de 2024, a ANVISA publicou uma nota sobre uma fase de teste para reimplantar a obrigatoriedade do cadastro das dispensações por parte das farmácias privadas. As farmácias do centro-oeste interessadas em participar do teste, de forma voluntária, puderam iniciar a operações do sistema no dia 11/11. A ANVISA, ainda prevê um retorno obrigatório para todas as farmácias no primeiro semestre de 2025.

Dados sobre o consumo de antibióticos no Distrito Federal (DF) não foram encontrados, porém, é possível utilizar o SNGPC, levando em consideração as falhas citadas acima, para verificar as dispensas, entender suas variações com o passar dos meses e anos e, dessa forma, estimar as vendas.

Por outro lado, o Brasil possui diversas políticas públicas com a finalidade de frear e controlar o aumento da resistência aos antimicrobianos<sup>24</sup>. Em 2018, foi publicado pelo Ministério da Saúde o Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no Âmbito da Saúde Única – PAN-BR<sup>25</sup>. Esse documento, com vigência de 5 anos (2018-2022) apresentou 14 Objetivos Principais, 33 Intervenções Estratégicas e 75 Atividades, alinhados aos 5 Objetivos Estratégicos:

- Melhorar a conscientização e a compreensão a respeito da RAM por meio de comunicação, educação e formação efetivas;
- Fortalecer os conhecimentos e a base científica por meio da vigilância e pesquisa;
- Reduzir a incidência de infecções com medidas eficazes de saneamento, higiene e prevenção de infecções;
- Otimizar o uso de medicamentos antimicrobianos na saúde humana e animal;
- Preparar argumentos econômicos voltados para um investimento sustentável e aumentar os investimentos em novos medicamentos, meios diagnósticos e vacinas além de outras intervenções.

A Figura 7 mostra um exemplo do Objetivo Principal 4, que está interligado com o Objetivo Estratégico 2. Além disso, é possível observar que cada atividade presente no documento é indicada para um ou mais órgãos governamentais realizarem. A atividade de monitorar a

comercialização e o consumo de antimicrobianos pela população, no âmbito da saúde humana, por exemplo, é responsabilidade da ANVISA.

Objetivos principais	Intervenções estratégicas	Atividades	Áreas coordenadoras	Setores envolvidos
<b>OBJETIVO 4</b> Construir e estabelecer o sistema nacional de vigilância e monitoramento integrado da AMR.	<b>4.2. Estabelecer vigilância e monitoramento integrados da AMR.</b>	4.2.2. Pactuar modelo de vigilância e monitoramento entre as diferentes instâncias.	MS: Devit/SVS, CGLAB/Devit/SVS SDA/Mapa	MS Funasa Anvisa CNS MCTIC MEC MMA MCidades MD
		4.2.3. Desenvolver um sistema nacional de informação integrada para a vigilância e monitoramento da AMR.	MS: Devit/SVS, CGLAB/Devit/SVS	MS Anvisa Mapa MMA Lacen-PR
	<b>4.3. Aprimorar a vigilância e o monitoramento da AMR no âmbito da saúde humana a fim de orientar protocolos clínicos para tratamento e avaliar tendências epidemiológicas.</b>	4.3.1. Aprimorar o sistema nacional de vigilância das infecções relacionadas à assistência à saúde (Iras).	Anvisa	MS
		4.3.2. Monitorar a susceptibilidade de microrganismos aos antimicrobianos.	Anvisa Devit/SVS/MS	MS
		4.3.3. Monitorar a comercialização e o consumo de antimicrobianos na saúde humana a partir das bases de gestão da Anvisa.	Anvisa	MS
		4.3.4. Propor o monitoramento da qualidade de antimicrobianos utilizados no país.	Anvisa	MS

Figura 7 - Exemplo de Objetivos Principais, Intervenções Estratégicas e Atividades implementadas pelo documento<sup>25</sup>.

No ano de 2022, a ANVISA, em parceria com Associação Brasileira de Profissionais em Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar (ABIH), com apoio técnico do Grupo de Tecnologia, Ensino e Segurança do Paciente (GTESP) do Hospital Santa Cruz e do Programa de Pós-Graduação em Promoção em Saúde da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC) – RS, lançou o Programa Stewardship Brasil<sup>26</sup>, com o objetivo de promover a implementação do

Programa de Gerenciamento de Antimicrobianos nos serviços de saúde brasileiro. Os resultados mostraram que no Brasil, cerca de 42% dos hospitais públicos e privados possuem um programa de gerenciamento de uso de antimicrobiano implementado. Já no DF, cerca de 2 a cada três hospitais possui tal programa.

Na agropecuária, no ano de 2018, foi lançado o Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no âmbito da Agropecuária – PAN-BR Agro – 1ª Etapa, também com duração de 5 anos (2018-2022). O balanço de atividades do quinquênio está disponível no site do MAPA. E em seguida, no ano de 2023, foi lançado o PAN-BR Agro – 2ª Etapa (2023-2027)<sup>27</sup>. Esses documentos apresentam estratégias e objetivos para que se preserve a eficácia dos antibióticos no futuro. Os Objetivos Estratégicos deste documento vigente são semelhantes aos destinados à saúde humana, porém com foco nos animais.

Assim, é possível perceber as ações que o Brasil está tomando para conter o crescimento da RAM. Diversas ações estão sendo tomadas, principalmente nos últimos 5 anos. Cabe ao Estado melhorar a disseminação dessas informações para a sociedade, pois pouco se é falado na mídia sobre esse assunto tão importante. A ciência deve ser utilizada de apoio para melhorar os dados gerados por esses projetos. A EBE, por exemplo, pode ser utilizada como ferramenta auxiliar para balizar as decisões referentes à resistência antimicrobiana.

## 2.7. EPIDEMIOLOGIA BASEADA NO ESGOTO (EBE)

O conceito da epidemiologia baseada no esgoto (EBE) foi proposto por Daughton em 2001<sup>28</sup>. Em 2005, a EBE já estava sendo utilizada para estimar o consumo de cocaína na Itália<sup>29</sup>. Porém, a correlação entre o esgoto e a comunidade já vinha se desenvolvendo desde meados de 1850, quando Dr. Jon Snow, considerado pai da epidemiologia, identifica a cólera como uma doença transmitida pela água<sup>30</sup>. Já em 1939, com evidências que o vírus da poliomielite poderia ser recuperado de fluidos corporais, o esgoto foi utilizado para a vigilância dessa doença<sup>30,31</sup>. A partir dos anos 2000, a EBE ganha força no cenário mundial como uma ferramenta versátil de monitoramento da comunidade. Essa abordagem se baseia na identificação de biomarcadores e, principalmente, na quantificação desses analitos. Assim, é possível relacionar o estilo de vida da comunidade, seus hábitos, suas doenças utilizando a EBE<sup>32</sup>.

O monitoramento via esgoto é uma técnica não-invasiva, pois respeita a privacidade dos indivíduos; é considerada rápida, conseguindo, a depender da estrutura, ter análises em tempo real<sup>30,32</sup>. A aplicabilidade é ampla, podendo ter uma vasta classe de analitos, tais como: drogas lícitas e ilícitas, produtos de higiene pessoal, marcadores populacionais, marcadores de estresse ou de consumo de determinada comida, entre outros<sup>33</sup>. Em 2021, a EBE foi uma importante aliada no combate ao Covid-19, sendo capaz de prever ondas e surtos da doença antes mesmo da ocorrência<sup>34</sup>. Dentre as desvantagens observadas estão as incertezas associadas na estimativa populacional, na escolha e na estabilidade dos biomarcadores, entre outras<sup>32</sup>. A discussão abaixo possui foco na EB voltada para a análise de moléculas. As etapas e desafios podem mudar quando o foco são genes ou vírus, por exemplo.

A epidemiologia baseada no esgoto é dividida, basicamente, em 5 etapas:

1. Amostragem
2. Preparo de Amostra
3. Análise Instrumental
4. Tratamento de Dados
5. Retrocálculo e Normalização do consumo

A amostragem é complexa e dependerá da finalidade de cada estudo. A utilização de amostradores automáticos é predominante nos estudos de EBE, pois, apesar de complexos, fornecem uma amostra representativa do esgoto, coletando pequenas alíquotas durante 24 horas para compor a amostra diária<sup>35</sup>. Estudos sugerem ainda que as alíquotas que irão compor a amostra diária devem ser proporcionais à vazão do esgoto em determinado momento. Para que isso seja viável, medidores de vazão devem trabalhar junto com amostradores automáticos, aumentando ainda mais a complexidade do sistema de amostragem<sup>35</sup>. Além disso, em datas festivas ou em feriados, por exemplo, o consumo de determinadas drogas pode aumentar, fazendo com que em alguma parte do dia a excreção dos metabólitos seja maior. O clima também possui seu papel na amostragem: se ela é realizada num período chuvoso, a matriz estará mais diluída; caso contrário, mais concentrada<sup>36</sup>. Todos esses aspectos devem ser levados em conta para que se tenha uma amostra representativa da comunidade.

A etapa do preparo de amostra é a etapa que requer mais tempo e que gera mais custo na EBE<sup>35</sup>. Isso se deve ao fato que a matriz utilizada na EBE, o esgoto, é extremamente complexa. Para a análise de moléculas, a técnica da extração em fase sólida (SPE) é amplamente utilizada na literatura<sup>37</sup>, mas se faz necessário estudos sobre recuperação dos analitos nos diversos tipos de cartuchos disponíveis no mercado. Ademais, as filtrações realizadas podem reter certos compostos<sup>35</sup>. Para contornar esses problemas citados, a utilização do modo SPE online é uma alternativa utilizada na literatura para diminuir os gastos de solvente e o tempo de preparo de amostra, por exemplo<sup>37</sup>.

Na análise instrumental, a técnica mais utilizada, cerca de 98% dos estudos na EBE, é a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS)<sup>36</sup>. Apesar de complexa e com alto valor de custo agregado, essa técnica instrumental entrega alta sensibilidade e acurácia nas análises qualitativas e quantitativas. É comum que a concentração dos metabólitos no esgoto esteja em escala igual ou menor que ng/L<sup>38</sup>. Para que a análise seja realizada de maneira mais confiável, otimizações nas condições da cromatografia (separação) e nas condições do espectrômetro de massas (detecção) são necessárias<sup>38</sup>. Uma preocupação importante é a ocorrência do efeito de matriz, que deve ser estudado, identificado e eliminado. Esse efeito ocorre devido à alta complexidade do esgoto, que pode amplificar ou diminuir a resposta instrumental, por meio de possíveis interferências de outras substâncias<sup>39</sup>.

Outra técnica recentemente explorada é a utilização da espectrometria de massas de alta resolução (HRMS), que realiza uma análise *untarget* para construir um perfil dos metabólitos presentes no esgoto. Apesar de promissora, a utilização da HRMS esbarra na alta complexidade do esgoto e nas baixas concentrações dos metabólitos<sup>38</sup>. Para seu desenvolvimento futuro, o tratamento de dados deve ser elevado a outro patamar, por exemplo, utilizando Inteligência Artificial (IA) como auxílio. Outras técnicas estão sendo utilizadas numa tentativa de desenvolver a EBE: Métodos óticos, como a Espectroscopia Raman amplificada por superfície (SERS) e estratégias eletroquímicas<sup>35,38,40</sup>.

O tratamento dos dados e o retrocálculo são uma etapa crucial para uma estimativa assertiva. Os dados iniciais de excreção, estabilidade no esgoto, estabilidade na estocagem, possíveis perdas no preparo de amostra devem ser considerados nessa etapa. Um fator de correção  $f$  é criado de acordo com a peculiaridade de cada metabólito<sup>38</sup>, levando em consideração sua excreção pelo ser

humano. Deve-se também ter dados confiáveis da população que cada estação de esgoto comporta. Tal dado pode ser obtido por meio de dados censitários ou de parâmetros químicos que podem monitorar a população, como por exemplo, a concentração de amônio e o nitrogênio total<sup>35</sup>.

Utiliza-se as seguintes fórmulas para o retrocálculo<sup>41</sup>:

$$Carga (mg/1000hab/dia) = \frac{C \times Qv}{P \times 1000} \quad (1)$$

$$Consumo (mg/1000hab/dia) = Carga \times f \quad (2)$$

$$f = \frac{1}{EF} \times \frac{MM_{parental}}{MM_{metabólito}} \quad (3)$$

Onde  $C$  é a concentração do analito alvo no esgoto bruto em ng/L,  $Qv$  é vazão do esgoto bruto na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) em L/dia,  $P$  é o número de pessoas que a ETE atende e  $f$  é o fator de correção, que deve ser calculado individualmente para cada analito, pois é baseado em seus dados de excreção.  $EF$  é a fração do analito excretada pelo corpo humano através da urina. Caso o cálculo seja de um metabólito, a divisão das massas molares deve ser considerada. Por outro lado, se o analito já é um composto parental, essa fração terá valor 1.

## 2.8. APLICAÇÕES DA EBE

A EBE, atualmente, é amplamente utilizada ao redor do mundo para diversas finalidades. Alguns analitos, como alguns medicamentos, drogas ilícitas e seus metabolitos, já possuem rotina analítica conhecida e são utilizados para estimar o consumo dessas substâncias por determinada comunidade<sup>36</sup>. Por outro lado, a EBE tende a crescer e expandir sua aplicabilidade. Pesticidas, produtos de beleza, poluentes orgânicos persistentes, entre outros, são exemplos de analitos que estão sendo estudados. Outra ambição de aplicação da EBE é no estudo sobre incidência de doenças na comunidade, tais como câncer, estresse, alergias e diabetes, por exemplo<sup>32</sup>. Para que os benefícios da EBE alcancem a comunidade de maneira mais rápida, parcerias internacionais e nacionais são necessárias para que o desenvolvimento das técnicas ocorra.

Dessa maneira, foi criado, em 2011, o grupo SCORE, que interconecta grupos de pesquisa e pesquisadores de 37 países com a finalidade de desenvolver a EBE por meio da colaboração internacional e da troca de conhecimento. Esse grupo possui integrantes de 120 cidades no mundo e tem acesso aos dados de 143 estações de tratamento de esgoto. O grupo SCORE possui aplicações em drogas lícitas e ilícitas, contaminantes em comida e no meio ambiente, marcadores populacionais e doenças infecciosas<sup>42</sup>. Nesse último tópico, vale ressaltar que a EBE foi um grande aliado na luta contra o Covid-19 no mundo, entregando informações essenciais da situação pandêmica em diversas cidades<sup>43</sup>.

No Brasil, o Projeto Cloacina é um exemplo do uso da EBE a nível nacional para dar suporte nas decisões governamentais. Este projeto busca estimar o consumo de drogas via análise de esgotos em cidades e regiões metropolitanas relevantes do Brasil, sob diferentes escalas temporais e espaciais, em consonância com as políticas de redução de oferta coordenadas pela Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas (SENAD) do Ministério da Justiça (MJ).

Dentre as aplicações de analitos farmacêuticos, a análise via EBE de antibióticos é relativamente nova no cenário global. A Tabela 2 resume vários trabalhos publicados mostrando o ano da publicação, a localidade e a estima de consumo *per capita* de alguns antibióticos alvo desse estudo.

Tabela 2 - Consumo estimado per capita de antibióticos em outros países.

Antibiótico	Localidade	Ano da publicação	Consumo per capita (mg/dia/1000hab)
Sulfametoxazol	Beijing/China	2024	109,7 <sup>44</sup>
	Suzhou/China	2024	38,7 <sup>44</sup>
	Foshan/China	2024	19 <sup>44</sup>
	Beijing/China	2019	132 <sup>45</sup>
	30 cidades da China	2022	54,8 <sup>41</sup>
	2 cidades da China	2022	65,5 <sup>46</sup>
	7 cidades da China	2022	3~1715 <sup>47</sup>
	Lituânia	2022	1000 <sup>48</sup>
	Guangzhou/China	2006	16000 <sup>49</sup>
	Brisbane/Australia	2007	720 <sup>50</sup>
	Atenas/Grécia	2021	305-860 <sup>51</sup>
Ciprofloxacina	4 cidades da China	2016	2063 <sup>52</sup>
	Beijing/China	2024	8,4 <sup>44</sup>



	Suzhou/China	2024	9,4 <sup>44</sup>
	Foshan/China	2024	10,4 <sup>44</sup>
	30 cidades da China	2022	56,4 <sup>41</sup>
	2 cidades da China	2022	4,3 <sup>46</sup>
	Atenas/Grécia	2021	853,1 <sup>51</sup>
	Lituânia	2022	490 <sup>48</sup>
<b>Azitromicina</b>	Beijing/China	2024	827,6 <sup>44</sup>
	Suzhou/China	2024	690,3 <sup>44</sup>
	Foshan/China	2024	173,8 <sup>44</sup>
	30 cidades da China	2022	136,2 <sup>41</sup>
	Atenas/Grécia	2021	656,3 <sup>51</sup>
	Lituânia	2022	1700 <sup>48</sup>
<b>Levofloxacina</b>	Beijing/China	2024	170,7 <sup>44</sup>
	Suzhou/China	2024	115,7 <sup>44</sup>
	Foshan/China	2024	114,8 <sup>44</sup>
	30 cidades da China	2022	271,5 <sup>41</sup>
	2 cidades da China	2022	40,3 <sup>46</sup>
	7 cidades da China	2022	2~291 <sup>47</sup>
	Atenas/Grécia	2021	48,4 <sup>51</sup>
	Lituânia	2022	8 <sup>48</sup>
	4 cidades da China	2016	326 <sup>52</sup>
<b>Trimetoprim</b>	Gales do Sul/Inglaterra	2009	700–2300 <sup>53</sup>
	Brisbane/Austrália	2007	80 <sup>50</sup>
	Cidades Chinesas	2015	993 <sup>54</sup>
	2 cidades chinesas	2020	580–1100 <sup>55</sup>
	Atenas/Grécia	2021	94–122 <sup>51</sup>
	7 cidades da China	2022	1–72 <sup>47</sup>
	4 cidades da China	2016	51 <sup>52</sup>
	Itália	2016	130 <sup>52</sup>

## 2.9. ESTABILIDADE, TAXA DE EXCREÇÃO E FATOR DE CORREÇÃO PARA OS ANTIBIÓTICOS

A taxa de excreção de antibióticos pelo corpo humano é bem estudada na literatura. Apenas uma parte da droga é digerida e absorvida pelo corpo humano e em média, aproximadamente, de 30 a 90% da droga é excretada pela urina ou fezes em até 24 horas do consumo<sup>8</sup>. Taxas de excreção dos antibióticos a serem avaliados neste estudo são mostradas na Tabela 3.

Tabela 3 - Taxas de excreção e fatores f dos antibióticos utilizados no estudo.

<b>Antibiótico</b>	<b>Classe pertencente</b>	<b>Taxa de Excreção (%)</b>	<b>Fator f</b>
<b>Amoxicilina</b>	Beta-lactâmicos	60	1,67 <sup>56</sup>
<b>Azitromicina</b>	Macrolídeos	14	7,14 <sup>57</sup>
<b>Cefalexina</b>	Beta-lactâmicos	60	1,67 <sup>56</sup>
<b>Ciprofloxacina</b>	Quinolonas	51,16	1,99 <sup>58</sup>
<b>Claritromicina</b>	Macrolídeos	34,28	2,92 <sup>58</sup>
<b>Levofloxacina</b>	Quinolonas	80	1,25 <sup>58</sup>
<b>Penicilina G</b>	Beta-lactâmicos	60	1,67 <sup>59</sup>
<b>Sulfametoxazol</b>	Sulfonamidas	15,21	6,57 <sup>58</sup>
<b>Tetraciclina</b>	Tetraciclinas	64,52	1,55 <sup>58</sup>
<b>Trimetoprim</b>	Trimetoprim	63,09	1,58 <sup>58</sup>

Já a estabilidade em condições laboratoriais foi estudada em outro trabalho<sup>60</sup>. Nesse estudo, 7 antibióticos (sulfapiridina-SPY, sulfametoxazol-SMX, roxitromicina-RTM, azitromicina-ATM, trimetoprim-TMP, claritromicina-CTM e lincomicina-LIN) em amostras de esgoto foram colocados sob diferentes tempos e temperaturas de armazenagem para verificar sua estabilidade. O resultado pode ser observado na Figura 8. Pode-se observar que a quando armazenado é realizado em temperatura de -80°C, os analitos são basicamente estáveis por 30 dias. Essa condição é a indicada para preservar os analitos até que a etapa de preparo de amostra seja executada.

Outro estudo realizou a quantificação de medicamentos no esgoto bruto, no esgoto tratado e no lodo, a fim de verificar a eficiência na retirada dessas substâncias pelo sistema de tratamento. Realizado no sul do Brasil, verificou-se que antibióticos como ciprofloxacina, levofloxacina e tetraciclina tiveram alta taxa de adsorção no lodo da ETE. A tetraciclina foi quantificada apenas no lodo, enquanto a ciprofloxacina e a levofloxacina também foram encontradas no esgoto bruto<sup>61</sup>.

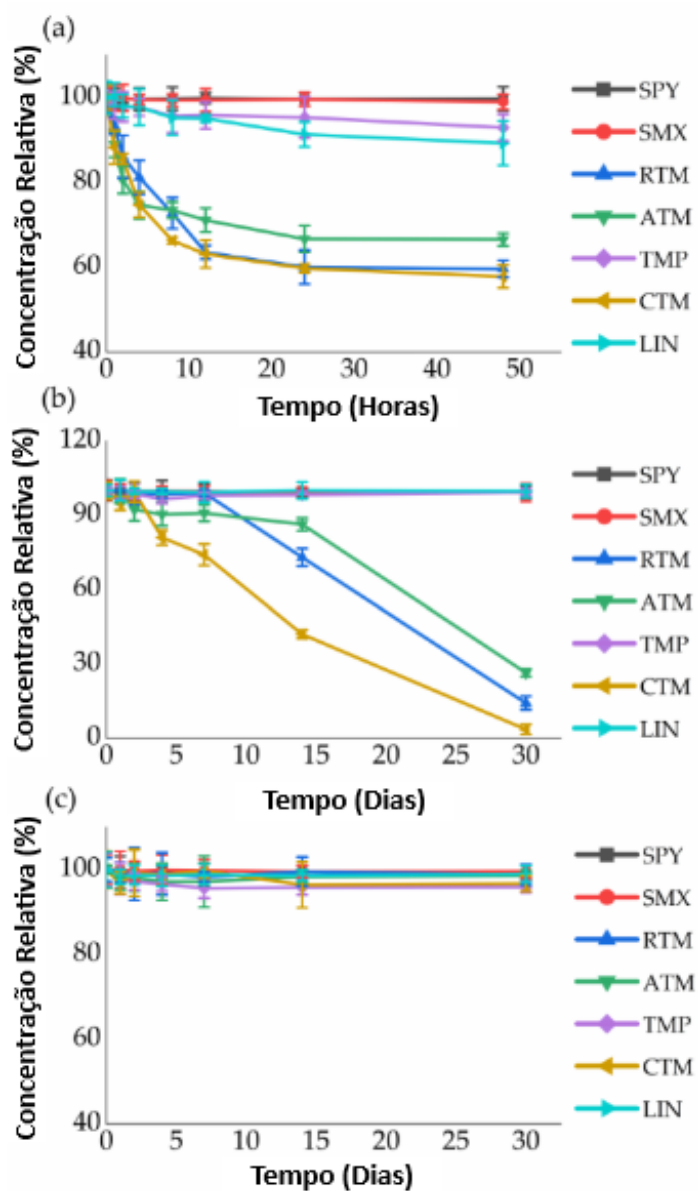


Figura 8 - Estabilidade dos analitos em três diferentes condições. a) 4 °C por 48 horas; b) -20 °C por 30 dias; c) -80 °C por 30 dias. Adaptado<sup>60</sup>

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVOS GERAIS

Investigar a utilização da Epidemiologia Baseada no Esgoto como ferramenta para estimar o consumo médio *per capita* de antibióticos no Distrito Federal durante dois períodos amostrais de uma semana, sendo um em 2023 e outro em 2024.

#### 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar e quantificar 10 antibióticos (Amoxicilina, Azitromicina, Cefalexina, Ciprofloxacina, Claritromicina, Levofloxacina, Penicilina G, Sulfametoxazol, Tetraciclina e Trimetoprim) em amostras de esgoto de 7 ETEs do Distrito Federal (Brasília Norte, Brasília Sul, Gama, Melchior, Planaltina, Riacho Fundo e São Sebastião);
- Estimar o consumo desses antibióticos em diferentes regiões do Distrito Federal, que são cobertas pelas ETEs;
- Utilizar a base de dados da ANVISA, o SNGPC, para observar o comportamento das dispensas de antibióticos no Distrito Federal e comparar com os dados estimados pela EBE;

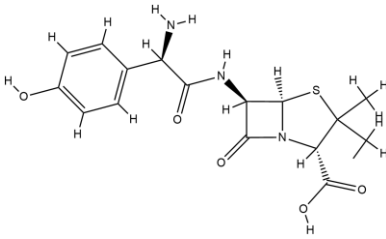
#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Metanol (MeOH) grau HPLC foi adquirido da J.T.Baker (USA), acetonitrila (ACN) grau HPLC da Merck (Alemanha) e ácido fórmico 98-100% grau LC-MS da Merck (Alemanha). Ácido clorídrico 37% (HCl) e hidróxido de amônio (NH<sub>4</sub>OH) 28-30% foram adquiridos da Vetec Química Fina (Brasil). Água ultrapura do tipo 1 foi produzida em purificador Arium Mini (Sartorius, Alemanha). Cartuchos de extração em fase sólida Strata-X 6cc contendo 200 mg de fase extratora polimérica foram adquiridos da Phenomenex (USA). As fabricantes dos padrões certificados dos analitos e suas purezas, são mostradas na Tabela 4 e suas respectivas classes e estruturas moleculares mostradas na Figura 9. Tendo como base as vendas compiladas no trabalho de Del Fiol<sup>18</sup>, em 2022, esses 12 antibióticos foram escolhidos, pois juntos, somam mais de 90% das vendas no país. A substância deuterada, Trimetoprim-d<sub>9</sub>, foi empregada como padrão interno na curva analítica e como padrão *surrogate* somente para a análise do trimetoprim.

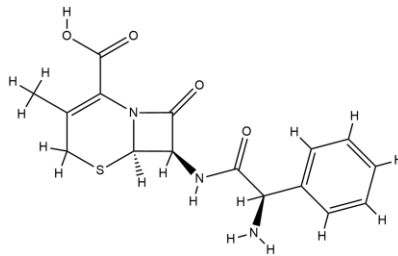
Tabela 4 - Dados dos padrões utilizados.

Analito	Acrônimo	Fabricante	Pureza
<b>Amoxicilina Cristalina</b>	AMX	Sigma-Aldrich	95-102%
<b>Azitromicina</b>	AZT	Merck	>98%
<b>Cefalexina</b>	LEX	Sigma-Aldrich	>99,7%
<b>Ciprofloxacina</b>	CIP	Sigma-Aldrich	>98%
<b>Claritromicina</b>	CTM	LGC Dr. Ehrenstorfer	98,9%
<b>Levofloxacina</b>	LEV	Sigma-Aldrich	>98%
<b>Penicilina G (Benzilpenicilina)</b>	PENG	Sigma-Aldrich	96-102%
<b>Sulfametoxazol</b>	SMX	Sigma-Aldrich	>98%
<b>Tetraciclina</b>	TET	Sigma-Aldrich	>88%
<b>Trimetoprim</b>	TMP	Sigma-Aldrich	>99%
<b>Trimetoprim-d<sub>9</sub></b>	TMP-d <sub>9</sub>	Sigma-Aldrich	>99%

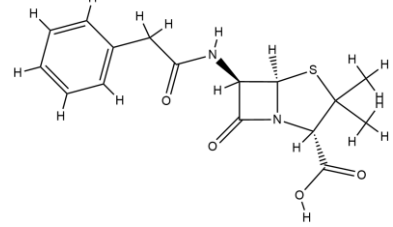
**Beta-Lactâmicos:**



Amoxicilina



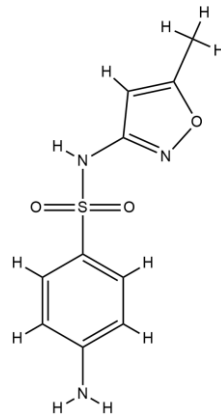
Cefalexina



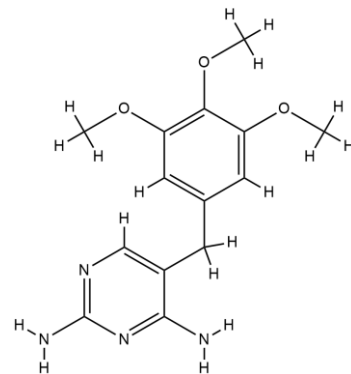
Penicilina G (Benzilpenicilina)

**Sulfonamidas:**

Sulfametoxazol



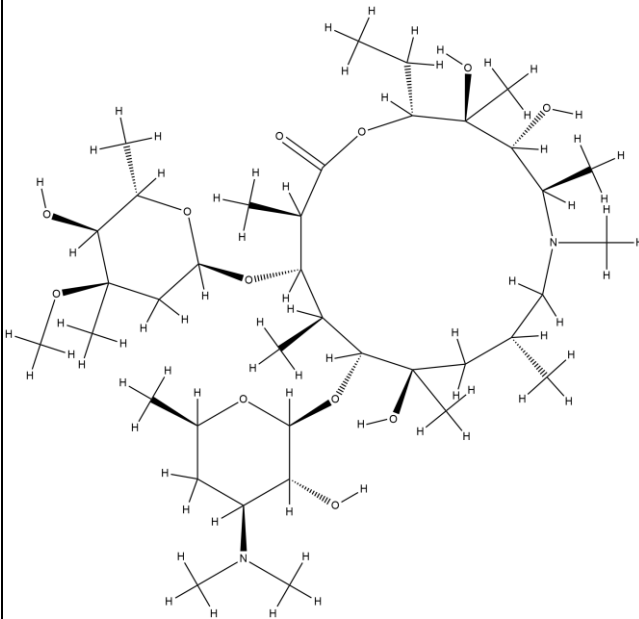
**Trimetoprim:**



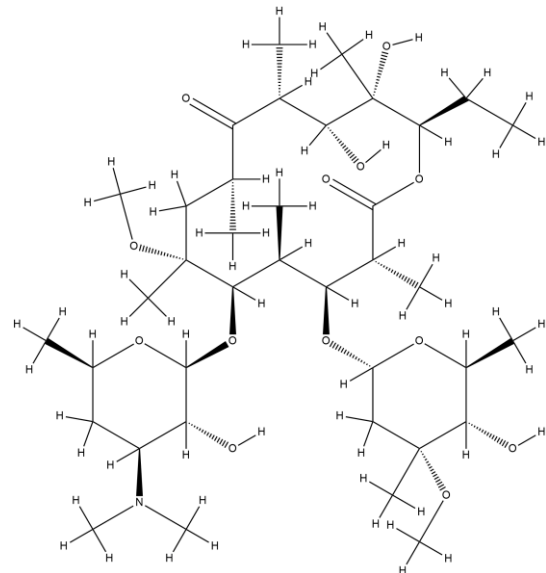
Trimetoprim

**Macrolídeos:**

Azitromicina



Claritrommicina



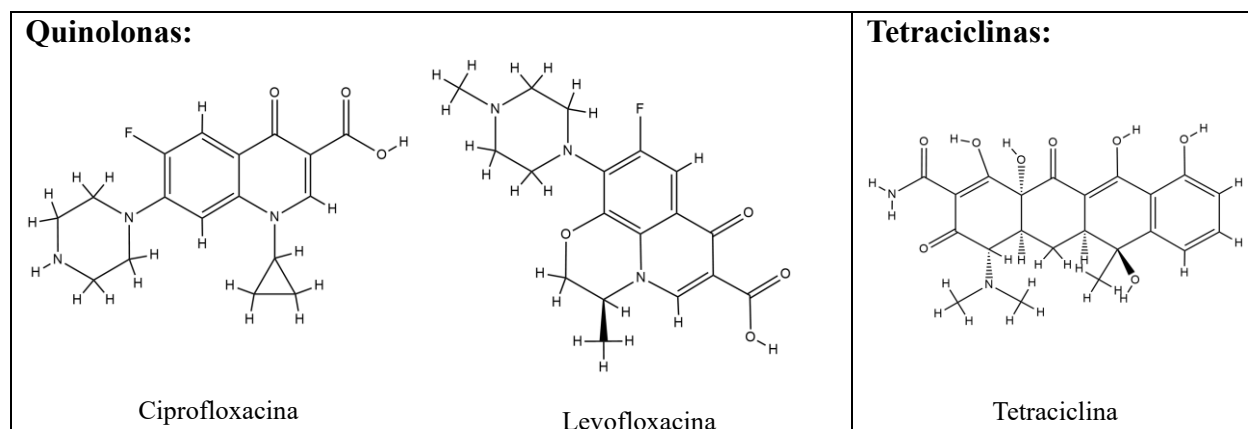


Figura 9 - Antibióticos utilizados no estudo, suas respectivas classes e estruturas moleculares.

#### 4.1. CURVA ANALÍTICA

As curvas analíticas foram realizadas por superposição de matriz com calibração interna. Esse método é utilizado para compensar o efeito de matriz em análises multicomponentes de amostras complexas, como por exemplo as amostras de esgoto. A realização consistiu na adição de 14 pontos de concentrações distintas (0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10; 25; 50; 100; 150; 250; 375; 500; 750; 1000 ppb) para as amostras de 2023. Para as amostras de 2024 e para o ensaio de recuperação, a curva analítica foi realizada com a adição de 10 pontos de concentrações distintas (1,0; 5,0; 10; 25; 50; 100; 250; 500; 750; 1000 ppb). O mix de analitos foi adicionado em extratos de amostras de esgoto que passaram por todo o preparo de amostra (filtração, extração em fase sólida, pré-concentração e ressuspensão). Um branco, sem adição de analitos também foi realizado, de modo a subtrair a quantidade de analitos que possivelmente poderiam estar presentes no extrato.

#### 4.2. AMOSTRAGEM

As amostragens foram realizadas em sete Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) no Distrito Federal: Brasília Norte (NO), Brasília Sul (SU), Planaltina (PL), Riacho Fundo (RF), São Sebastião (SS), Gama (GA) e Melchior (ME). A Figura 10 mostra localização geográfica das estações, enquanto a Tabela 4 apresenta características específicas de cada ETE. A ETE Samambaia, mostrada também na Figura 10, está em operação juntamente com a ETE Melchior.

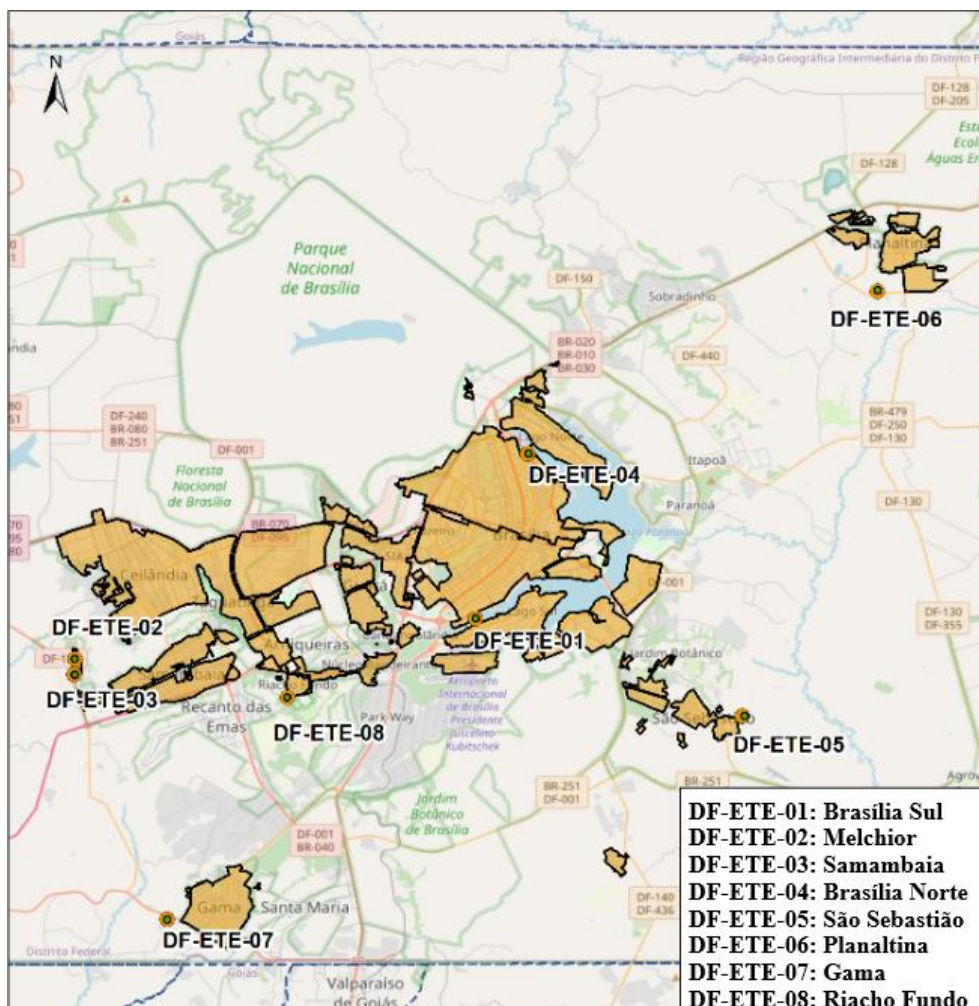


Figura 10 - Localização das ETEs no Distrito Federal.

Em 2023, a realização das coletas ocorreu durante uma semana, entre os dias 02/08/2023 (quarta-feira) e 08/08/2023 (terça-feira). Já em 2024, as coletas ocorreram entre os dias 28/08/2024 (quarta-feira) e 03/09/2024 (terça-feira). A frequência amostral escolhida foi a amostragem composta, ou seja, diariamente, a partir das 00 h, alíquotas de 100 mL foram recolhidas do material contínuo a cada 1 h, por 24 h, que posteriormente foram misturadas em um mesmo frasco, pelos próprios funcionários da Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB), para se obter uma amostra composta e representativa de um dia e de uma ETE. Amostradores automáticos refrigerados do modelo AS950 HACH 115VAC (HACH, USA) foram programados e dispostos em cada ponto amostral, conforme mostra a Figura 11. A Tabela 5 apresenta a vazão volumétrica média anual e a população atendida por cada ETE. As Tabelas 6 e 7 representam as



vazões obtidas por dia em cada ETE durante os períodos amostrais de 2023 e 2024, respectivamente.

Tabela 5 - Características específicas de cada ETE do DF (CAESB,2023).

<b>ETE</b>	<b>Regiões Atendidas</b>	<b>Vazão Média Anual (L/s)</b>	<b>População Atendida</b>
<b>SU</b>	Asa Sul/ parte da Área Central de Brasília, Núcleo Bandeirante, Guará I e II, Cruzeiro/Octogonal/Sudoeste, parte do Lago Sul, Riacho Fundo (Quadra QN1), S.I.A., parte de Águas Claras, Candangolândia.	1319	450270
<b>NO</b>	Asa Norte/ Vila Planalto/ parte da Área Central de Brasília, Lago Norte, Taquari, Vila Estrutural, Vila Varjão, Torto.	450	212128
<b>PL</b>	Planaltina	154	209142
<b>RF</b>	Riacho Fundo 1	46	60498
<b>SS</b>	São Sebastião	131	183733
<b>GA</b>	Gama	187	134982
<b>ME</b>	Taguatinga, Ceilândia, parte de Águas Claras e parte de Samambaia.	1272	1232474

Tabela 6 - Vazão média obtida, por ETE, em L/s, no período amostral de 2023.

<b>Dia da coleta</b>	<b>Vazão Média (L/s)</b>						
	<b>SU</b>	<b>NO</b>	<b>PL</b>	<b>RF</b>	<b>SS</b>	<b>GA</b>	<b>ME</b>
<b>02/08/2023</b>	1098,2	600,5	135,3	71,7	167,6	172,2	1188,1
<b>03/08/2023</b>	1110,4	622,5	131,3	72,8	162	175,2	1224,9
<b>04/08/2023</b>	1140,7	600,5	135,6	73,8	167,3	173,5	874
<b>05/08/2023</b>	1034,6	525,2	137,8	78,6	172,7	172,7	1276,9
<b>06/08/2023</b>	945,3	511,8	136,1	75,1	165,4	161,1	1309,5
<b>07/08/2023</b>	1116,1	602,6	136,1	77,1	163,7	169,5	1254,5
<b>08/08/2023</b>	1133,3	594,1	130,1	79,6	163,3	176,7	1259,2

Tabela 7 - Vazão média obtida, por ETE, em L/s, no período amostral de 2024.

Dia da coleta	Vazão Média (L/s)						
	SU	NO	PL	RF	SS	GA	ME
28/08/2024	1025,2	605,2	99,1	74,8	134,1	168,3	1247,9
29/08/2024	1033,5	586,1	97,7	73,3	133,8	165,0	1156,2
30/08/2024	1043,9	582,2	98,1	73,3	136,2	164,4	1234,6
31/08/2024	905,2	476,6	103,8	73,4	143,7	164,9	1317,0
01/09/2024	843,5	487,9	83,4	72,1	140,5	161,1	1296,9
02/09/2024	1020,0	532,7	86,1	68,3	135,7	163,3	1252,8
03/09/2024	978,1	589,3	101,2	70,1	133,9	160,0	1221,9



Figura 11 – Autoamostrador utilizado na coleta das amostras nas ETEs do Distrito Federal.

### 4.3. CONDICIONAMENTO E PREPARO DE AMOSTRA

Para as análises das amostras de 2023, foi realizada uma etapa de acidificação para condicionar as amostras. No laboratório, uma alíquota de 200 mL de cada amostra composta foi acidificada a pH 2 com solução diluída de ácido clorídrico e congelada a cerca de  $-80^{\circ}\text{C}$  em ultrafreezer modelo IULT 180D (Indrel Scientific, Brasil). Por outro lado, nas análises de 2024, a etapa da acidificação não foi realizada, logo, o condicionamento das amostras foi feito apenas com a utilização do ultrafreezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Para realizar a etapa do preparo de amostras, após descongeladas as amostras, alíquotas de 100 mL foram filtradas à vácuo em membrana de microfibras de vidro de MN 439 de tamanho médio de poro  $1,5\ \mu\text{m}$  (código 4020047, Macherey-Nagel, Alemanha), seguida do ajuste para pH 6 com solução diluída de hidróxido de amônio e enriquecimento com  $50\ \mu\text{L}$  de mix de padrões deuterados *surrogate* a uma concentração de  $400\ \mu\text{g/L}$  (apenas o trimetoprim-d9 foi utilizado nesse trabalho). Os cartuchos Strata-X contendo 200 mg de sorvente polimérico foram condicionados com 10 mL de metanol seguido por 10 mL de água ultrapura tipo 1, ambas sob ação da gravidade, em sistema de extração do tipo manifold (Chromabond, Alemanha). Após o condicionamento dos cartuchos, as alíquotas das amostras foram submetidas a SPE, também sob vazão pela força da gravidade, conforme mostrado na Figura 12.

Após a extração em SPE, os cartuchos foram secos com uma bomba de vácuo conectada ao sistema manifold para garantir que todo líquido fosse removido. Os cartuchos foram guardados sob refrigeração a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise. Antes da análise, os analitos foram eluídos dos cartuchos, em sistema manifold de eluição (Supelco, USA), com 8 mL de metanol, e os extratos foram submetidos a evaporação com gás  $\text{N}_2$  em sistema Multivap 10 (LabTech, Itália) até o volume de aproximadamente  $100\ \mu\text{L}$ , aferido com seringa do tipo gastight 1710N (Hamilton, EUA) e posteriormente, completado para 1 mL com a fase A da cromatografia (água ultrapura tipo 1 e ácido fórmico a 0,05%), obtendo um fator de pré-concentração de 100 vezes. Finalmente, antes das injeções, os extratos foram filtrados em filtros de seringa PVDF  $0,25\ \mu\text{m}$  (Allcrom, Brasil) para garantir o não entupimento do sistema UPLC.



Figura 12 - Sistema de extração em fase sólida. A: recipiente contendo a amostra. B: cartucho de SPE. C: sistema manifold.

#### 4.4. ANÁLISE INSTRUMENTAL

Esse trabalho foi realizado na expectativa de aproveitar a rotina analítica já implementada no laboratório Automação, Quimiometria e Química Ambiental (AQQUA) para as análises de drogas ilícitas e seus metabólitos em esgoto. Assim, foi realizada uma análise exploratória na tentativa de utilizar o método já desenvolvido e verificar a possibilidade de sua aplicação para antibióticos. A técnica para determinação dos analitos neste trabalho foi por LC-MS/MS. O equipamento utilizado foi um 1290 Infinity II da Agilent (EUA) com amostrador automático e forno para coluna, acoplado ao espectrômetro de massas do tipo triplo quadrupolo 6470 LC/TQ (EUA). A coluna cromatográfica utilizada foi a Eclipse Plus RRHD C18 da Agilent (EUA), com 50 mm de comprimento, 2,1 mm de diâmetro interno e 1,8 µm de tamanho de partícula.

O método analítico para as análises de epidemiologia baseada no esgoto do grupo AQQUA-UnB foi desenvolvido para abranger todos os analitos de interesse da equipe. Dessa forma, drogas ilícitas, medicamentos, metabólitos e outras substâncias são analisadas pelo mesmo método analítico. Por esse motivo, a cromatografia em fase reversa, utilizando a coluna Eclipse Plus RRHD C18, que é eficaz na separação de compostos ácidos, básicos e compostos muito polares, foi selecionada. A fase móvel foi utilizada em gradiente, sendo a fase A (aquosa) composta de água ultrapura tipo 1 e ácido fórmico a 0,05% e fase B (orgânica) composta de 95% metanol e 5% acetonitrila. A Tabela 8 sumariza todos os parâmetros cromatográficos.

Tabela 8 - Parâmetros cromatográficos.

Parâmetro	Valor
Vazão da fase móvel	300 $\mu\text{L}/\text{min}$
Volume de injeção	5 $\mu\text{L}$
Temperatura da coluna	35 $^{\circ}\text{C}$
Gradiente da fase móvel	0,0 – 0,5 min: 5% B 0,5 – 1,5 min: 5% - 60% B 1,5 – 2,5 min: 60% B 2,5 – 3,0 min: 60% - 80% B 3,0 – 3,5 min: 80% B 3,5 – 4,0 min: 80% - 90% B 4,0 – 9,0 min: 98% B 9,0 – 9,1 min: 98% - 5% B 9,1 – 10 min: 5% B
Tempo de condicionamento	5 min

Após a passagem e separação dos analitos no sistema cromatográfico, as moléculas presentes na fase líquida são transferidas para a fase gasosa em uma fonte de ionização por eletrospray (ESI, do inglês, *electrospray ionization*). Essa fonte de ionização já faz parte do espectrômetro de massas. Na fonte ocorre a formação de íons precursores, usualmente moléculas desprotonadas ( $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ ) para análises realizadas sob polaridade negativa e moléculas protonadas ( $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ ) no modo positivo. O primeiro quadrupolo funcionará como um filtro, deixando passar apenas íons precursores selecionados. O segundo quadrupolo é uma célula de colisão que fragmentará os íons precursores em íons produtos. O terceiro quadrupolo funcionará, também, como um filtro, deixando passar apenas íons produtos selecionados. Esses, por fim, chegam ao detector para serem processados e quantificados pelo sistema. A Figura 13 esquematiza o processo que ocorre no sistema triplo quadrupolo.

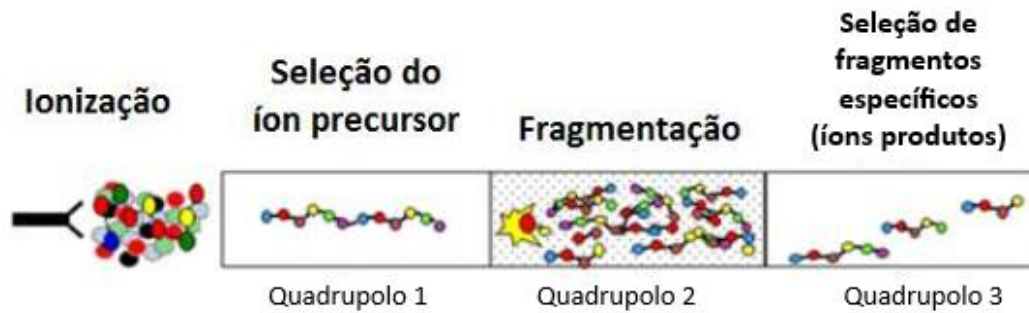


Figura 13 - Ilustração do funcionamento da espectrometria de massas triplo quadrupolo.

A utilização dessa técnica instrumental no modo MRM (*multiple reaction monitoring*) possui a vantagem de acompanhar, de forma simultânea, diversas transições. A relação entre o íon precursor e um íon produto é altamente específica e é denominada transição precursor-produto. Para cada substância, ao menos duas transições são monitoradas, promovendo alta seletividade e detectabilidade à análise. Transições precursor-produto para cada substância investigada foram selecionadas por meio de base de dados forense fornecida pelo equipamento e confirmada por meio de injeções de padrões individuais de cada substância. As transições monitoradas de cada analito e as características e parâmetros do espectrômetro de massas são descritas na Tabela 9 e 10. A transição *Quantifier* foi utilizada para determinar a resposta do analito, ou seja, para efetivamente quantificar o analito. Por outro lado, a transição *Qualifier* é utilizada para confirmação do analito. Assim, pode-se ter certeza de que o pico analisado é o analito alvo e não interferentes que podem estar presentes na matriz.

Tabela 9 - Transições monitoradas de cada analito.

<b>Analito</b>	<b>Transição <i>Quantifier</i></b>	<b>Transição <i>Qualifier</i></b>
<b>Amoxicilina</b>	366,0 → 114,0	366,0 → 208,0
<b>Azitromicina</b>	749,5 → 591,4	749,5 → 573,4
<b>Cefalexina</b>	348,1 → 174,0	348,1 → 158,0
<b>Ciprofloxacina</b>	332,1 → 231,1	332,1 → 314,1
<b>Claritromicina</b>	748,5 → 590,4	748,5 → 558,4
<b>Levofloxacina</b>	362,2 → 261,1	362,2 → 318,2
<b>Penicilina G (Benzilpenicilina)</b>	335,1 → 160,0	335,1 → 114,0
<b>Sulfametoxazol</b>	254,1 → 92,0	254,1 → 156,0
<b>Tetraciclina</b>	445,2 → 410,1	445,2 → 337,1
<b>Trimetoprim</b>	291,1 → 230,1	291,1 → 123,1

Tabela 10 - Parâmetros da espectrometria de massas.

<b>Analito</b>	<b>Íon Precursor</b>	<b>Íon Produto</b>	<b>Dwell</b>	<b>Fragmentor</b>	<b>Energia de Colisão</b>	<b>Cell Accelerator Voltage</b>	<b>Polaridade</b>
<b>AMX</b>	366,0	114,0	5	80	15	3	Positiva
<b>AMX</b>	366,0	208,0	5	40	8	3	Positiva
<b>AZT</b>	749,5	591,1	5	180	45	3	Positiva
<b>AZT</b>	749,5	573,3	5	180	60	3	Positiva
<b>LEX</b>	348,1	174,0	5	80	10	3	Positiva
<b>LEX</b>	348,1	158,0	5	80	10	3	Positiva
<b>CIP</b>	332,1	231,1	5	150	60	3	Positiva
<b>CIP</b>	332,1	314,1	5	150	40	3	Positiva
<b>CTM</b>	748,5	590,4	5	150	20	3	Positiva
<b>CTM</b>	748,5	558,4	5	150	20	3	Positiva
<b>LEV</b>	362,2	261,1	5	150	35	3	Positiva
<b>LEV</b>	362,2	318,2	5	150	24	3	Positiva
<b>PENG</b>	335,1	160,0	5	65	6	3	Positiva
<b>PENG</b>	335,1	114,0	5	65	18	3	Positiva
<b>SMX</b>	254,1	92,0	5	125	28	3	Positiva
<b>SMX</b>	254,1	156,0	5	125	18	3	Positiva
<b>TET</b>	445,2	410,1	5	150	20	3	Positiva
<b>TET</b>	445,2	337,1	5	150	40	3	Positiva
<b>TMP</b>	291,1	230,1	5	158	28	3	Positiva



<b>TMP</b>	291,1	123,1	5	158	28	3	Positiva
------------	-------	-------	---	-----	----	---	----------

---

#### 4.5. TRATAMENTO DE DADOS

Os dados gerados pelo LC-MS/MS (áreas dos picos) foram inicialmente tratados no software *QQQ Quantitative Analysis (Quant-My-Way)*, *Mass Hunter* da empresa Agilent Technologies, EUA. Após essa etapa, todos os cálculos de concentração e os retrocálculos foram realizados no software Excel.

#### 4.6. ENSAIO DE RECUPERAÇÃO

A recuperação é uma etapa essencial para a validação de qualquer método analítico. No escopo desse trabalho, sua importância é ainda maior, pois as análises são realizadas em uma matriz complexa. Durante o processo de extração, parte do analito pode ser perdida, prejudicando a interpretação correta dos resultados. Deve-se, então, compensar os dados gerados com a recuperação<sup>62</sup>.

A realização desse ensaio foi realizada repetindo os mesmos passos realizados na análise das amostras. Primeiramente, uma alíquota de esgoto bruto foi filtrada em membrana de vidro e o pH foi ajustado para 6. Foram utilizados 11 balões de 100 mL, identificados como CC1, CC2, CC3, CC4, CC5, CC6, B1, B2, BSPE1, BSPE2, BSPE3. Os balões CC1 até CC6 foram utilizados para fazer a curva em matriz. Nesses balões, não foi adicionado nada antes da extração. Os balões foram aferidos, passados no processo de SPE, evaporados no Multivap e reconstituídos com 1 mL da fase móvel A do método. Todas essas 6 alíquotas foram misturadas em um *pool*, gerando 6 mL de esgoto pré concentrado para realizar a curva. Os balões B1 e B2 são os brancos. Foram adicionados apenas padrões internos antes da etapa de extração. Os balões BSPE1 até BSPE3 são os balões que, além de receberem padrão interno, receberam o *spike* de padrões em diferentes concentrações para obtermos as concentrações pré-definidas de 10ppb, 50ppb e 500pb no extrato reconstituído. Para verificar possíveis interferências na utilização do filtro de seringa PVDF 0,25 µm utilizado na filtração do extrato, metade do extrato foi filtrado e outra metade foi centrifugado antes da injeção no sistema UPLC.

Para o cálculo da recuperação, foram realizadas triplicatas de leitura instrumental e foi utilizada a seguinte Equação:

$$Rec(\%) = \frac{(Concentração amostra - Concentração branco)}{Concentração do spike} \times 100 \quad (4)$$

Os resultados de concentração da amostra e sua respectiva concentração do *spike* foram calculados utilizando os balões BSPE1 (*spike* de 10ppb), BSPE2 (*spike* de 50ppb) e BSPE3 (*spike* de 500ppb). A concentração do branco utilizada foi uma média encontrada das concentrações calculadas dos balões B1 e B2.

#### 4.7. RECEITAS PARA ANTIMICROBIANOS EMITIDAS NO DISTRITO FEDERAL

Essa análise foi realizada através do banco de dados do Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados – SNGPC. Os arquivos .xls disponíveis no site da ANVISA são separados por mês e ano. Os arquivos dos últimos seis meses em que a plataforma funcionou (junho/2021 até novembro/2021) foram baixados e os dados tratados no programa Excel. Recentemente, a ANVISA também disponibilizou uma plataforma de visualização dos dados que está disponível para o público em seu *site*. Essa ferramenta, que utiliza o software PowerBI da Microsoft também foi utilizada para melhor visualização dos dados.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. VENDAS DE MEDICAMENTOS QUE CONTÉM ANTIMICROBIANOS NO DISTRITO FEDERAL

Na realização dessa etapa, mais uma inconsistência do sistema disponibilizado pela ANVISA foi detectada. Acreditava-se que seria possível avaliar as vendas separadas por Regiões Administrativas do DF, para melhor fazer uma análise regional. Contudo, foi constatado que dentre as Regiões Administrativas disponíveis para cadastro, havia a opção “Brasília”. Dessa forma, a grande maioria das receitas cadastradas no sistema insere apenas “Brasília” como cidade da Unidade Federativa Distrito Federal, não especificando a real localidade que tal antibiótico foi vendido. Diante do exposto, foi possível ter apenas um panorama geral das vendas do DF como um todo nos últimos seis meses de funcionamento do SNGPC. É importante ressaltar que foram considerados nesse levantamento todos as medicações que possuem algum componente antimicrobiano em sua composição. As Tabelas 11 a 16 demonstram esse quantitativo, considerando os antibióticos presentes nesse estudo.

*Tabela 11 - Venda total e venda de medicamentos que possuem algum antimicrobiano de interesse do estudo – junho de 2021.*

<b>Analitos</b>	<b>%</b>	<b>Quantidade total de unidades vendidas (pacotes ou frascos que contém o antibiótico)</b>
Amoxicilina	23,7%	25999
Azitromicina	16,0%	17504
Ciprofloxacina	10,9%	11932
Cefalexina	10,7%	11686
Levofloxacina	3,8%	4163
Sulfametoxazol	2,3%	2473
Trimetoprim	2,3%	2473
Clarithromicina	2,2%	2421
Tetraciclina	0,7%	799
Penicilina	0,5%	500
Outros	27,0%	29580
<b>TOTAL</b>	<b>100,0%</b>	<b>109530</b>

Tabela 12 - Venda total e venda de medicamentos que possuem algum antimicrobiano de interesse do estudo – julho de 2021.

<b>Analitos</b>	<b>%</b>	<b>Quantidade total de unidades vendidas (pacotes ou frascos que contém o antibiótico)</b>
Amoxicilina	24,7%	28091
Azitromicina	14,5%	16493
Cefalexina	10,3%	11732
Ciprofloxacina	10,1%	11494
Levofloxacina	3,8%	4360
Sulfametoxazol	2,3%	2582
Trimetoprim	2,3%	2582
Claritromicina	2,3%	2574
Tetraciclina	0,7%	842
Penicilina	0,6%	643
Outros	28,3%	32137
<b>TOTAL</b>	<b>100,0%</b>	<b>113530</b>

Tabela 13 - Venda total e venda de medicamentos que possuem algum antimicrobiano de interesse do estudo – agosto de 2021.

<b>Analitos</b>	<b>%</b>	<b>Quantidade total de unidades vendidas (pacotes ou frascos que contém o a antibiótico)</b>
Amoxicilina	25,0%	30808
Azitromicina	13,9%	17140
Ciprofloxacina	9,9%	12207
Cefalexina	9,5%	11711
Levofloxacina	3,7%	4591
Claritromicina	2,3%	2857
Sulfametoxazol	2,1%	2575
Trimetoprim	2,1%	2575
Tetraciclina	0,6%	726
Penicilina	0,4%	506
Outros	33,9%	41778
<b>TOTAL</b>	<b>100,0%</b>	<b>123278</b>

Tabela 14 - Venda total e venda de medicamentos que possuem algum antimicrobiano de interesse do estudo – setembro de 2021.

<b>Analitos</b>	<b>%</b>	<b>Quantidade total de unidades vendidas (pacotes ou frascos que contém o antibiótico)</b>
Amoxicilina	27,4%	31267
Azitromicina	15,6%	17832
Ciprofloxacina	10,4%	11903
Cefalexina	9,4%	10722
Levofloxacina	4,0%	4610
Claritromicina	2,3%	2634
Sulfametoxazol	2,3%	2603
Trimetoprim	2,3%	2603
Penicilina	0,5%	590
Tetraciclina	0,5%	589
Outros	25,3%	28898
<b>TOTAL</b>	<b>100,0%</b>	<b>114251</b>

Tabela 15 - Venda total e venda de medicamentos que possuem algum antimicrobiano de interesse do estudo – outubro de 2021.

<b>Analitos</b>	<b>%</b>	<b>Quantidade total de unidades vendidas (pacotes ou frascos que contém o antibiótico)</b>
Amoxicilina	28,0%	31308
Azitromicina	13,0%	14611
Ciprofloxacina	11,0%	12325
Cefalexina	10,1%	11359
Levofloxacina	3,8%	4309
Claritromicina	2,4%	2719
Sulfametoxazol	2,3%	2610
Trimetoprim	2,3%	2610
Tetraciclina	0,6%	660
Penicilina	0,6%	617
Outros	25,8%	28877
<b>TOTAL</b>	<b>100,0%</b>	<b>112005</b>

Tabela 16 - Venda total e venda de medicamentos que possuem algum antimicrobiano de interesse do estudo – novembro de 2021.

<b>Analitos</b>	<b>%</b>	<b>Quantidade total de unidades vendidas (pacotes ou frascos que contém o antibiótico)</b>
Amoxicilina	30,0%	11144
Ciprofloxacina	11,3%	4184
Cefalexina	11,0%	4079
Azitromicina	10,3%	3831
Levofloxacina	3,3%	1239
Sulfametoxazol	2,3%	870
Trimetoprim	2,3%	870
Claritromicina	2,1%	763
Tetraciclina	0,6%	213
Penicilina	0,5%	188
Outros	26,2%	9738
<b>TOTAL</b>	<b>100,0%</b>	<b>37119</b>

Nos meses de junho, julho, agosto, setembro, outubro e novembro de 2021, os dez antimicrobianos presentes nesse estudo corresponderam a 73,0%, 71,7%, 75,7%, 74,7%, 74,2% e 73,8% dos antibióticos comercializados no DF, respectivamente. Ademais, considerando os antibióticos do estudo, foi constatado que durante esses meses, 2,0%, 1,8%, 1,6%, 1,4%, 1,5% e 1,7% das vendas desses medicamentos, respectivamente, foram expedidas por profissionais registrados pelo Conselho Regional de Medicina Veterinária (CRMV), ou seja, provavelmente foram destinados ao consumo animal.

Observa-se também que, a quantidade de antibióticos contabilizada em novembro de 2021, último mês do funcionamento da plataforma, já estava em declínio. A Figura 14 resume as dispensas realizadas nesses seis meses. Com essa análise, pode-se observar poucas variações nas dispensas de medicamentos que contém antimicrobianos no Distrito Federal entre os meses. A amoxicilina é o antibiótico mais vendido, com média de, aproximadamente 26,5% das vendas totais. O sulfametoxazol e o trimetoprim sempre apresentam a mesma quantidade de vendas dentro de um mês, pois sempre são vendidos na mesma formulação, com concentração proporcional de 5:1, respectivamente. Ainda na Figura 14, foi adicionado uma coluna intitulada “Outros”, que engloba todos os outros remédios comercializados que contém algum antimicrobiano em sua composição.

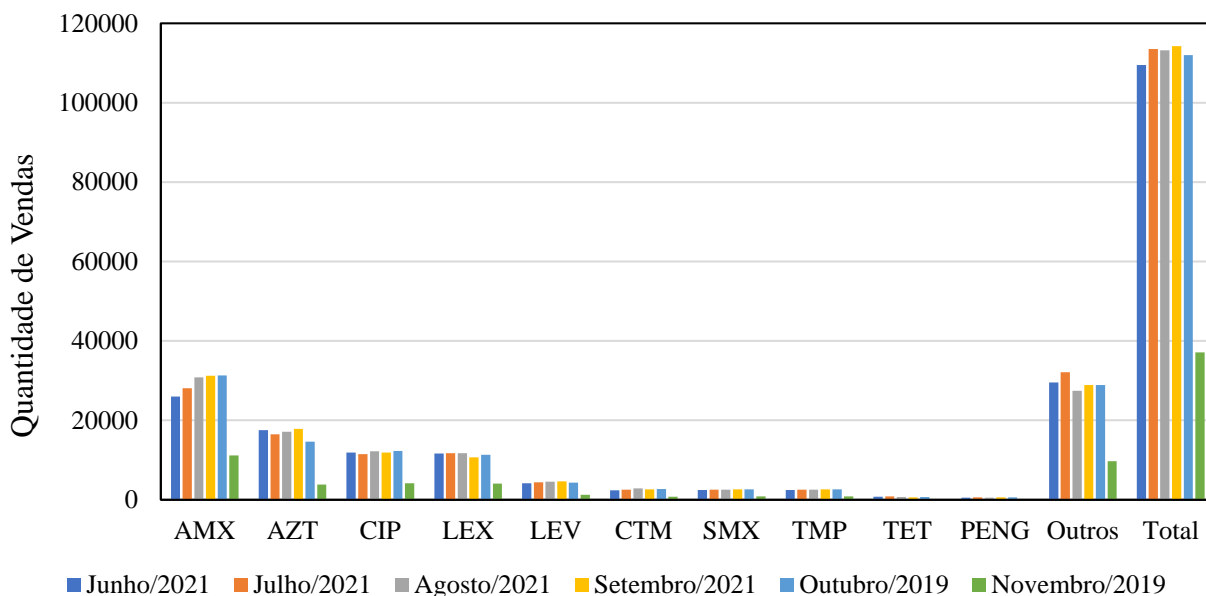


Figura 14 - Sumarização das vendas, no DF, de medicamentos que contém antimicrobianos nos últimos meses de funcionamento da base de dados da ANVISA.

Apesar de a quantidade de vendas ser uma ótima informação para observar o comportamento da comunidade em relação aos antibióticos, para fim de comparação de estimativas de consumo, esse dado não é muito relevante. A quantidade de vendas de determinado medicamento pode ser alta, mas a concentração do composto alvo pode ser muito baixa. Por outro lado, pode ocorrer de determinado medicamento possuir baixas vendas, mas alta concentração do princípio ativo em cada comprimido, por exemplo. Assim, ainda utilizando o SNGPC, foi calculado mês a mês, todos os medicamentos vendidos no período de junho de 2021 até outubro de 2021. O mês de novembro não foi calculado pois é o mês que o SNGPC dispensou a obrigatoriedade de cadastro das movimentações de dispensa. A Tabela 17 e a Figura 15 mostram o comportamento das vendas de antibióticos por quilograma.

Tabela 17 - Quantidade, em kg, dos antibióticos alvo que foram dispensados nos últimos meses completos de funcionamento do SNGPC.

	Junho 2021	Julho 2021	Agosto 2021	Setembro 2021	Outubro 2021
<b>AMX</b>	296,1	317,7	346,2	339,3	335,5
<b>LEX</b>	60,9	61,5	62,1	55,9	59,7
<b>CIP</b>	50,1	46,8	50,9	48,9	51,4
<b>AZT</b>	35,4	32,3	32,7	34,0	26,9
<b>SMX</b>	19,1	19,6	19,4	19,8	19,7
<b>CTM</b>	18,9	19,3	20,9	18,8	19,6
<b>LEV</b>	17,7	18,5	19,4	19,5	18,2
<b>TET</b>	10,6	12,1	9,5	8,6	9,1
<b>TMP</b>	3,8	3,9	3,9	4,0	3,9
<b>PENG</b>	2,4	2,7	2,2	2,4	2,3

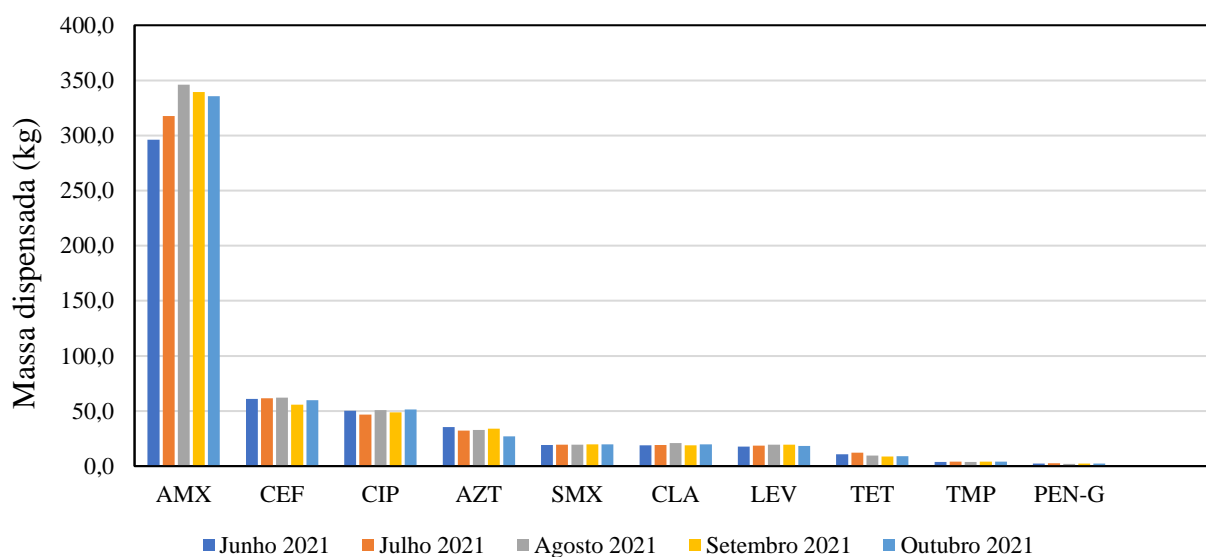


Figura 15 - Massa dispensada, em kg, dos antibióticos alvo.

É possível observar que a amoxicilina apresentou uma massa vendida muito maior que qualquer outro antibiótico. Em segundo lugar, temos a cefalexina seguido da ciprofloxacina e da azitromicina. O sulfametoxazol, a claritromicina e a levofloxacina apresentaram quantidade em quilograma de dispensa muito semelhantes. Por fim, a tetraciclina, o trimetoprim e a penicilina G foram os antibióticos com menor massa comercializada em farmácias privadas.



## 5.2. ENSAIO DE RECUPERAÇÃO

O ensaio de recuperação<sup>62</sup> apresentou, no geral, uma baixa recuperação dos antibióticos no processo de análise, como é mostrado na Tabela 18. Nesse ponto, é importante ressaltar que o método analítico utilizado nesse trabalho foi inicialmente proposto para a análise de drogas de abuso e aproveitado para a análise de antimicrobianos. Inclusive, para as análises de drogas ilícitas, seus metabólitos e adulterantes como, por exemplo, metanfetamina (METH), benzoilecgonina (BE), MDMA, anfetamina (AMP), carboxi-THC (THC-COOH), 6-monoacetilmorfina (6-MAM), ketamina (KET) e cotinina (COT) o método funciona com excelência. O grupo SCORE, no qual o laboratório AQQUA faz parte realiza testes interlaboratoriais anuais e no ano de 2024 o grupo obteve êxito em todas as análises. A Figura 16 mostra o resultado do teste para alguns analitos, sendo o grupo AQQUA o número 170. Os valores de recuperação, mesmo sendo baixos para diversos analitos, serão utilizados para correção da estimativa de consumo *per capita* em momento oportuno nesse trabalho.

Tabela 18 - Recuperações calculadas, em porcentagem, para os antibióticos alvo.

	Ponto 1 (10ppb)	Ponto 2 (50ppb)	Ponto 3 (500ppb)
<b>Amoxicilina</b>	9,7 ± 0,4%	6,8 ± 0,4%	6,5 ± 0,1%
<b>Azitromicina</b>	ND	14,5 ± 1,3%	2,6 ± 0,2%
<b>Cefalexina</b>	64,7 ± 2,5%	69,2 ± 2,4%	78,2 ± 1,2%
<b>Ciprofloxacina</b>	ND	0,8 ± 0,0%	1,5 ± 0,1%
<b>Claritromicina</b>	29,4 ± 1,4%	14,3 ± 0,4%	5,0 ± 0,2%
<b>Levofloxacina</b>	4,6 ± 0,1%	9,5 ± 0,5%	5,1 ± 0,1%
<b>Penicilina G</b>	6,0 ± 0,3%	12,5 ± 0,4%	15,8 ± 1,0%
<b>Sulfametoxazol</b>	48,0 ± 1,6%	54,5 ± 1,7%	50,5 ± 0,2%
<b>Tetraciclina</b>	ND	ND	ND
<b>Trimetoprim</b>	32,1 ± 0,4%	28,2 ± 1,7%	18,3 ± 0,3%

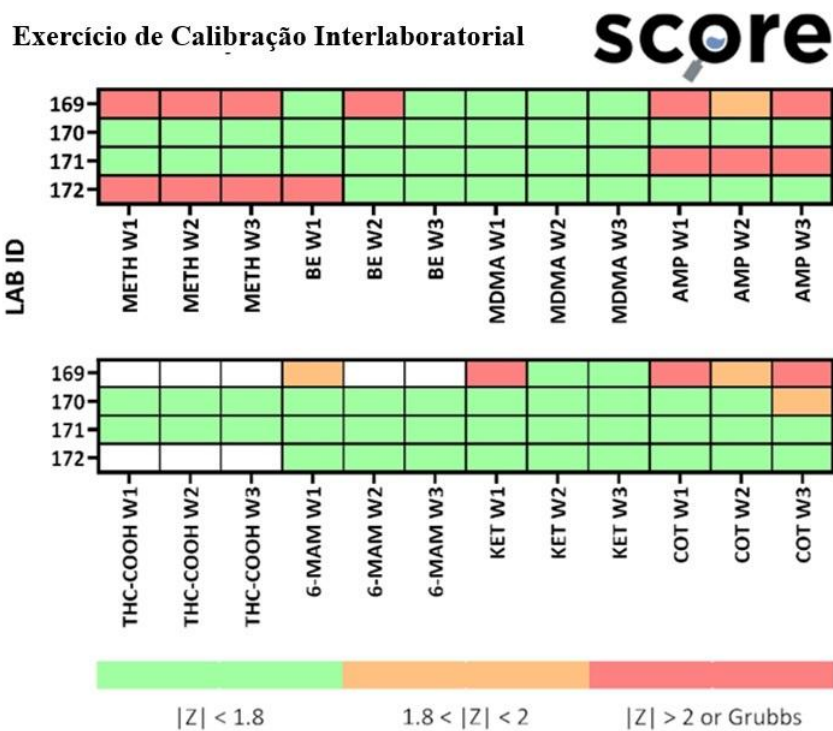


Figura 16 - Ensaio interlaboratorial do grupo SCORE para drogas ilícitas, seus metabolitos e alguns adularantes. O grupo AQQUA-UnB é o número 170.

Utilizando a Equação 4, calculou-se a recuperação para cada antibiótico em três pontos distintos de concentração: 10ppb, 50ppb e 500ppb. Importante ressaltar que para esse cálculo, foram utilizados todos os resultados filtrados, uma vez que durante a campanha amostral, a filtração foi realizada em todas as amostras.

Pode-se verificar que as recuperações no ponto 1 da azitromicina e ciprofloxacina não puderam ser definidas. Ademais, todas as concentrações da tetraciclina também não puderam ser definidas. Nesses casos, as concentrações dos brancos superaram a concentração das amostras com *spike* pré extração, resultando numa recuperação de valor negativo, que foram desconsideradas.

Parte da pesquisa do projeto CLOACINA investiga o comportamento do THC-COOH durante todo o processo analítico. Assim, verificou-se que essa molécula fica retida no filtro na última etapa de filtragem do extrato, antes da injeção no equipamento. Uma solução encontrada foi não realizar a filtração e tentar uma centrifugação, recolhendo o sobrenadante para injetar no sistema. Aproveitando as análises do centrifugado, foi possível fazer uma comparação das amostras branco

filtrado e centrifugado para os antibióticos. Essa comparação mostrou que a utilização do filtro pode ser prejudicial para as análises de determinado analitos. A Tabela 19 mostra que a azitromicina e a claritromicina, moléculas que fazem parte da classe dos macrolídeos, sofreram grande influência na utilização do filtro de PVDF. Isso deve-se ao fato de essas moléculas serem mais lipofílicas. A lipofilicidade de uma molécula é frequentemente expressa pelo log P (coeficiente de partição octanol/água). Também na Tabela 19, é mostrado o log P aproximado encontrado nas bases de dados PubChem, DrugBank e ChemSpider.

*Tabela 19 - Comparação entre o branco das amostras filtradas e centrifugadas.*

	<b>Concentração do branco filtrado (ppb)</b>	<b>Concentração do branco centrifugado (ppb)</b>	<b>Log P (aproximado)</b>	<b>Lipofilicidade</b>
<b>Amoxicilina</b>	4,08	4,02	-0,87 a -0,3	Baixa
<b>Azitromicina</b>	12,64	248,99	2,5 a 3,1	Moderada a alta
<b>Cefalexina</b>	14,83	14,96	-0,6 a 0,5	Baixa a moderada
<b>Ciprofloxacina</b>	18,36	17,59	-0,6 a 0,3	Baixa a moderada
<b>Claritromicina</b>	4,82	43,95	3,2 a 3,5	Alta
<b>Levofloxacina</b>	10,18	9,09	-0,4 a 0,4	Baixa a moderada
<b>Penicilina G</b>	19,21	19,63	-1,5 a -0,9	Muito baixa
<b>Sulfametoxazol</b>	69,05	73,44	0,89 a 1,3	Moderada
<b>Tetraciclina</b>	33,76	13,25	-1,2 a -0,4	Muito baixa a baixa
<b>Trimetoprim</b>	7,33	5,28	0,9 a 1,3	Moderada

### 5.3. LINEARIDADE DAS CURVAS ANALÍTICAS

As curvas analíticas por superposição de matriz com calibração interna construídas nos extratos SPE e usadas na quantificação dos analitos nas amostras de 2023 são apresentadas nas Figuras 17 e 19; as curvas utilizadas na recuperação e na quantificação dos analitos nas amostras de 2024 são apresentadas nas Figuras 18 e 20. Os parâmetros de todas as curvas estão na Tabela 20. Foi utilizado padrão interno deuterado para correção de oscilação do equipamento somente para o trimetoprim (trimetoprim-d9) nas análises de 2023 e de 2024. Os padrões internos

deuterados dos outros antibióticos não foram adquiridos por possuírem um alto valor financeiro agregado.

As faixas lineares foram adequadas, da melhor forma possível, para que a concentração dos analitos no extrato concentrado estivesse o mais próximo possível do centro da curva. Os valores de  $R^2$  foram satisfatórios em todas as curvas, tendo sempre os valores entre 0,989 e 0,999. Os erros foram calculados e as barras de erro foram plotadas junto às curvas analíticas. As curvas analíticas da tetraciclina e do trimetoprim são apresentadas separadamente somente para melhor visualização dos resultados.

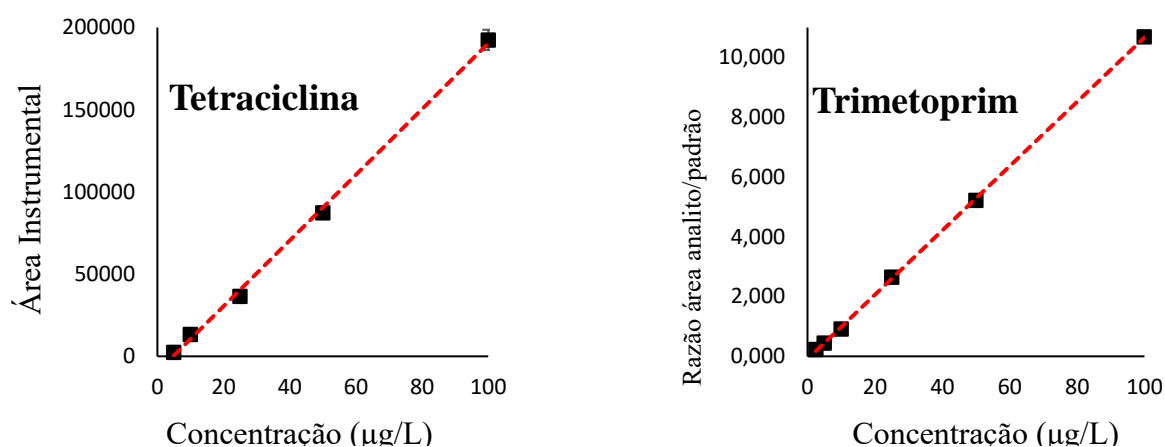


Figura 17 - Curvas analíticas utilizadas em 2023 (TET e TMP)

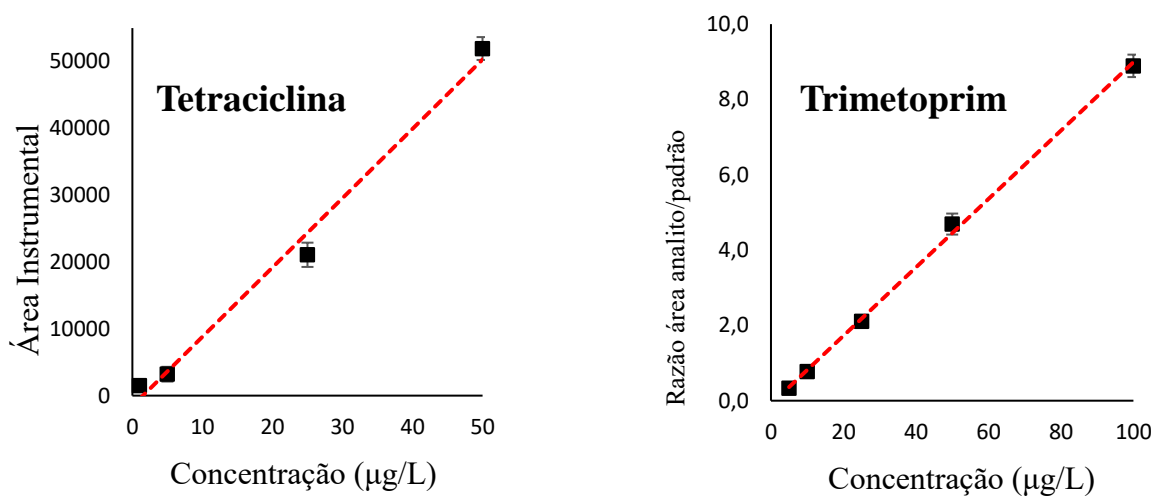


Figura 18 - Curvas analíticas utilizadas em 2024 (TET e TMP)

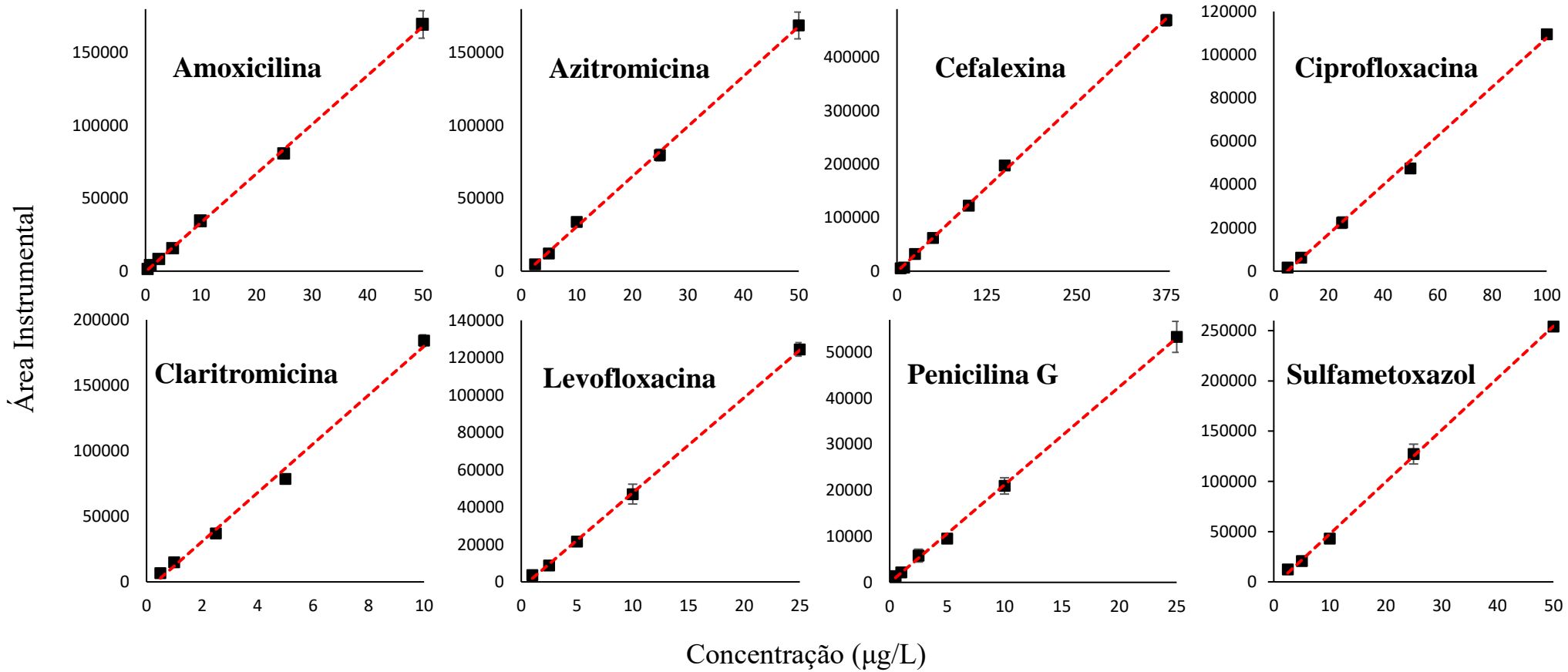


Figura 19 - Curvas analíticas utilizadas em 2023 (Demais analitos)

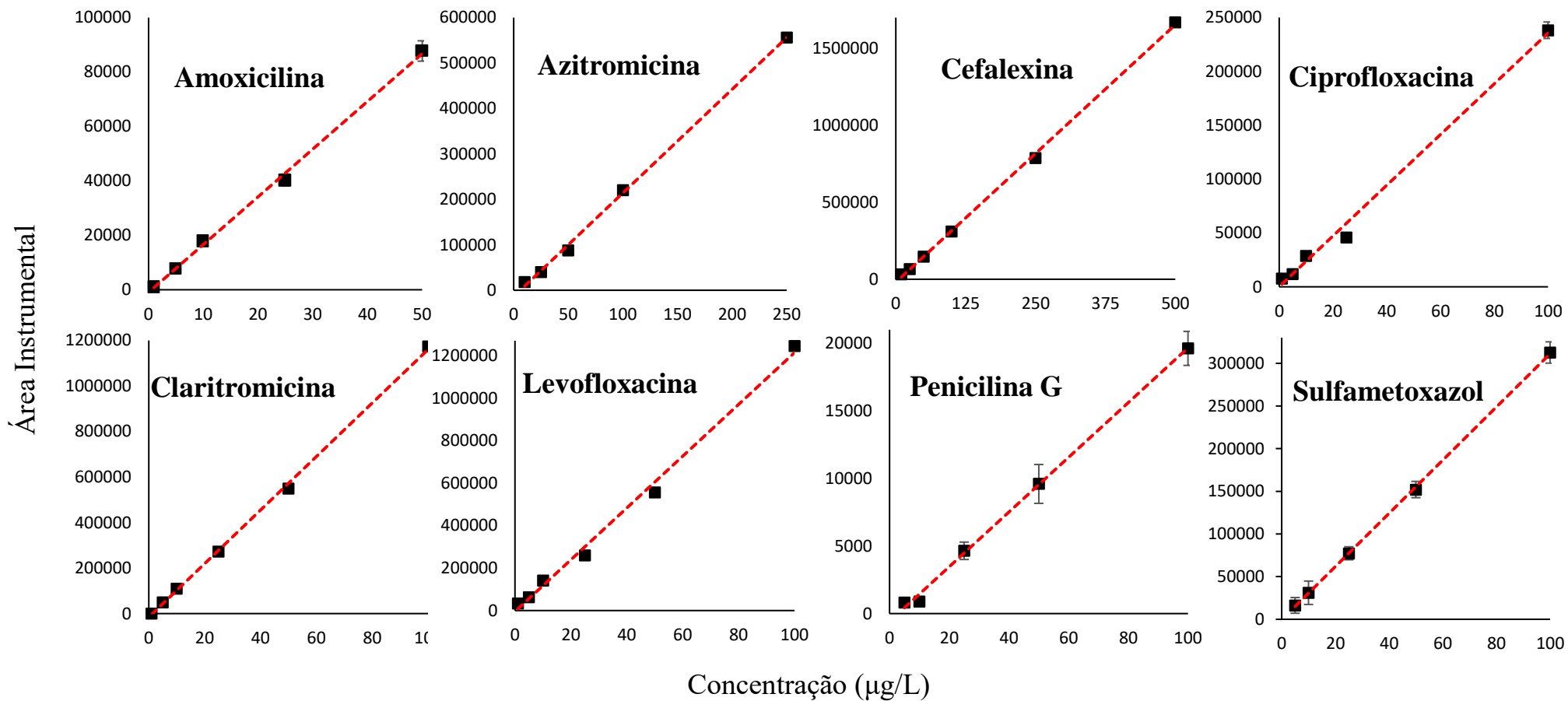


Figura 20 - Curvas analíticas utilizadas em 2024 (Demais analitos)

Tabela 20 - Parâmetros das curvas analíticas.

<b>Analito</b>	<b>Ano</b>	<b>Equação da Reta</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>Faixa Linear (µg/L)</b>
<b>Amoxicilina</b>	2023	$y = 3369x - 381$	0,999	0,5 - 50
	2024	$y = 1753x - 948$	0,998	1 - 50
<b>Azitromicina</b>	2023	$y = 3436x - 3774$	0,999	2,5 - 50
	2024	$y = 2280x - 13923$	0,999	10 - 250
<b>Ciprofloxacina</b>	2023	$y = 1134x - 5660$	0,998	5 - 100
	2024	$y = 2354x + 108$	0,994	1 - 100
<b>Cefalexina</b>	2023	$y = 1262x - 1085$	0,999	5 - 375
	2024	$y = 3347x - 19662$	0,999	10 - 500
<b>Claritromicina</b>	2023	$y = 18633x - 6506$	0,995	0,5 - 10
	2024	$y = 11768x - 15860$	0,999	1 - 100
<b>Levofloxacina</b>	2023	$y = 5088x - 3188$	0,999	1 - 25
	2024	$y = 12185x - 4596$	0,994	1 - 100
<b>Penicilina G</b>	2023	$y = 2125x - 67$	0,999	0,5 - 25
	2024	$y = 200x - 458$	0,998	5 - 100
<b>Sulfametoxazol</b>	2023	$y = 5169x - 4074$	0,999	2,5 - 50
	2024	$y = 3117x - 541$	0,999	5 - 100
<b>Tetraciclina</b>	2023	$y = 1998x - 9506$	0,998	5 - 100
	2024	$y = 1037x - 1574$	0,989	1 - 50
<b>Trimetoprim</b>	2023	$y = 0,1085x - 0,093$	0,999	2,5 - 100
	2024	$y = 0,09x - 0,092$	0,998	0,5 - 50

#### 5.4. QUANTIFICAÇÃO DOS ANALITOS NAS AMOSTRAS DE ESGOTO

Os limites de quantificação (LQ) e detecção (LD) também foram calculados. O LQ foi considerado o menor ponto da curva analítica<sup>63</sup> e o LD foi determinado da seguinte forma:

$$LD = 0,3 \times LQ \quad (5)$$

Além disso, os limites de quantificação e detecção do método também foram calculados de acordo com as Equações 6 e 7.

$$LQ_{\text{método}} = \frac{LQ}{100} \quad (6)$$

$$LD_{\text{método}} = \frac{LD}{100} \quad (7)$$

Assim, a Tabela 21 apresenta os valores calculados dos limites de quantificação e detecção.

Tabela 21 - Limites de Quantificação e Detecção dos analitos.

<b>Analito</b>	<b>Ano</b>	<b>LQ (µg/L)</b>	<b>LD (µg/L)</b>	<b>LQ<sub>método</sub> (ng/L)</b>	<b>LD<sub>método</sub> (ng/L)</b>
<b>Amoxicilina</b>	2023	0,5	0,15	5	1,5
	2024	1,0	0,30	10	3,0
<b>Azitromicina</b>	2023	2,5	0,75	25	7,5
	2024	10	3,00	100	30
<b>Cefalexina</b>	2023	5,0	1,50	50	15
	2024	10,0	3,0	100	30
<b>Ciprofloxacina</b>	2023	5,0	1,50	50	15
	2024	1	0,30	10	3
<b>Claritromicina</b>	2023	0,5	0,15	5	1,5
	2024	1,0	0,30	10	3,0
<b>Levofloxacina</b>	2023	1,0	0,30	10	3,0
	2024	1,0	0,30	10	3,0
<b>Penicilina G</b>	2023	0,5	0,15	5	1,5
	2024	5,0	1,50	50	15
<b>Sulfametoxazol</b>	2023	2,5	0,75	25	7,5
	2024	5,0	1,50	50	15
<b>Tetraciclina</b>	2023	5,0	1,50	50	15
	2024	1,0	0,30	10	3,0
<b>Trimetoprim</b>	2023	2,5	0,75	25	7,5
	2024	0,5	0,15	5	1,5

Utilizando as equações da reta obtidas por meio das curvas de calibração, foi possível calcular a concentração de cada analito estudado nas amostras de cada estação de tratamento de esgoto em cada dia. As Tabelas 22 e 23 mostram as concentrações médias obtidas em cada ETE no período



amostral de 2023 e as Tabelas 24 e 25 mostram as concentrações médias obtidas em cada ETE no período amostral de 2024.

Tabela 22 - Concentrações médias, em ng/L, dos antimicrobianos nas ETEs no Distrito Federal (ETEs SU, NO, PL e RF) no período amostral de 2023.

	<b>ETE SU</b>	<b>ETE NO</b>	<b>ETE PL</b>	<b>ETE RF</b>
<b>Amoxicilina</b>	< LQ	< LQ	9 ± 3	< LQ
<b>Azitromicina</b>	96 ± 37	49 ± 23	176 ± 43	48 ± 20
<b>Cefalexina</b>	504 ± 107	965 ± 194	763 ± 136	688 ± 520
<b>Ciprofloxacina</b>	93 ± 13	73 ± 9	89 ± 16	136 ± 27
<b>Claritromicina</b>	13 ± 5	11 ± 4	14 ± 3	< LQ
<b>Levofloxacina</b>	81 ± 23	53 ± 9	42 ± 13	114 ± 47
<b>Penicilina G</b>	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
<b>Sulfametoxazol</b>	196 ± 35	162 ± 25	135 ± 31	167 ± 217
<b>Tetraciclina</b>	71 ± 5	64 ± 3	69 ± 5	68 ± 4
<b>Trimetoprim</b>	270 ± 28	303 ± 31	391 ± 86	277 ± 128

Tabela 23 - Concentrações médias, em ng/L, dos antimicrobianos nas ETEs no Distrito Federal (ETEs SS, GA e ME) no período amostral de 2023.

	<b>ETE SS</b>	<b>ETE GA</b>	<b>ETE ME</b>
<b>Amoxicilina</b>	< LQ	< LQ	19 ± 10
<b>Azitromicina</b>	324 ± 147	67 ± 39	118 ± 51
<b>Cefalexina</b>	851 ± 150	362 ± 225	1005 ± 904
<b>Ciprofloxacina</b>	96 ± 32	68 ± 11	85 ± 15
<b>Claritromicina</b>	13 ± 3	9 ± 2	12 ± 5
<b>Levofloxacina</b>	54 ± 38	32 ± 13	47 ± 21
<b>Penicilina G</b>	< LQ	< LQ	< LQ
<b>Sulfametoxazol</b>	54 ± 56	159 ± 28	239 ± 31
<b>Tetraciclina</b>	78 ± 10	63 ± 6	67 ± 3
<b>Trimetoprim</b>	227 ± 30	293 ± 61	372 ± 74

Tabela 24 - Concentrações médias, em ng/L, dos antimicrobianos nas ETEs no Distrito Federal (ETEs SU, NO, PL e RF) no período amostral de 2024.

	<b>ETE SU</b>	<b>ETE NO</b>	<b>ETE PL</b>	<b>ETE RF</b>
<b>Amoxicilina</b>	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
<b>Azitromicina</b>	231 ± 111	117 ± 24	521 ± 110	498 ± 196
<b>Cefalexina</b>	119 ± 18	146 ± 59	242 ± 93	956 ± 815
<b>Ciprofloxacina</b>	37 ± 6	26 ± 9	45 ± 11	62 ± 21
<b>Claritromicina</b>	65 ± 12	55 ± 9	124 ± 79	163 ± 184
<b>Levofloxacina</b>	93 ± 24	97 ± 27	44 ± 9	48 ± 16
<b>Penicilina G</b>	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
<b>Sulfametoxazol</b>	402 ± 73	482 ± 76	426 ± 96	227 ± 100
<b>Tetraciclina</b>	34 ± 13	28 ± 5	33 ± 7	36 ± 5
<b>Trimetoprim</b>	515 ± 52	580 ± 92	809 ± 123	58 ± 84

Tabela 25 - Concentrações médias, em ng/L, dos antimicrobianos nas ETEs no Distrito Federal (ETEs SS, GA e ME) no período amostral de 2024.

	<b>ETE SS</b>	<b>ETE GA</b>	<b>ETE ME</b>
<b>Amoxicilina</b>	< LQ	< LQ	< LQ
<b>Azitromicina</b>	248 ± 41	305 ± 60	278 ± 106
<b>Cefalexina</b>	381 ± 71	255 ± 278	207 ± 70
<b>Ciprofloxacina</b>	35 ± 11	57 ± 11	23 ± 8
<b>Claritromicina</b>	43 ± 15	50 ± 11	48 ± 8
<b>Levofloxacina</b>	36 ± 8	59 ± 17	32 ± 7
<b>Penicilina G</b>	< LQ	< LQ	< LQ
<b>Sulfametoxazol</b>	541 ± 59	391 ± 70	410 ± 21
<b>Tetraciclina</b>	36 ± 6	28 ± 6	29 ± 7
<b>Trimetoprim</b>	543 ± 70	719 ± 78	456 ± 81

No ano de 2023, foram encontradas concentrações médias dos analitos entre 9 e 1005 ng/L. Enquanto no ano de 2024, as concentrações variaram entre 23 e 956 ng/L. Percebe-se que dois analitos apresentaram os valores de concentração abaixo do LQ<sub>método</sub>: amoxicilina e penicilina G. Os demais oito analitos não apresentaram concentrações abaixo do LQ<sub>método</sub>, logo foi possível quantificar esses analitos nas amostras.

A amoxicilina e a penicilina G são penicilinas da classe Beta-lactâmicos. Por outro lado, a Cefalexina, apesar de também pertencer a classe dos Beta-lactâmicos, é uma cefalosporina. Observa-se que a Cefalexina alcançou o LQ<sub>método</sub>, enquanto as outras não. O trabalho de Fabregat-

Safont<sup>64</sup>, publicado em 2023, afirma que determinados antibióticos pertencentes aos Beta-lactâmicos sofrem fragmentação dentro da fonte do instrumento. Verificou-se que a Amoxicilina foi determinada usando o fragmento  $m/z$  349, correspondente a uma perda de  $\text{NH}_3$ . As transições desse fragmento foram mais sensíveis e mais seletivas que a molécula protonada  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . As transições sugeridas foram monitoradas, mas nenhuma melhoria significativa foi verificada. Na revisão escrita por Kümmerer<sup>65</sup>, sobre antibióticos no meio ambiente, é relatado que a classe dos beta-lactâmicos não é explorada com frequência nos trabalhos devido à falta de correlação entre o alto consumo e a baixa concentração encontrada no meio ambiente. A explicação desse fato não é bem descrita na literatura, porém uma hipótese é que existe uma facilidade na quebra dos anéis beta-lactâmicos.

A facilidade de degradação de uma molécula no esgoto depende de vários fatores, incluindo a estrutura química, a biodegradabilidade e a resistência à degradação química ou enzimática. Além disso, sua solubilidade em água, o pH do ambiente e a presença de microrganismos degradadores também possuem impacto na persistência da molécula. No geral, uma classificação do mais fácil ao mais difícil de degradar em esgoto pode ser estabelecida: amoxicilina e penicilina G estão entre os mais fáceis, seguidos por tetraciclina e cefalexina, então sulfametoxazol, macrolídeos (azitromicina e claritromicina), levofloxacina e trimetoprim são mais resistentes à degradação<sup>66-68</sup>.

### 5.5. PERFIS DE CARGA *PER CAPITA*

Foram calculadas as cargas *per capita* dos analitos, com exceção da amoxicilina e da penicilina G, em que as amostras analisadas apresentaram a maioria das concentrações abaixo do limite de quantificação do método. As Figuras 21 e 22 exibem as cargas *per capita* obtidas separadas por ETE na semana amostral de 2023 e 2024, respectivamente. Para melhor visualização do comportamento dos dados, o eixo y foi colocado em log na base 10. As cargas *per capita* não foram corrigidas pelo fator de excreção e nem pela recuperação.

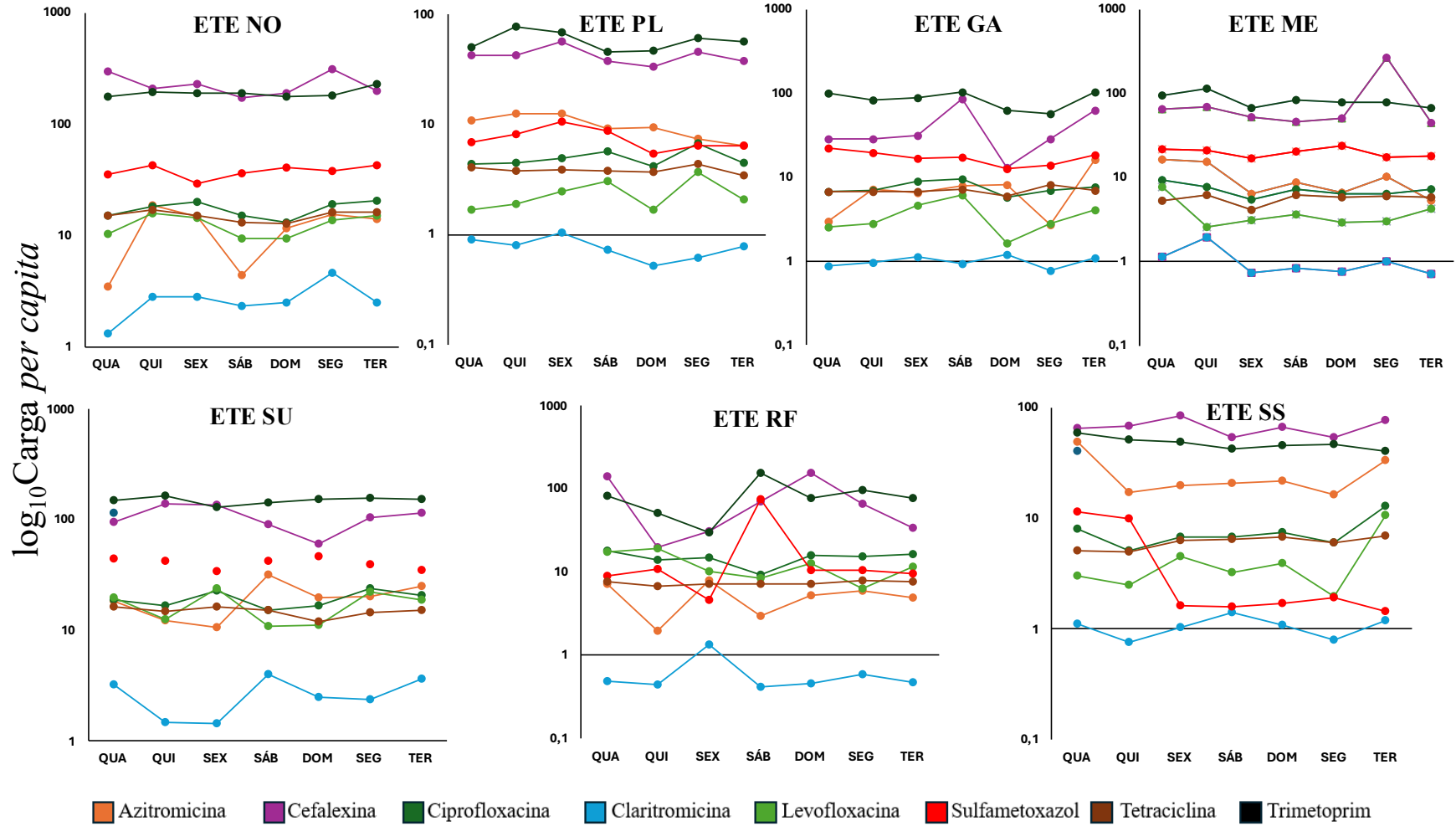


Figura 21 – Cargas estimadas per capita por ETE no período amostral de 2023.

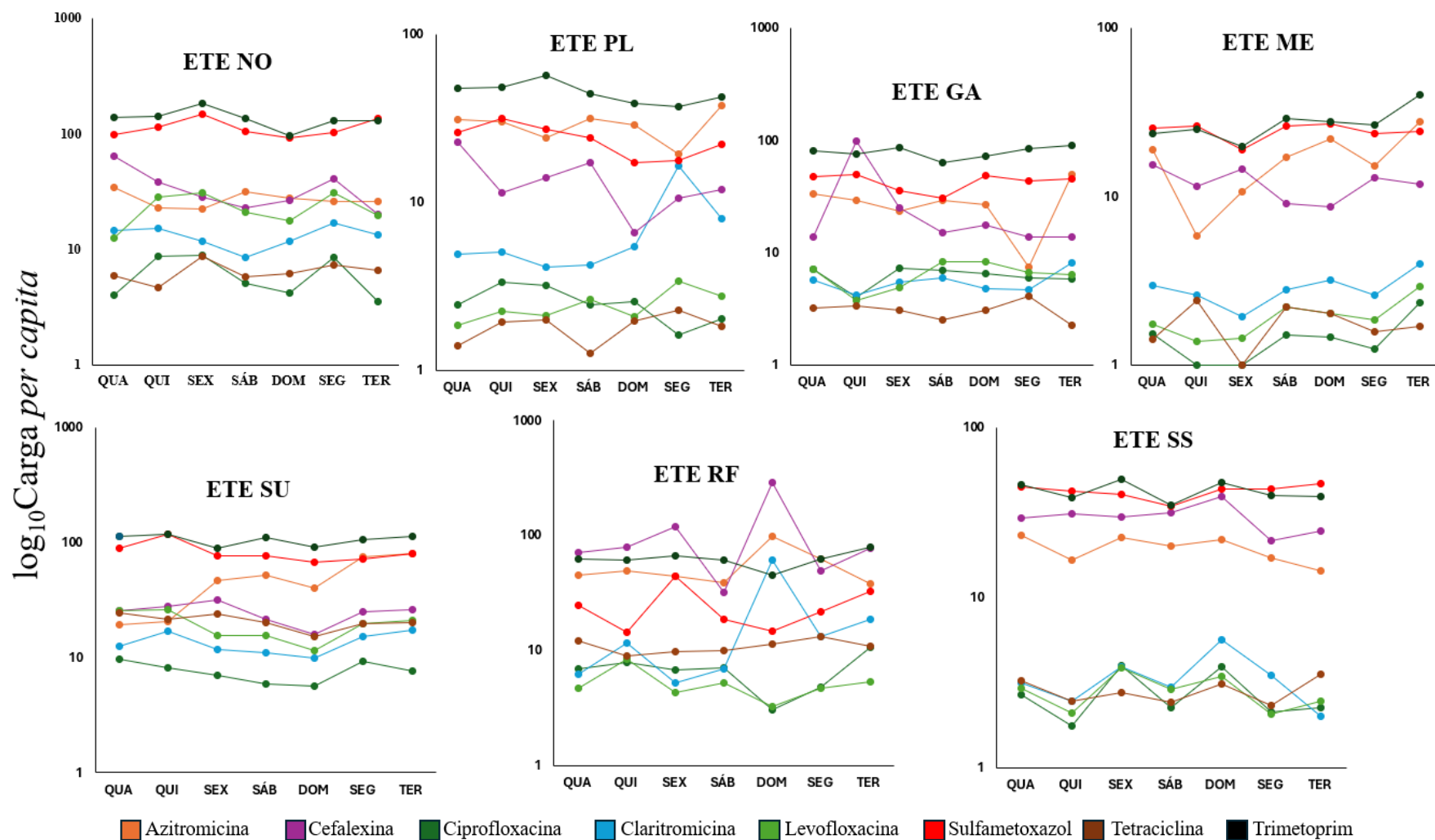


Figura 22 - Cargas estimadas per capita por ETE no período amostral de 2024.

Observando as Figuras 21 e 22, é possível perceber que, nos dois anos, a variação do sulfametoxazol e do trimetoprim sempre está relacionada, tendendo ao mesmo comportamento com o passar da semana. Isso se deve ao fato de que esses dois antimicrobianos são sempre vendidos em conjunto, na mesma formulação. No ano de 2023, as maiores cargas foram de cefalexina, trimetoprim, sulfametoxazol e azitromicina, em todas as ETEs, enquanto a menor foi de claritromicina. Em 2024, sulfametoxazol, trimetoprim, cefalexina e azitromicina apresentaram carga mais elevada na maioria das ETEs. Foi possível observar um fato atípico na ETE Riacho Fundo, que apresentou um aumento repentino de carga de cefalexina, azitromicina e claritromicina no domingo. A tetraciclina e a ciprofloxacina apresentaram as menores cargas *per capita* nesse período amostral. Não foram observados comportamentos relacionados com atividades típicas de fim de semana, indicando que não há uso recreativo desses medicamentos, como é de se esperar.

#### 5.6. ESTIMATIVA DO CONSUMO *PER CAPITA*

Os consumos médios *per capita* foram estimados e calculados de acordo com a equação 2, apresentadas no item 2.7 desse trabalho. Os fatores de correção de excreção considerados nos cálculos são apresentados na Tabela 3. Os dados de recuperação foram utilizados para fazer a correção nas estimativas de consumo médio *per capita* no DF. Para as recuperações que apresentaram valores próximo entre as concentrações estudadas, foi considerado uma média para a correção. Ademais, para recuperações com resultados discrepantes em diferentes concentrações, foi utilizado a recuperação mais próxima da concentração para a correção. As Figuras 23 a 30 exibem o consumo médio estimado dos antimicrobianos no DF corrigidos pela recuperação.

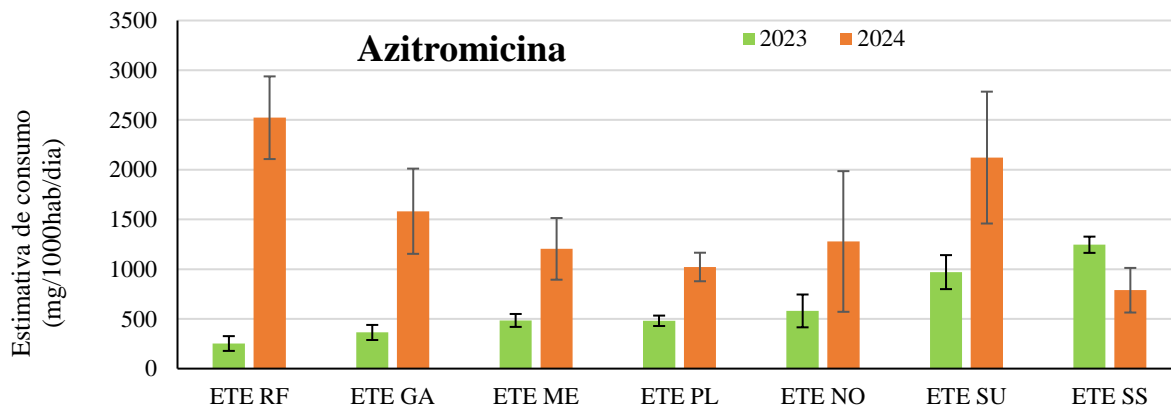


Figura 23 - Consumo per capita estimado de Azitromicina no DF.

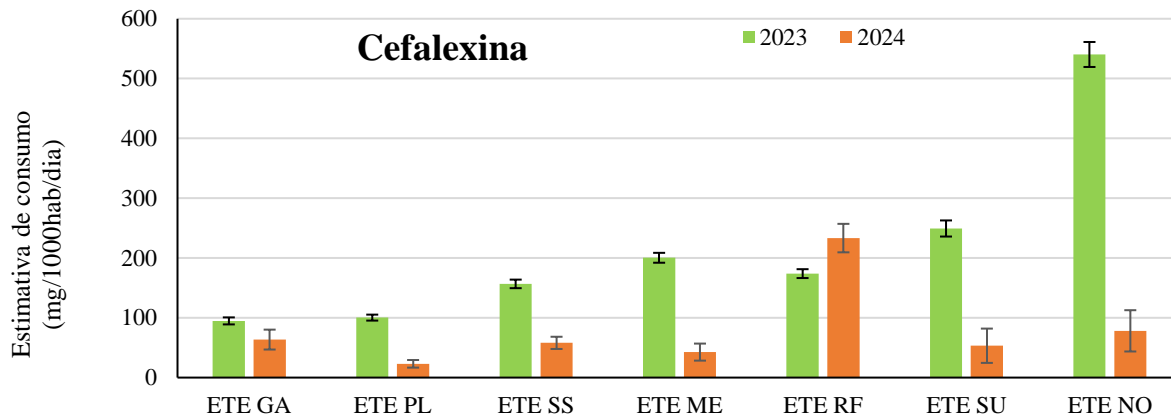


Figura 24 - Consumo per capita estimado de Cefalexina no DF.

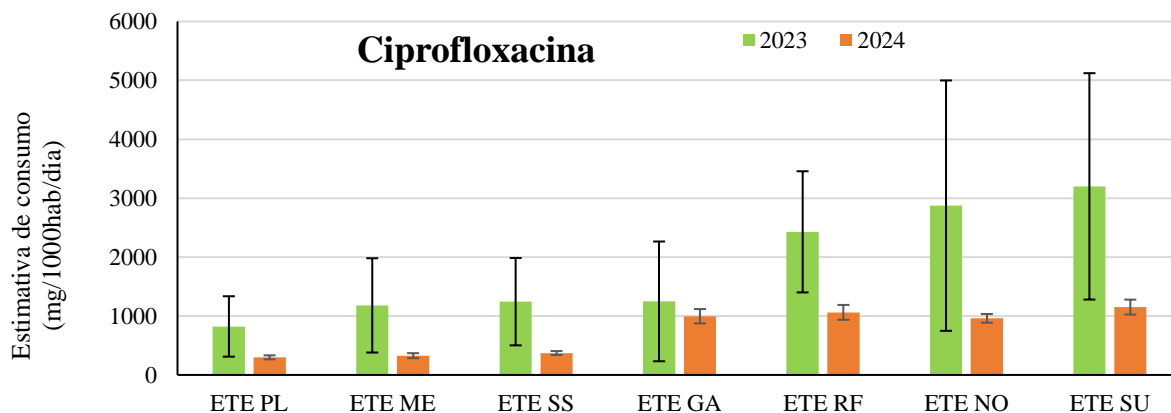


Figura 25 - Consumo per capita estimado de Ciprofloxacina no DF.

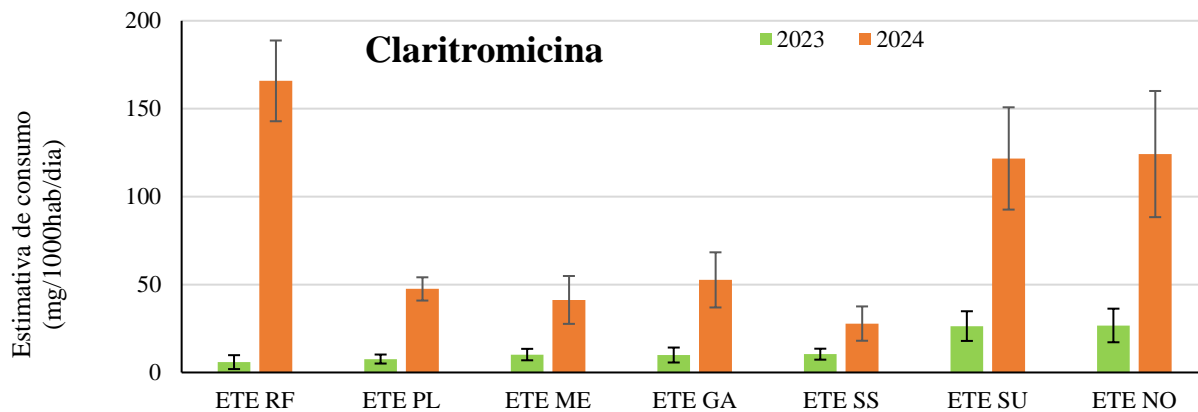


Figura 26 - Consumo per capita estimado de Claritromicina no DF.

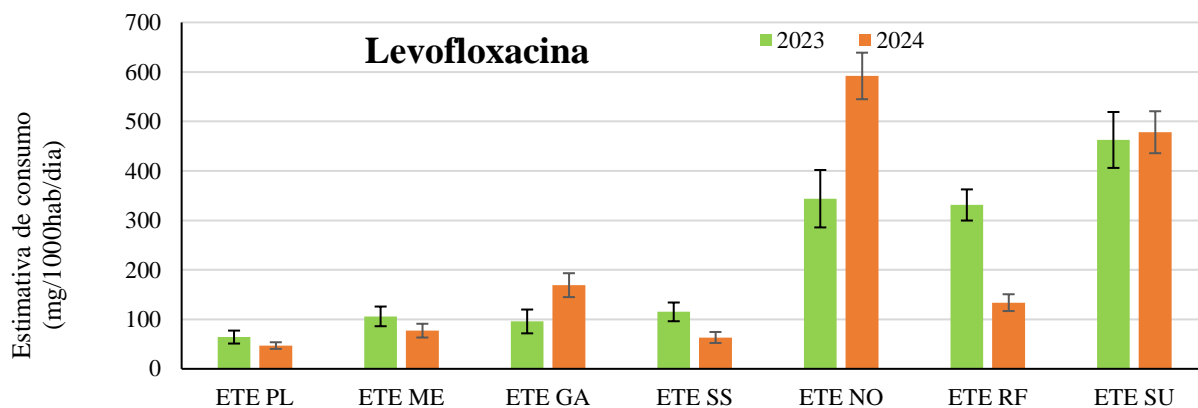


Figura 27 - Consumo per capita de Levofloxacin no DF.

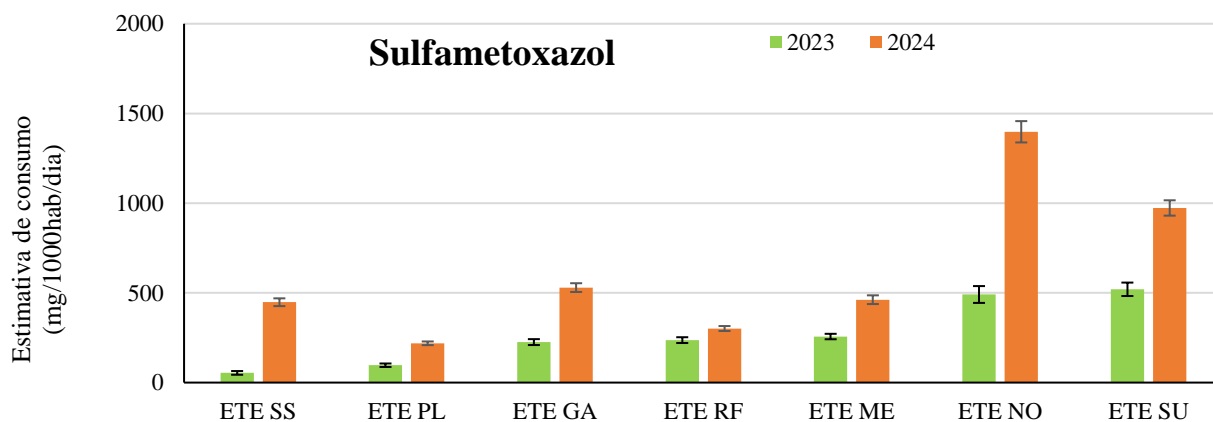


Figura 28 - Consumo per capita estimado de Sulfametoxazol no DF.



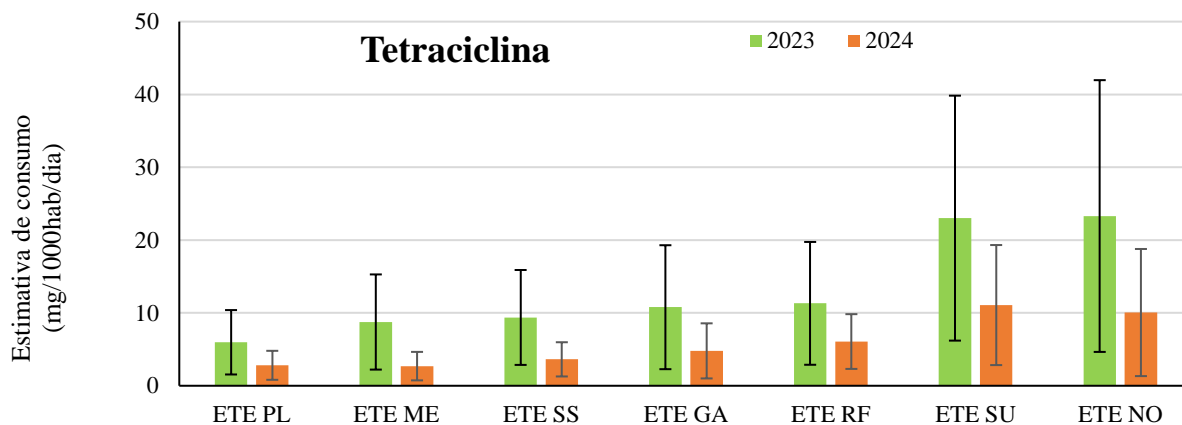


Figura 29 - Consumo per capita estimado de Tetraciclina no DF.

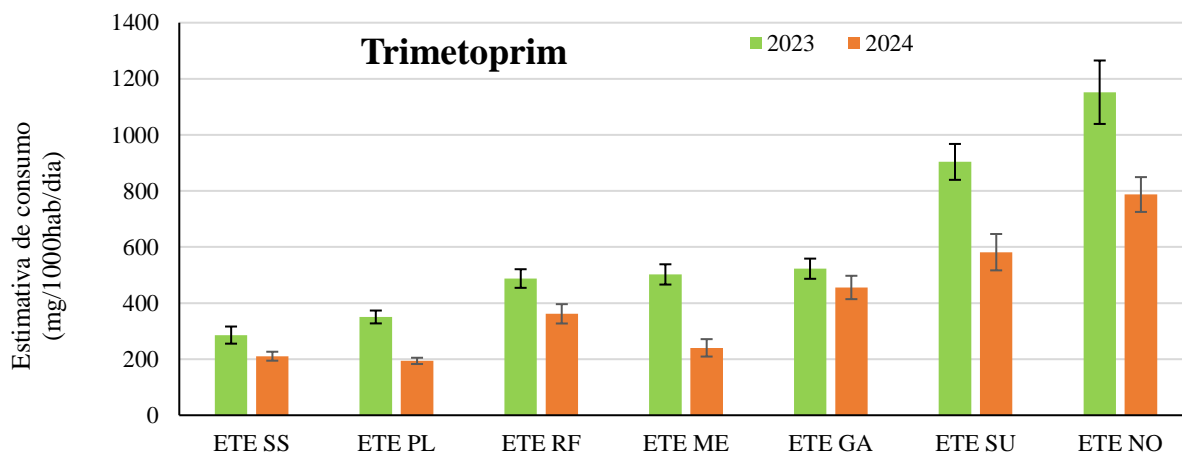


Figura 30 - Consumo per capita estimado de Trimetoprim no DF.

Uma possível hipótese para algumas das variações observadas entre os anos foi a etapa de acidificação no condicionamento das amostras de esgoto, que foi realizada no ano de 2023 e não foi realizada no ano de 2024. Ainda explorando essa diferença entre o consumo estimado entre os anos, utilizando o SNGPC, foi verificado o comportamento das dispensas em diferentes anos, considerando o mês de agosto. Assim, a Figura 31 mostra que pode haver grandes variações de vendas de determinados antibióticos entre os anos. Em agosto de 2020, por exemplo, a venda de azitromicina superou a venda de amoxicilina, por exemplo. No período amostral de 2023, notou-se que o consumo estimado das ETEs NO e SU, para quase todos os antimicrobianos, foram os

maiores no DF. A exceção ocorreu com a Azitromicina, que teve a ETE SS com o maior consumo estimado. Já em 2024, pode-se notar que a ETE RF mostrou o maior consumo estimado *per capita* para azitromicina, cefalexina e claritromicina. Os demais antibióticos foram maiores estimados na região central do Distrito Federal. Vale ressaltar que esse comparativo realizado entre os anos considerou a quantidade de pacotes vendidos e não a massa comercializada.

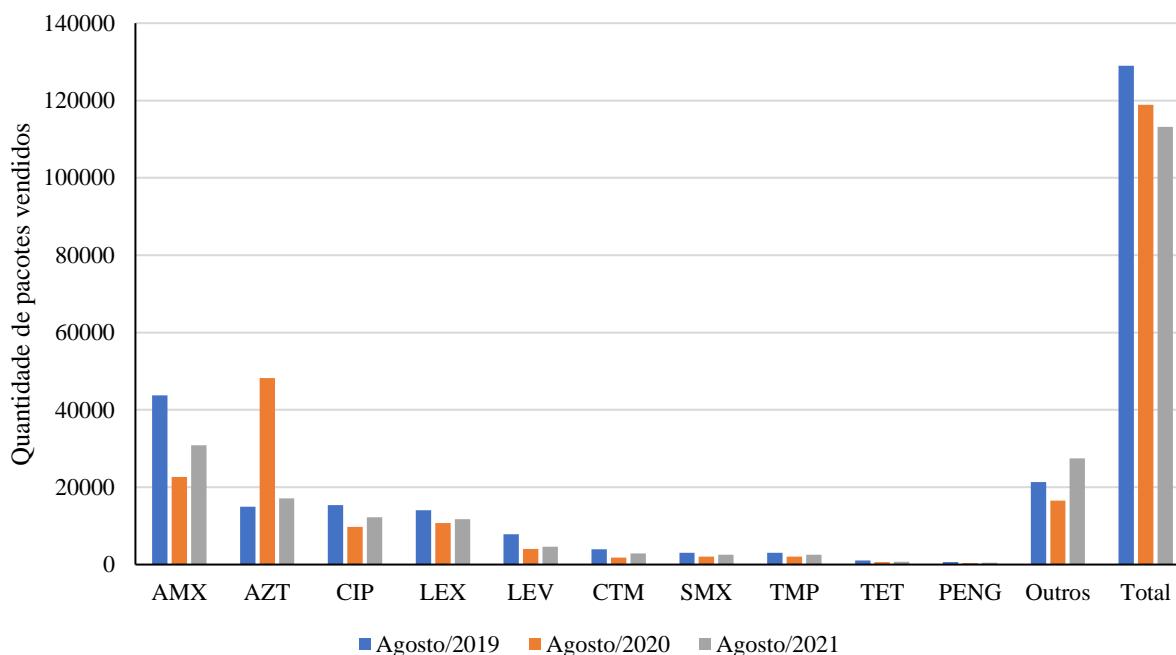
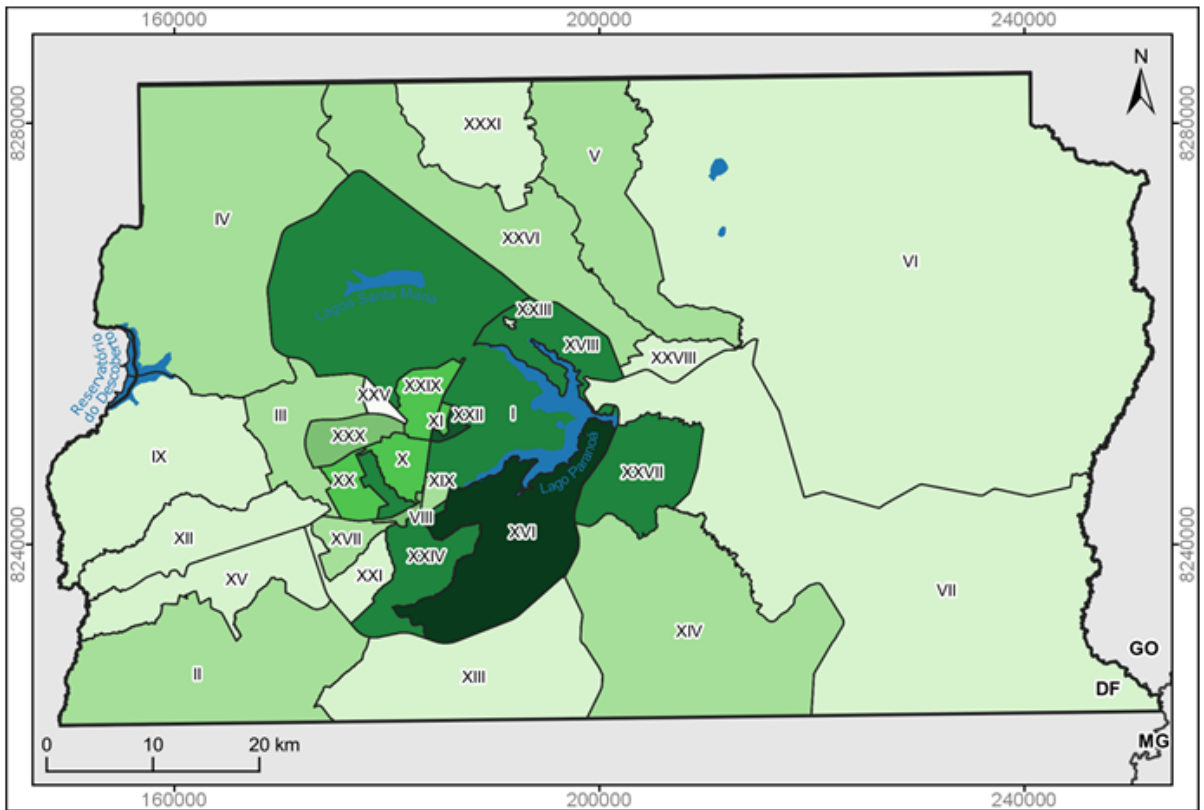


Figura 31 - Dispensa dos antibióticos alvo no mês de agosto de 2019, 2020 e 2021.

Para explicar o comportamento observado, pode-se perceber que o centro de Brasília, que destina seu esgoto para as ETEs NO e SU, comporta diversos hospitais públicos e privados. A Figura 32 mostra um mapa dos hospitais públicos no DF. A área central de Brasília comporta 6 hospitais públicos, além de dezenas de hospitais privados. É interessante perceber também que a área coberta pela ETE Melchior também possui uma grande quantidade de hospitais quando comparado com as outras ETEs. Ademais, na área central do DF reside uma parcela da população com maiores condições financeiras, ou seja, que pode ir a um médico com mais frequência e, conseqüentemente, utilizar medicamentos com maior facilidade. A Figura 33, retirada do Atlas do Distrito Federal de 2020<sup>69</sup> mostra a renda *per capita* de cada região administrativa do DF. Percebe-

se que a área central da capital possui renda maior que a periferia. Por fim, para corroborar o fato de que as ETEs NO e SU recebem o esgoto de uma parcela da comunidade com maior tendência de consumir medicamentos, podemos verificar que as regiões administrativas atendidas por essas ETEs são, também, as que possuem maior IDH do DF<sup>70</sup>.



■ **Corpos D'Água**  
*Water Bodies/ Cuerpos de Agua*
 **Limite do Distrito Federal**  
*Federal District Boundary/Limite del Distrito Federal*
 **Limite Estadual**  
*State Boundary/ Limite Estadual*

**Renda Per Capita por Região Administrativa**

*Household Income Per Capita by Administrative Region/ Ingreso Per Cápita del Hogar por Región Administrativa*

<span style="background-color: #f0f0f0; border: 1px solid black; display: inline-block; width: 15px; height: 10px; vertical-align: middle;"></span> Até R\$ 500	<span style="background-color: #c8e6c9; border: 1px solid black; display: inline-block; width: 15px; height: 10px; vertical-align: middle;"></span> R\$ 2.000 - R\$ 3.000	<span style="background-color: #8bc34a; border: 1px solid black; display: inline-block; width: 15px; height: 10px; vertical-align: middle;"></span> R\$ 5.000 - R\$ 6.000
<span style="background-color: #e8f5e9; border: 1px solid black; display: inline-block; width: 15px; height: 10px; vertical-align: middle;"></span> R\$ 500 - R\$ 1.000	<span style="background-color: #c8e6c9; border: 1px solid black; display: inline-block; width: 15px; height: 10px; vertical-align: middle;"></span> R\$ 3.000 - R\$ 4.000	<span style="background-color: #5e35b1; border: 1px solid black; display: inline-block; width: 15px; height: 10px; vertical-align: middle;"></span> R\$ 6.000 - R\$ 7.000
<span style="background-color: #c8e6c9; border: 1px solid black; display: inline-block; width: 15px; height: 10px; vertical-align: middle;"></span> R\$ 1.000 - R\$ 2.000	<span style="background-color: #4caf50; border: 1px solid black; display: inline-block; width: 15px; height: 10px; vertical-align: middle;"></span> R\$ 4.000 - R\$ 5.000	<span style="background-color: #004d40; border: 1px solid black; display: inline-block; width: 15px; height: 10px; vertical-align: middle;"></span> R\$ 7.000 - R\$ 8.000

**Regiões Administrativas** *Administrative Regions/ Regiones Administrativas*

- |                           |                       |                           |                         |
|---------------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------------|
| I - Plano Piloto          | IX - Ceilândia        | XVII - Riacho Fundo       | XXV - SCIA              |
| II - Gama                 | X - Guará             | XXVIII - Lago Norte       | XXVI - Sobradinho II    |
| III - Taguatinga          | XI - Cruzeiro         | XIX - Candangolândia      | XXVII - Jardim Botânico |
| IV - Brazlândia           | XII - Samambaia       | XX - Águas Claras         | XXVIII - Itapoã         |
| V - Sobradinho            | XIII - Santa Maria    | XXI - Riacho Fundo II     | XXIX - SIA              |
| VI - Planaltina           | XIV - São Sebastião   | XXII - Sudoeste/Octogonal | XXX - Vicente Pires     |
| VII - Paranoá             | XV - Recanto das Emas | XXIII - Varjão            | XXXI - Fercal           |
| VIII - Núcleo Bandeirante | XVI - Lago Sul        | XXIV - Park Way           |                         |

Figura 33 – Renda per capita por Região Administrativo do DF. Retirado do Atlas do Distrito Federal de 2020.

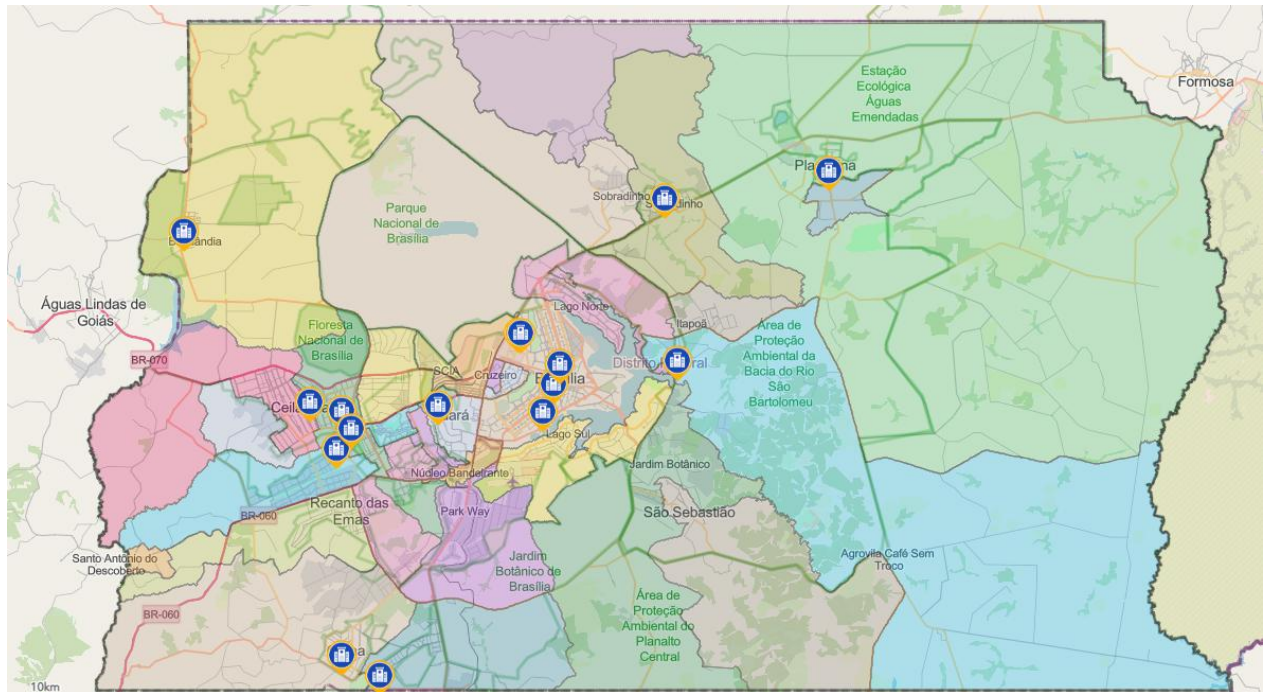


Figura 32 – Localidade dos hospitais públicos no Distrito Federal.

A análise simultânea de sulfametoxazol e trimetoprim é favorável devido ao conhecimento das razões iniciais consumidas, sendo sempre na proporção 5:1(SMX/TMP). A Figura 34 mostra as razões SMX/TMP médias obtidas para cada ETE investigada em termos dos dados referentes às estimativas de consumo, já consideradas as recuperações, para ambos os anos. As razões apresentaram valores sempre menores que 5. Os dados de 2024 variaram entre 1 e 2, enquanto os dados de 2023 resultaram em valores menores que 1. Em trabalho de revisão publicado por Thiebault<sup>71</sup>, em 2020, é mostrado que razões SMX/TMP retirados de 140 artigos variaram entre 0,01 e 113,5. A Figura 35 mostra o comportamento das razões SMX/TMP reportadas em esgoto bruto<sup>71</sup>. Nota-se que a grande maioria das razões estão entre 1 e 3. O trabalho também sustenta a ideia de que vários fenômenos, como sorção, biodegradação e biotransformações, podem afetar a razão teórica SMX/TMP. Diferentes tipos de composição de lodos presentes no esgoto podem ter diferentes taxas de sorção de sulfametoxazol e/ou trimetoprim.

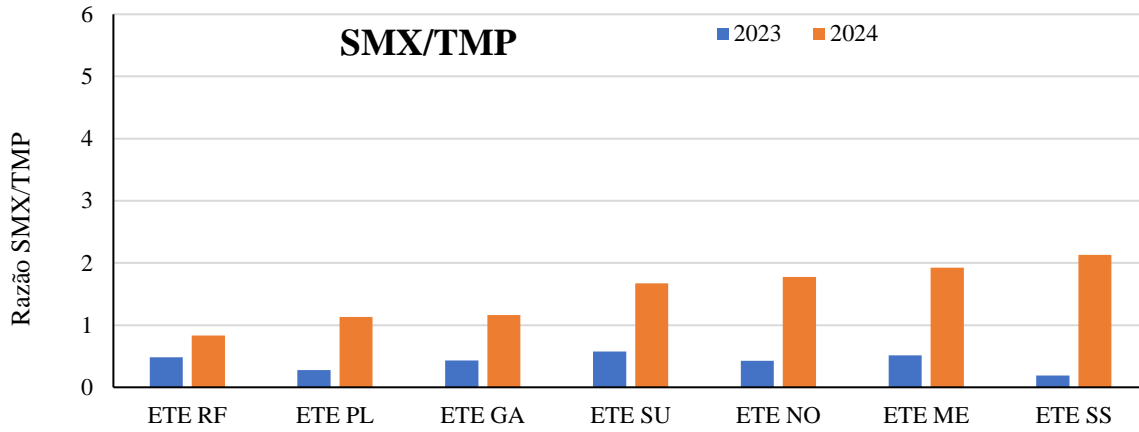


Figura 32 - Razão SMX/TMP nas ETEs do DF sem correção com dados de recuperação.

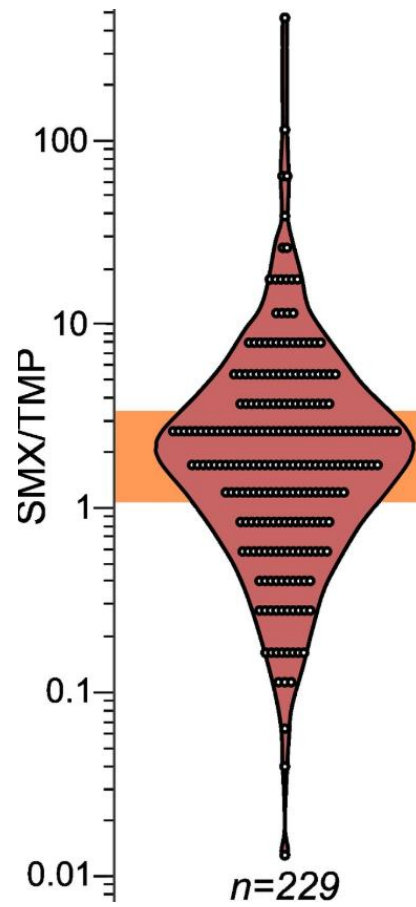


Figura 33 - Comportamento SMX/TMP observado na literatura. Adaptado<sup>71</sup>.

De posse dos dados de estimativa de consumo, é possível calcular o consumo médio de determinados analitos estudados para o Distrito Federal e compará-los com o consumo de outras cidades e países. O consumo médio estimado *per capita* corrigido pela recuperação pode ser observado na Tabela 27. Pode-se concluir que, após a correção, as maiores estimativas de consumo em 2023, durante o período amostral, foram ciprofloxacina, seguido da azitromicina e trimetoprim, observando uma correlação parcial da massa dispensada pelas farmácias privadas. Já em 2024, as maiores estimativas foram azitromicina, seguido da ciprofloxacina e sulfametoxazol. Nesse caso, a correlação é melhor, pois, o segundo antibiótico com maior massa observado na base de dados também é um beta-lactâmico, assim, possuindo maior instabilidade no meio ambiente. O que faz sentido de sua estimativa não ser maior que os demais antibióticos alvo. Após a cefalexina, tem-se a ciprofloxacina, azitromicina e o sulfametoxazol como maiores massas dispensadas, correlacionando com as maiores estimativas de 2024. Para fins comparativos, considerando apenas as massas dispensadas em agosto de 2021, foi calculado a estimativa de consumo considerando o DF como um todo. Esse resultado está disposto na Tabela 28.

Tabela 26 - Consumo médio estimado dos antimicrobianos no DF após correção com os valores de recuperação.

<b>Analito antimicrobiano</b>	<b>Consumo médio no Distrito Federal na campanha amostral de 2023 (mg/1000hab/dia)</b>	<b>Consumo médio no Distrito Federal na campanha amostral de 2024 (mg/1000hab/dia)</b>
<b>Azitromicina</b>	595 ± 96	1602 ± 437
<b>Cefalexina</b>	200 ± 9	83 ± 20
<b>Ciprofloxacina</b>	1774 ± 1127	791 ± 85
<b>Claritromicina</b>	14 ± 5	89 ± 20
<b>Levofloxacina</b>	188 ± 30	238 ± 25
<b>Sulfametoxazol</b>	287 ± 23	653 ± 30
<b>Tetraciclina</b>	Sem recuperação	Sem recuperação
<b>Trimetoprim</b>	605 ± 45	431 ± 39

Tabela 27 - Consumo calculado estimado com a massa comercializada de agosto de 2021.

<b>Analito antimicrobiano</b>	<b>Consumo estimado considerando a massa comercializada apenas em agosto de 2021 (mg/1000hab/dia)</b>
<b>Azitromicina</b>	387
<b>Cefalexina</b>	734
<b>Ciprofloxacina</b>	602
<b>Claritromicina</b>	248
<b>Levofloxacina</b>	230
<b>Sulfametoxazol</b>	230
<b>Tetraciclina</b>	112
<b>Trimetoprim</b>	46

Quando comparados os dados do SNGPC com a estimativa via EBE corrigida pela recuperação, os resultados de azitromicina, ciprofloxacina, trimetoprim e sulfametoxazol foram superestimados. Esse comportamento pode nos indicar uma possível utilização maior desses medicamentos por farmácias públicas ou hospitais privados e públicos. Por outro lado, cefalexina e claritromicina foram subestimados. Como discutido anteriormente, a cefalexina provavelmente sofre degradação por pertencer a classe dos beta-lactâmicos, tendo uma estrutura menos robusta para permanecer no meio ambiente inalterada. Por fim, a levofloxacina apresentou boa correlação entre os consumos.

Ao visualizar a Tabela 2, que mostra a estimativa de consumo de alguns antimicrobianos pela análise no esgoto, verifica-se que o consumo de SMX no DF é superior a diversas cidades chinesas, mas também é inferior a trabalhos realizados na Grécia e Austrália, por exemplo. O consumo estimado de ciprofloxacina no DF foi muito superior a maioria dos trabalhos já publicados, mas se assemelha ao resultado relatado foi na Grécia, em 2021 com estimativa de 853,1 mg/1000hab/dia. A azitromicina, segundo antibiótico mais utilizado no DF também mostrou alta taxa de consumo na estimativa pela EBE, superando a estimativa das cidades chinesas, mas se equiparando à estimativa realizada na Lituânia de 1700mg/1000hab/dia. O consumo da levofloxacina se equipara a diversos trabalhos publicados que realizaram análises em cidades

chinas. O trimetoprim mostrou consumo estimado equiparado com trabalhos da Inglaterra e de algumas cidades chinas.



## 6. CONCLUSÃO

A EBE surge como uma ferramenta para auxiliar as entidades governamentais. Com o aproveitamento da rotina analítica já estabelecida no grupo AQQUA, dedicada para análise de drogas de abuso e seus metabólitos, pode-se ter uma clara ideia de seu funcionamento para o monitoramento dos antibióticos no esgoto. Futuros ajustes no método são necessários para ter mais eficiência nessas análises, como foi mostrado nos baixos valores de recuperação encontrados. A EBE para antibióticos deve ser um estudo dedicado em função da natureza dos analitos, com métodos próprios e deve ser conduzida em escalas temporárias que consideram efeitos de sazonalidade. Apesar dos desafios encontrados nesse trabalho, os resultados mostraram a viabilidade que essa ferramenta possui de monitorar o consumo de antibióticos e, dessa forma, poder contribuir com a vigilância do uso desse tipo de medicamento. O consumo estimado *per capita* do período amostral realizado em agosto de 2023 e 2024 mostraram uma similitude com as massas dispensadas nos últimos meses de funcionamento da base de dados da ANVISA. A grande exceção está relacionada às moléculas que fazem parte da classe dos beta-lactâmicos, que possuem suscetibilidade em se degradar em condições adversas, como é o caso da amoxicilina.

Verificou-se que os macrolídeos (azitromicina e claritromicina) são influenciados, devido sua maior lipofilicidade, pela utilização do filtro de PVDF utilizado no preparo de amostra. Ainda assim, utilizando esses dados para correção na estimativa final de consumo, os resultados melhoraram sua correlação com as massas dispensadas. As médias de concentrações no esgoto das ETEs avaliadas variaram de 9 a 1005 ng/L em 2023, sendo que cefalexina, sulfametoxazol e trimetoprim foram as mais prevalentes. Em 2024, as médias de concentração variaram de 23 a 956 ng/L em 2024, tendo azitromicina, sulfametoxazol e trimetoprim como as mais prevalentes. Estimativas de carga *per capita* exibiram pouca correlação com atividades típicas de fim de semana enquanto estimativas de consumo indicaram valores mais altos para ciprofloxacina, azitromicina e sulfametoxazol, alinhando-se parcialmente com dados de vendas/dispensação de medicamentos. As menores estimativas calculadas foram da claritromicina e cefalexina. O consumo estimado está de acordo com o que vem sendo relatado em diversos trabalhos publicados no mundo. Com exceção do alto valor encontrado no consumo de ciprofloxacina no DF, as demais estimativas estão na média reportada por trabalhos recentes da China, Austrália, Grécia, Lituânia e Itália.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kourkouta L & Plati P. *History of Antibiotics Dimitriadou A. Sumerianz Journal of Medical and Healthcare* vol. 1 (2018).
2. Carlos F. Amábile-Cuevas. *Antibiotics and Antibiotic Resistance in the Environment*. (CRC Press, London, 2016).
3. Durand, G. A., Raoult, D. & Dubourg, G. Antibiotic discovery: history, methods and perspectives. *International Journal of Antimicrobial Agents* vol. 53 371–382 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.11.010> (2019).
4. Nicolaou, K. C. & Rigol, S. A brief history of antibiotics and select advances in their synthesis. *Journal of Antibiotics* vol. 71 153–184 Preprint at <https://doi.org/10.1038/ja.2017.62> (2018).
5. Hutchings, M., Truman, A. & Wilkinson, B. Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology* vol. 51 72–80 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008> (2019).
6. Antibiotic Resistance & Patient Safety Portal. Disponível em: <https://www.cdc.gov/hai/data/portal/AR-Patient-Safety-Portal.html>. Acesso em: março de 2024.
7. Mary E. Wilson. *Antibiotics: What Everyone Needs to Know®*. (Oxford University Press, London, 2019).
8. Zhou, X., Cuasquer, G. J. P., Li, Z., Mang, H. P. & Lv, Y. Occurrence of typical antibiotics, representative antibiotic-resistant bacteria, and genes in fresh and stored source-separated human urine. *Environ Int* **146**, (2021).
9. Fang, L. *et al.* A comprehensive and global evaluation of residual antibiotics in agricultural soils: Accumulation, potential ecological risks, and attenuation strategies. *Ecotoxicol Environ Saf* **262**, (2023).
10. Meek, R. W., Vyas, H. & Piddock, L. J. V. Nonmedical Uses of Antibiotics: Time to Restrict Their Use? *PLoS Biol* **13**, 1–11 (2015).
11. Adenaya, A., Berger, M., Brinkhoff, T., Ribas-Ribas, M. & Wurl, O. Usage of antibiotics in aquaculture and the impact on coastal waters. *Mar Pollut Bull* **188**, (2023).
12. World Health Organization. Disponível em: <https://www.who.int/>. Acesso em: novembro de 2024.
13. Caneschi, A., Bardhi, A., Barbarossa, A. & Zaghini, A. The Use of Antibiotics and Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicine, a Complex Phenomenon: A Narrative Review. *Antibiotics* vol. 12 Preprint at <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030487> (2023).

14. United Nations Environment Programme. Disponível em: <https://www.unep.org/pt-br>. Acesso em: março de 2024.
15. Global Research on Antimicrobial Resistance. Disponível em: <https://www.tropicalmedicine.ox.ac.uk/gram>. Acesso em: novembro de 2024.
16. Browne, A. J. *et al.* Global antibiotic consumption and usage in humans, 2000–18: a spatial modelling study. *Lancet Planet Health* **5**, e893–e904 (2021).
17. The AWaRe classification of antibiotics. (2023). Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MHP-HPS-EML-2023.04>. Acesso em: março de 2024.
18. Del Fiol, F. de S. *et al.* Consumption Trends of Antibiotics in Brazil During the COVID-19 Pandemic. *Front Pharmacol* **13**, (2022).
19. WHO Antibiotics consume report 2016-2018. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241514880> . Acesso em: março de 2024.
20. Locatelli, M. A. F., Sodré, F. F. & Jardim, W. F. Determination of antibiotics in Brazilian surface waters using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Arch Environ Contam Toxicol* **60**, 385–393 (2011).
21. Seventh Annual Report on Antimicrobial Agents Intended for Use in Animals. Disponível em: <https://www.woah.org/en/document/seventh-annual-report-on-antimicrobial-agents-intended-for-use-in-animals-2/>. Acesso em: março de 2024.
22. Gonzales, E., Helena De Carvalho Mello, H. & Café, M. B. *USO DE ANTIBIÓTICOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO NA ALIMENTAÇÃO E PRODUÇÃO ANIMAL*. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/revistaufg/article/download/48453/23781/>. Acesso em: março de 2024.
23. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 1, DE 13 DE JANEIRO DE 2020. Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/legislacao/INSTRUONORMATIVAN1DE13DEJANEIRODE2020.pdf>. Acesso em: março de 2024.
24. Aguiar, J. N. *et al.* The evolution of Brazilian human health policies for the prevention and control of antimicrobial resistance: a scoping review. *Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health* vol. 47 Preprint at <https://doi.org/10.26633/RPSP.2023.77> (2023).
25. Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle de Resistência aos Antimicrobianos no Âmbito da Saúde Única 2018-2022.vDisponível em: <https://cdn.who.int/media/docs/default-source/antimicrobial-resistance/amr-spc-npm/nap-library/brazil-amr-nap-2018-2022.pdf>. Acesso em: março de 2024.

26. Stewardship Brasil - ANVISA. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/servicosdesaude/prevencao-e-controle-de-infeccao-e-resistencia-microbiana/gerenciamento-do-uso-de-antimicrobianos-em-servicos-de-saude>. Acesso em: novembro de 2023.
27. Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no Âmbito da Agropecuária. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/pan-br-agro>. Acesso em: março de 2024.
28. Daughton, C. G. Illicit Drugs in Municipal Sewage. in 348–364 (2001). doi:10.1021/bk-2001-0791.ch020.
29. Zuccato, E. *et al.* Cocaine in surface waters: A new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environ Health* **4**, (2005).
30. The Evolution of Wastewater-Based Epidemiology Infographic. Disponível em: <https://www.technologynetworks.com/immunology/infographics/the-evolution-of-wastewater-based-epidemiology-377007>. Acesso em: março de 2023.
31. Singer, A. C. *et al.* A world of wastewater-based epidemiology. *Nature Water* **1**, 408–415 (2023).
32. Lorenzo, M. & Picó, Y. Wastewater-based epidemiology: current status and future prospects. *Current Opinion in Environmental Science and Health* vol. 9 77–84 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2019.05.007> (2019).
33. Choi, P. M. *et al.* Wastewater-based epidemiology biomarkers: Past, present and future. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* vol. 105 453–469 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.06.004> (2018).
34. Aguiar-Oliveira, M. de L. *et al.* Wastewater-based epidemiology (Wbe) and viral detection in polluted surface water: A valuable tool for covid-19 surveillance—a brief review. *International Journal of Environmental Research and Public Health* vol. 17 1–19 Preprint at <https://doi.org/10.3390/ijerph17249251> (2020).
35. de Oliveira, A. F. B., de Melo Vieira, A. & Santos, J. M. Trends and challenges in analytical chemistry for multi-analysis of illicit drugs employing wastewater-based epidemiology. *Anal Bioanal Chem* **415**, 3749–3758 (2023).
36. Huizer, M., ter Laak, T. L., de Voogt, P. & van Wezel, A. P. Wastewater-based epidemiology for illicit drugs: A critical review on global data. *Water Research* vol. 207 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117789> (2021).
37. Fontanals, N., Pocurull, E., Borrull, F. & Marcé, R. M. Role of solid-phase extraction in wastewater-based epidemiology. *Current Opinion in Environmental Science and Health* vol. 9 26–33 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2019.03.006> (2019).

38. Yi, R. *et al.* Wastewater-Based Epidemiology: Assessing Illicit Drug Usage and Impact through an Innovative Approach. *Water (Switzerland)* vol. 15 Preprint at <https://doi.org/10.3390/w15234192> (2023).
39. Matuszewski, B. K., Constanzer, M. L. & Chavez-Eng, C. M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. *Anal Chem* **75**, 3019–3030 (2003).
40. Mao, K. *et al.* Nanomaterial-based aptamer sensors for analysis of illicit drugs and evaluation of drugs consumption for wastewater-based epidemiology. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* vol. 130 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115975> (2020).
41. Han, S. *et al.* Estimating antibiotics use in major cities in China through wastewater-based epidemiology. *Science of the Total Environment* **826**, (2022).
42. Score website. Disponível em: <https://score-network.eu/>. Acesso em: março de 2024.
43. Bivins, A. *et al.* Wastewater-Based Epidemiology: Global Collaborative to Maximize Contributions in the Fight against COVID-19. *Environmental Science and Technology* vol. 54 7754–7757 Preprint at <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02388> (2020).
44. Luo, X. *et al.* Significant differences in usage of antibiotics in three Chinese cities measured by wastewater-based epidemiology. *Water Res* **254**, (2024).
45. Zhang, Y. *et al.* Wastewater-based epidemiology in Beijing, China: Prevalence of antibiotic use in flu season and association of pharmaceuticals and personal care products with socioeconomic characteristics. *Environ Int* **125**, 152–160 (2019).
46. Xu, L. *et al.* Assessment of community-wide antimicrobials usage in Eastern China using wastewater-based epidemiology. *Water Res* **222**, (2022).
47. Gao, J. *et al.* Exploring antibiotic consumption between urban and sub-urban catchments using both parent drugs and related metabolites in wastewater-based epidemiology. *Science of the Total Environment* **827**, (2022).
48. Tomsone, L. E. *et al.* Consumption trends of pharmaceuticals and psychoactive drugs in Latvia determined by the analysis of wastewater. *Water Res* **221**, (2022).
49. Peng, X., Wang, Z., Kuang, W., Tan, J. & Li, K. A preliminary study on the occurrence and behavior of sulfonamides, ofloxacin and chloramphenicol antimicrobials in wastewaters of two sewage treatment plants in Guangzhou, China. *Science of the Total Environment* **371**, 314–322 (2006).
50. Watkinson, A. J., Murby, E. J. & Costanzo, S. D. Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: Implications for environmental discharge and wastewater recycling. *Water Res* **41**, 4164–4176 (2007).

51. Galani, A. *et al.* Patterns of pharmaceuticals use during the first wave of COVID-19 pandemic in Athens, Greece as revealed by wastewater-based epidemiology. *Science of the Total Environment* **798**, (2021).
52. Yuan, S.-F., Liu, Z.-H., Huang, R.-P., Yin, H. & Dang, Z. Levels of six antibiotics used in China estimated by means of wastewater-based epidemiology. *Water Science and Technology* **73**, 769–775 (2016).
53. Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R. M. & Guwy, A. J. Illicit drugs and pharmaceuticals in the environment - Forensic applications of environmental data. Part 1: Estimation of the usage of drugs in local communities. *Environmental Pollution* **157**, 1773–1777 (2009).
54. Zhang, Q.-Q., Ying, G.-G., Pan, C.-G., Liu, Y.-S. & Zhao, J.-L. Comprehensive Evaluation of Antibiotics Emission and Fate in the River Basins of China: Source Analysis, Multimedia Modeling, and Linkage to Bacterial Resistance. *Environ Sci Technol* **49**, 6772–6782 (2015).
55. Zhang, S. X. *et al.* Emission and fate of antibiotics in the Dongjiang River Basin, China: Implication for antibiotic resistance risk. *Science of the Total Environment* **712**, (2020).
56. Leung, H. W. *et al.* Distribution, fate and risk assessment of antibiotics in sewage treatment plants in Hong Kong, South China. *Environ Int* **42**, 1–9 (2012).
57. Verlicchi, P., Al Aukidy, M., Jelic, A., Petrović, M. & Barceló, D. Comparison of measured and predicted concentrations of selected pharmaceuticals in wastewater and surface water: A case study of a catchment area in the Po Valley (Italy). *Science of the Total Environment* **470–471**, 844–854 (2014).
58. Holton, E., Sims, N., Jagadeesan, K., Standerwick, R. & Kasprzyk-Hordern, B. Quantifying community-wide antimicrobials usage via wastewater-based epidemiology. *J Hazard Mater* **436**, (2022).
59. Penicillin G Information. Disponível em: <https://www.pfizermedicalinformation.com/pfizerpen>. Acesso em: março de 2024.
60. Han, S. *et al.* Simultaneous Determination of Seven Antibiotics and Five of Their Metabolites in Municipal Wastewater and Evaluation of Their Stability under Laboratory Conditions. *Public Health* **18**, 10640 (2021).
61. Bisognin, R. P., Wolff, D. B., Carissimi, E., Prestes, O. D. & Zanella, R. Occurrence and fate of pharmaceuticals in effluent and sludge from a wastewater treatment plant in Brazil. *Environmental Technology (United Kingdom)* **42**, 2292–2303 (2021).
62. Thompson, M., Ellison, S. L. R., Fajgelj, A. ~, Willetts, P. & Wood, R. *INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY ANALYTICAL, APPLIED, CLINICAL, INORGANIC AND PHYSICAL CHEMISTRY DIVISIONS INTERDIVISIONAL WORKING PARTY FOR HARMONIZATION OF QUALITY ASSURANCE SCHEMES FOR ANALYTICAL LABORATORIES\* HARMONISED GUIDELINES FOR THE USE OF RECOVERY INFORMATION IN ANALYTICAL MEASUREMENT Held under the*

- Sponsorship of IUPAC, ISO and AOAC INTERNATIONAL. Pure & Appl. Chem* vol. 71 (1999).
63. Valderrama, P., Braga, J. W. B. & Poppi, R. J. *ESTADO DA ARTE DE FIGURAS DE MÉRITO EM CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA. Quim. Nova* vol. 32 (1278).
  64. Fabregat-Safont, D., Gracia-Marín, E., Ibáñez, M., Pitarch, E. & Hernández, F. Analytical key issues and challenges in the LC-MS/MS determination of antibiotics in wastewater. *Anal Chim Acta* **1239**, (2023).
  65. Kümmerer, K. Antibiotics in the aquatic environment - A review - Part I. *Chemosphere* vol. 75 417–434 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086> (2009).
  66. Zhao, K., Li, C. & Li, F. Research progress on the origin, fate, impacts and harm of microplastics and antibiotic resistance genes in wastewater treatment plants. *Sci Rep* **14**, (2024).
  67. Samrot, A. V. *et al.* Sources of Antibiotic Contamination in Wastewater and Approaches to Their Removal—An Overview. *Sustainability* **15**, 12639 (2023).
  68. Mehanni, M. M. *et al.* Antibiotic-resistant bacteria in hospital wastewater treatment plant effluent and the possible consequences of its reuse in agricultural irrigation. *Front Microbiol* **14**, (2023).
  69. Atlas do Distrito Federal 2020 - Meio Socioeconômico. Disponível em: <https://www.codeplan.df.gov.br/atlas-do-distrito-federal-2020/>. Acesso em: novembro de 2024.
  70. IDH Índice de Desenvolvimento Humano. Disponível em: <https://www.redesocialdecidades.org.br/br/DF/brasil/brasil/regiao/sia/idh-indice-de-desenvolvimento-humano>. Acesso em: novembro de 2024.
  71. Thiebault, T. Sulfamethoxazole/Trimethoprim ratio as a new marker in raw wastewaters: A critical review. *Science of The Total Environment* **715**, 136916 (2020).

**DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO OU TESE DE DOUTORADO**

Declaro que a presente dissertação/tese é original, elaborada especialmente para este fim, não tendo sido apresentada para obtenção de qualquer título e que identifico e cito devidamente todas as autoras e todos os autores que contribuíram para o trabalho, bem como as contribuições oriundas de outras publicações de minha autoria.

Declaro estar ciente de que a cópia ou o plágio podem gerar responsabilidade civil, criminal e disciplinar, consistindo em grave violação à ética acadêmica.

15 de janeiro de 2025.  
Brasília, (dia) de (mês) de (ano).

Assinatura do/a discente: Pedro Judah

Programa: Programa de Pós-Graduação em Química

Nome completo: Pedro Judah de Moura Messias

Título do Trabalho: EPIDEMIOLOGIA BASEADA NO ESGOTO COMO ESTRATÉGIA COMPLEMENTAR PARA ESTIMAR E COMPREENDER O CONSUMO DE ANTIBIÓTICOS NO DISTRITO FEDERAL

Nível:  Mestrado     Doutorado

Orientador/a: Fernando Fabríz Sodré