

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANEAMENTO,**  
**MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS**

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE MICRORGANISMOS**  
**INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO E PATOGÊNICOS**  
**EM LÍQUIDOS LIXIVIADOS DO ATERRO SANITÁRIO**  
**DE BELO HORIZONTE**

**Célia de Fátima Machado**

**Belo Horizonte**  
**2004**

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE MICRORGANISMOS  
INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO E PATOGÊNICOS  
EM LÍQUIDOS LIXIVIADOS DO ATERRO SANITÁRIO  
DE BELO HORIZONTE**

**Célia de Fátima Machado**

**Célia de Fátima Machado**

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE MICRORGANISMOS  
INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO E PATOGÊNICOS  
EM LÍQUIDOS LIXIVIADOS DO ATERRO SANITÁRIO  
DE BELO HORIZONTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Área de concentração: Meio Ambiente

Linha de pesquisa: Resíduos Sólidos

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Liséte Celina Lange

**Belo Horizonte  
Escola de Engenharia da UFMG  
2004**

Página com as assinaturas dos membros da banca examinadora, fornecida pelo Colegiado do  
Programa

A meus pais, pelos ensinamentos de vida.

## **AGRADECIMENTOS**

A Professora Liséte, pela amizade, alegria, apoio incondicional e a forma tranquila que conduziu esta pesquisa, pelos ensinamentos e exemplo de profissionalismo e ética, pela confiança, pelo carinho e compreensão nos momentos finais da pesquisa.

A minha família, pelo carinho e apoio durante todo este percurso, pela compreensão das intermináveis ausências, de quem este trabalho roubou dias e dias de convívio.

A companheira de pesquisa Noil, pela amizade, incentivo e pelas sugestões apresentadas que enriqueceram a discussão deste trabalho.

A Crisolita Cabral, grande colaboradora desta pesquisa, agradeço imensamente pela amizade, pela confiança, pelos ensinamentos e por disponibilizar prontamente toda a infra-estrutura do laboratório de microbiologia de alimentos. Agradeço também todos os técnicos do laboratório.

A bolsista Nayara, meu braço direito durante a parte experimental, deixo meus sinceros agradecimentos pelo empenho pessoal e também pela amizade.

A Berenice, pela amizade, ensinamentos e colaboração na interpretação e discussão dos resultados, durante toda a parte experimental.

Ao grupo SIGERS, pela alegre convivência, pelas discussões técnicas e pelo apoio, especialmente os amigos Cynthia, Florence, Gustavo Tetzl, Hosmanny, Juliana, Laís e Ramille, pela preocupação com o meu bem estar e solidariedade em todos os momentos.

As amigas e fiéis companheiras de estudo aos finais de semana, Frieda, Jussara e Socorro, sempre compartilhando os bons e maus momentos desta trajetória. Sentirei muita saudade da nossa convivência, das descontrações e conversas na hora do cafezinho.

Ao Antônio Carlos e Fábio Bianchetti, pela amizade e auxílio na elaboração de tabelas, gráficos e formatação da dissertação.

As funcionárias da SMLU, Sofia, pela simpatia e amizade e pela imensa colaboração durante as coletas do líquido lixiviado, sempre pronta a contribuir de alguma forma e Kátia pela educação e atenção que sempre me recebeu.

As funcionárias do DESA, Iara e Cláudia, pela presteza com que sempre nos atenderam e pelos esforços em solucionar nossos problemas administrativos, e em especial, a Iara pela sincera amizade.

Aos funcionários do Setor de Lavagem e Esterilização de Materiais e Setor de Produção de Meios de Cultura, pela preparação da vidraria e dos meios de cultura.

Ao Geraldo Leocádio (Divisão de Biologia Média/FUNED), pelos ensinamentos em microbiologia médica.

Ao Heuder Pacelli, pelo empenho na assinatura da parceria entre a SMLU e UFMG e disponibilização das amostras de líquido lixiviado.

Ao Professor Ivan Sampaio, pela relevante colaboração no tratamento estatístico dos dados e pela paciência com a qual sempre me recebeu em sua sala.

Ao Professor Mauro Naghettini e Professor Rafael Palmier pela amizade e ensinamentos referentes à estatística e recursos hídricos, respectivamente.

Ao Alexandre/UMM, pela prontidão em atender-me sempre que os computadores apresentavam problemas.

À FUNASA pelo financiamento da pesquisa.

À MERCK pela doação dos meios de cultura, especialmente o funcionário Wagner e Maurício, pela atenção dispensada.

Às instituições que contribuíram para a realização dessa pesquisa: CDTN pelo empréstimo das máscaras e equipamento de medição em campo, Analítica pela doação de antibióticos, Fundação André Tosello, pela doação das cepas controle de microrganismos.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

As minhas amigas, Aidê Ferraz, Ana Ricoi, Ilka Cintra, Kátia Cilene, Marinilce Palhares, Nilce Bazzoli e Sônia Venturelli, pela confiança e incentivo.

Aos ex-mestrandos, Ana Lúcia, Eduardo Borges, Mauro César e Ricardo Parma, pela amizade, ensinamentos técnicos e agradável convivência durante o período das disciplinas isoladas.

Por fim, aos professores, funcionários do DESA e colegas da pós-graduação pela alegre convivência durante estes anos e a todos aqueles que, diretamente ou indiretamente, contribuíram para a realização desta pesquisa.

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de microrganismos indicadores de contaminação e patogênicos do líquido lixiviado do aterro sanitário de Belo Horizonte/MG, de células diferenciadas pelo cenário de aterramento dos resíduos, célula emergencial (disposição de resíduos sólidos urbanos, encerrada sua operação em Agosto/97) e também da célula AC05 (co-disposição de resíduos sólidos urbanos e resíduos de serviços de saúde, em operação no período das amostragens).

No período de Janeiro a Abril/03 foram coletadas 25 amostras do líquido lixiviado das células estudadas e foram analisados os parâmetros físico-químicos, pH, temperatura, potencial redox e condutividade e os parâmetros microbiológicos, coliformes totais, coliformes termotolerantes, Grupo *Enterococcus*, *Clostridium perfringens* (indicadores de contaminação), além de bactérias aeróbias e dos microrganismos comumente causadores de infecção hospitalar, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*.

O líquido lixiviado da célula AC05, apresentou valor maior para condutividade e temperatura e menor para potencial redox. Os valores de pH da AC05 e emergencial estavam próximos.

Foram detectados todos os microrganismos pesquisados em ambas as células, exceto *Staphylococcus aureus*. A concentração dos indicadores de contaminação, coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Clostridium perfringens* foi superior na célula AC05. Para a concentração do Grupo *Enterococcus*, bactérias aeróbias e *Pseudomonas aeruginosa* não houve diferença estatisticamente significativa.

Quanto à susceptibilidade aos antimicrobianos, as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas dos líquidos lixiviados da célula AC05 apresentaram maior percentual de resistência (20,69%) aos antibióticos testados em relação às cepas da célula emergencial (7,6%). As cepas de ambas as células apresentaram resistência múltipla aos antibióticos comumente utilizados no tratamento de infecções humanas e somente na célula AC05 foi detectada resistência ao antibiótico imipenem, carbapenêmico de quarta geração mais eficaz no tratamento de infecções causadas pela *Pseudomonas aeruginosa*.

Os resultados deste estudo alertam para a possibilidade da presença de outros microrganismos patogênicos advindos dos RSU e RSS e indicam que tanto o líquido lixiviado da célula AC05, com co-disposição de RSU e RSS como o líquido lixiviado da célula emergencial, com disposição somente de RSU podem representar risco biológico à saúde pública e ao meio ambiente.

## ABSTRACT

This work study the presence of environmental contamination indicators and pathogenic microorganisms in the leachate of two different cells located at the sanitary landfill of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil, as follows: Emergency Cell (disposal of solid urban waste; closed in August, 1997) and ACO5 Cell (co-disposal of solid urban and hospital waste; operating during the samples collection).

From January until April, 2003, 25 samples of leachate were collected at the studied cells. The following physical and chemical parameters were analysed: pH, Temperature, Potential Redox and Conductivity as well as the microbial parameters: total and thermotolerant coliforms, *Enterococcus*, *Clostridium perfringens* (contamination indicators) besides the aerobic bacterias and the microorganisms commonly related to the hospital infection as *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*.

The leachate of the ACO5 cell, presented greater value for conductivity and temperature and lower value for redox potential. The pH values of ACO5 and emergencial cells were close.

Except for the *Staphylococcus aureus*, all others microorganisms studied were detected in both cells. The concentrations of the contamination indicators: total coliforms, thermotolerant coliforms and *Clostridium perfringens* was greater in ACO5 cell. On the other hand, statistics difference between the *Enterococcus* group and the aerobics bacteria *Pseudomonas aeruginosa* were not observed.

Regarding to the susceptible to antimicrobials, the *Pseudomonas aeruginosa* strains that was isolated of the leachate of the ACO5 cell, had shown greater resistance rate (20,69%) to tested antibiotics than emergencial cell ( 7,6%). The strains of the both cells had shown multiple resistance to the antibiotics commonly used in the human infections and only in the ACO5 cells was detected resistance to imipenem, carbapenêmico (4<sup>th</sup> generation) and treatment more efficient of caused infections to *Pseudomonas aeruginosa*.

The results of this research alert for the possibility of the presence of other pathogenic microorganisms of the RSU and RSS and indicates that so far the leachate of the ACO5 cell, from co-disposal of solid urban and hospital waste as well as the leachate of the emergencial cell, from mono disposal of solid urban waste, can represent biological risks to the public health and environment.

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>3</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	3
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	3
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
3.1	RESÍDUOS SÓLIDOS.....	4
3.1.1	<i>Situação da destinação final dos RSU e RSS no Brasil</i> .....	4
3.1.2	<i>Epidemiologia dos resíduos</i> .....	5
3.1.3	<i>Aspectos normalizadores e legais referentes aos RSU e RSS</i> .....	8
3.1.3.1	Classificação dos resíduos de serviços de saúde.....	9
3.1.3.2	Classificação dos resíduos sólidos urbanos .....	16
3.2	CONSIDERAÇÕES SOBRE LÍQUIDO LIXIVIADO.....	17
3.2.1	<i>Definição de líquido lixiviado</i> .....	17
3.2.2	<i>Composição e características dos líquidos lixiviados</i> .....	18
3.2.3	<i>Aspectos físico-químicos dos líquidos lixiviados</i> .....	19
3.2.3.1	Parâmetros físicos .....	19
3.2.3.2	Parâmetros químicos .....	20
3.2.4	<i>Aspectos normalizadores e legais sobre o lançamento de líquidos lixiviados</i> .....	21
3.3	COMISSÃO DE CONTROLE DE INFECÇÃO HOSPITALAR - CCIH.....	22
3.4	ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS .....	23
3.4.1	<i>Microbiota normal do corpo humano</i> .....	24
3.4.2	<i>Microrganismos patogênicos de interesse da comissão de controle de infecção hospitalar</i> .....	25
3.4.2.1	<i>Enterobacteriaceae</i> .....	26
3.4.2.2	<i>Clostridium</i> .....	27
3.4.2.3	<i>Streptococcus</i> .....	28
3.4.2.4	<i>Staphylococcus</i> .....	29
3.4.2.5	<i>Pseudomonas</i> .....	31
3.4.3	<i>Antimicrobianos e resistência bacteriana aos antimicrobianos</i> .....	33
3.4.3.1	Resistência bacteriana a drogas .....	35
3.4.3.2	Resistência bacteriana dos microrganismos de interesse médico .....	38
3.4.4	<i>Microrganismos indicadores de contaminação</i> .....	40
3.4.5	<i>Aspectos microbiológicos dos RSU, RSS e líquidos lixiviados de aterros sanitários</i> .....	42
3.4.6	<i>Métodos e técnicas disponíveis para detecção de microrganismos</i> .....	47
3.4.6.1	Técnica de tubos múltiplos.....	47
3.4.6.2	Técnica de presença e ausência .....	48
3.4.6.3	Plaqueamento em meio sólido.....	48
3.4.6.4	Técnica de membrana filtrante .....	49
3.4.6.5	Métodos rápidos de detecção e identificação de bactérias.....	50
3.4.6.6	Provas bioquímicas .....	51
3.4.6.7	Determinação da susceptibilidade aos agentes antimicrobianos.....	52
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>53</b>
4.1	AMOSTRAGEM DOS LÍQUIDOS LIXIVIADOS.....	53
4.1.1	<i>Local de Amostragem</i> .....	53
4.1.2	<i>Amostragem</i> .....	54
4.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS LÍQUIDOS LIXIVIADOS .....	56
4.2.1	<i>Caracterização do pH, temperatura e potencial redox</i> .....	56
4.2.2	<i>Caracterização da condutividade</i> .....	56
4.3	CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DOS LÍQUIDOS LIXIVIADOS .....	58
4.3.1	<i>Infra-estrutura para a realização das análises microbiológicas</i> .....	58
4.3.1.1	Parâmetros Microbiológicos.....	58
4.3.2	<i>Estabelecimento das metodologias para as análises microbiológicas do líquido lixiviado</i> .....	58
4.3.2.1	Técnica de Tubos Múltiplos .....	59
4.3.2.2	Técnica de Tubos Múltiplos com Substrato Cromogênico .....	67
4.3.2.3	Técnica de Substrato Cromogênico .....	68

4.3.2.4	Técnica de Presença e Ausência.....	68
4.3.2.5	Técnica de Plaqueamento em Superfície (“spread plate”).....	69
4.3.2.6	Técnica de Plaqueamento em Profundidade (“pour plate”).....	71
4.4	TRATAMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....	73
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>76</b>
5.1	TÉCNICAS TESTADAS PARA A DETECÇÃO DE MICRORGANISMOS NO LÍQUIDO LIXIVIADO .....	76
5.1.1	<i>Técnica de tubos múltiplos</i> .....	76
5.1.2	<i>Técnica de presença e ausência com substrato cromogênico</i> .....	77
5.1.3	<i>Técnica do substrato cromogênico (colilert)</i> .....	78
5.1.4	<i>Técnica de plaqueamento</i> .....	78
5.2	PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DAS CÉLULAS AC05 E EMERGENCIAL .....	79
5.2.1	<i>Potencial Hidrogeniônico - pH</i> .....	79
5.2.2	<i>Temperatura</i> .....	81
5.2.3	<i>Condutividade</i> .....	82
5.2.4	<i>Potencial Redox</i> .....	84
5.3	TRATAMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....	86
5.3.1	<i>Estatística descritiva</i> .....	86
5.3.2	<i>Teste de postos com sinais de wilcoxon</i> .....	87
5.4	PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS DA CÉLULA AC05 E EMERGENCIAL .....	89
5.4.1	<i>Microrganismos indicadores de contaminação</i> .....	89
5.4.2	<i>Grupo Enterococcus</i> .....	90
5.4.3	<i>Clostridium perfringens</i> .....	92
5.5	MICRORGANISMOS DE INTERESSE DA COMISSÃO DE CONTROLE DE INFECÇÃO HOSPITALAR - CCIH ....	94
5.5.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	94
5.5.2	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	97
5.6	TRATAMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....	98
5.6.1	<i>Estatística descritiva</i> .....	98
5.6.2	<i>Teste de postos com sinais de wilcoxon</i> .....	99
5.6.3	<i>Análise fatorial por componentes principais</i> .....	101
5.6.3.1	<i>Análise da inércia do sistema</i> .....	101
5.6.3.2	<i>Análise das componentes principais do sistema</i> .....	101
5.6.3.3	<i>Análise da representação gráfica das variáveis e das observações</i> .....	102
5.6.4	<i>Análise global dos parâmetros microbiológicos</i> .....	105
5.7	AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS DAS CEPAS DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA ISOLADAS NOS LÍQUIDOS LIXIVIADOS DAS CÉLULAS AC05 E EMERGENCIAL.....	107
5.8	TRATAMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....	111
5.8.1	<i>Teste do X<sup>2</sup></i> .....	111
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>114</b>
<b>7</b>	<b>RECOMENDAÇÕES.....</b>	<b>118</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>119</b>

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS**

**ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas**

**ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária**

**CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior**

**CCIH – Comissão de Controle de Infecção Hospitalar**

**CDTN – Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear**

**CETESB – Companhia de Tecnologia e Saneamento**

**CNEN – Centro Nacional de Energia Nuclear**

**COPAM – Conselho Estadual de Política Ambiental**

**COPASA – Companhia de Saneamento de Minas Gerais**

**FEAM – Fundação Estadual de Meio Ambiente**

**FUNASA – Fundação Nacional de Saúde**

**FUNED – Fundação Ezequiel Dias**

**IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**

**IPT – Instituto de Pesquisas Tecnológicas**

**ITAL – Instituto Tecnológico de Alimentos**

**NCCLS – National Commite For Clinical Laboratory Standards**

**OMS – Organização Mundial de Saúde**

**RSS – Resíduos de Serviços de Saúde**

**RSU – Resíduos Sólidos Urbanos**

**SMLU – Secretaria Municipal de Limpeza Urbana**

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 4.1: Visão geral da célula AC05 e do piezômetro de coleta do líquido lixiviado PLQ-5A....	53
FIGURA 4.2: Visão geral da célula emergencial e do piezômetro de coleta do líquido lixiviado PLQ-6A .....	54
FIGURA 4.3: Jarra adaptada para coleta do líquido lixiviado da célula AC05 .....	55
FIGURA 4.4: Máscara adaptada para respiração, durante as primeiras amostragens do líquido lixiviado da célula AC05 .....	55
FIGURA 4.5: Amostragem do líquido lixiviado no piezômetro da célula AC05 .....	55
FIGURA 4.6: Amostragem do líquido lixiviado no piezômetro da célula emergencial .....	56
FIGURA 4.7: Equipamentos utilizados para medição dos parâmetros físicos-químicos.....	57
FIGURA 4.8: Medição dos parâmetros físicos-químicos da célula AC05 .....	57
FIGURA 4.9: Medição dos parâmetros físicos-químicos da célula emergencial.....	57
FIGURA 4.10: Testes presuntivo e confirmativo para detecção de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> no ..... líquido lixiviado .....	62
FIGURA 4.11: Isolamento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e coloração de Gram .....	63
FIGURA 4.12: Prova bioquímica Rugai Modificado da colônia isolada de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	64
FIGURA 4.13: Prova bioquímica OF para confirmação de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	64
FIGURA 4.14: Antibiograma das cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isoladas do líquido lixiviado ...	66
FIGURA 4.15: Detecção do grupo <i>Enterococcus</i> pela técnica de tubos múltiplos com (caldo Chromocult Enterococci .....	67
FIGURA 4.16: Detecção simultânea de coliformes fecais e <i>Escherichia coli</i> pela técnica de presença e ausência com substrato cromogênico Readyult Coliformes .....	69
FIGURA 4.17: Detecção do grupo <i>Enterococcus</i> pela técnica de presença e ausência com substrato cromogênico Readyult Enterococci .....	69
FIGURA 4.18: Técnica de plaqueamento em superfície.....	70
FIGURA 4.19: Plaqueamento em superfície para detecção de <i>Staphylococcus aureus</i> no líquido lixiviado.....	70
FIGURA 4.20: Teste confirmativo para <i>Clostridium perfringens</i> utilizando leite tornassolado .....	73
FIGURA 5. 1: Variação do pH nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial, em função do tempo .....	80
FIGURA 5. 2: Variação da temperatura nos líquido lixiviados das células AC05 e emergencial em função do tempo .....	82
FIGURA 5. 3: Variação da condutividade nos líquido lixiviados das células AC05 e emergencial em função do tempo .....	83
FIGURA 5. 4: Variação do potencial redox nos líquido lixiviados das células AC05 e emergencial em função do tempo .....	84

FIGURA 5. 5: Concentração de coliformes totais nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial, em função do tempo.....	89
FIGURA 5. 6: Concentração de coliformes termotolerantes nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial, em função do tempo.....	89
FIGURA 5.7: Concentração do grupo <i>Enterococcus</i> nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial, em função do tempo.....	90
FIGURA 5.8: Concentração dos indicadores de contaminação no líquido lixiviado da célula AC05, em função do tempo .....	91
FIGURA 5.9: Concentração dos indicadores de contaminação no líquido lixiviado da célula emergencial, em função do tempo.....	91
FIGURA 5.10: Concentração de <i>Clostridium perfringens</i> nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial, em função do tempo.....	92
FIGURA 5.11: Concentração de bactérias aeróbias nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial, em função do tempo.....	94
FIGURA 5.12: Concentração de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial, em função do tempo.....	95
FIGURA 5.13: Indicadores de contaminação e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> no líquido lixiviado da célula AC05, em função do tempo.....	96
FIGURA 5.14: Indicadores de contaminação e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> no líquido lixiviado da célula emergencial, em função do tempo.....	96
FIGURA 5. 15: Cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> isoladas do líquido lixiviado esterelizado em ágar sangue e ágar BP .....	98
Figura 5. 16: Localização gráfica das observações e das variáveis do líquido lixiviado da célula AC05 e emergencial determinados pela análise fatorial por componentes principais .....	103
FIGURA 5.17: Susceptibilidade aos antimicrobianos das 87 cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isoladas do líquido lixiviado da célula AC05.....	107
FIGURA 5.18: Frequência das 87 cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isoladas do líquido lixiviado da célula AC05, sensíveis, resistentes e intermediárias aos antibióticos testados.....	108
FIGURA 5.19: Susceptibilidade aos antimicrobianos das 105 cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isoladas do líquido lixiviado da célula emergencial .....	109
FIGURA 5. 20: Frequência das 105 cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isoladas do líquido lixiviado da célula emergencial, resistentes e intermediárias aos antibióticos testados .....	109

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Doenças transmitidas pelos principais vetores que vivem nos resíduos .....	6
Tabela 3.2: Microbiota Normal do Corpo Humano .....	24
Tabela 3.3: Número de bactérias viáveis encontradas nas fezes de animais adultos (logaritmo de bactérias viáveis por grama de fezes) .....	24
Tabela 3.4: Frequência de patógenos causadores de infecções hospitalares (em porcentagens) <sup>1</sup> .....	26
Tabela 3.5: Principais características das espécies que compõem o grupo dos estreptococos fecais e <i>Enterococcus</i> .....	29
Tabela 3.6: Fatores de virulência associados a <i>Pseudomonas</i> .....	32
Tabela 3.7: Classificação dos antibióticos e espectro de ação .....	35
Tabela 3.8: Principais antibióticos e mecanismos de resistência envolvidos.....	38
Tabela 3.9: Concentração de bactérias indicadoras de contaminação fecal em aterros com diferentes idades de aterramento dos resíduos .....	45
Tabela 3.10: Concentração de bactérias indicadoras de contaminação fecal em resíduos sólidos e líquido lixiviado em aterro de 9 anos. ....	46
Tabela 4.1: Características das células amostradas do aterro sanitário de Belo Horizonte.....	53
Tabela 4.2: Microrganismos pesquisados no líquido lixiviado do aterro sanitário de Belo Horizonte e sua importância.....	58
Tabela 4.3: Técnicas testadas para detecção dos microrganismos no líquido lixiviado do aterro sanitário de Belo Horizonte, com as respectivas aplicações e etapas de desenvolvimento.....	59
Tabela 4.4: Antibióticos e concentrações utilizadas para o antibiograma das cepas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	65
Tabela 4.4: Antibióticos e concentrações utilizadas para o antibiograma das cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	65
Tabela 5.1: Estatística descritiva para os parâmetros físico-químicos da célula AC05 .....	86
Tabela 5.2: Estatística descritiva para os parâmetros físico-químicos da célula emergencial .....	86
Tabela 5.3: Teste de postos com sinais de Wilcoxon para os parâmetros físico-químicos da célula AC05 e emergencial .....	87
Tabela 5.4: Estatística descritiva para os microrganismos pesquisados no líquido lixiviado da célula AC05 .....	98
Tabela 5.5: Estatística descritiva para os microrganismos pesquisados no líquido lixiviado da célula emergencial .....	99
Tabela 5.6: Teste de postos com sinais de Wilcoxon para os parâmetros microbiológicos da célula AC05 e emergencial .....	99
Tabela 5.7: Variáveis pesquisadas e seus respectivos valores e componentes principais.....	101

# 1 INTRODUÇÃO

A geração de resíduos sólidos urbanos (RSU) e o seu adequado gerenciamento são alguns dos maiores desafios enfrentados pela sociedade atual e pelas administrações públicas. No Brasil, a forma predominante de disposição final de RSU é a céu aberto. Trata-se de uma prática inadequada de destinação dos resíduos que traz como conseqüência, uma série de impactos negativos, sendo totalmente condenável do ponto de vista sanitário, ambiental e social. Os impactos causados tendem a agravar os aspectos da poluição ambiental e da saúde pública.

Ademais, os resíduos sólidos urbanos, por conterem grande percentual de matéria orgânica, em seu processo natural de decomposição geram “chorume”, também conhecido como percolato ou líquido lixiviado. Este líquido lixiviado é um foco potencial de contaminação ambiental devido à sua constituição – alta concentração de matéria orgânica, bactérias, toxinas de bactérias, dentre outros, podendo poluir o solo, as águas subterrâneas e superficiais.

Assim como os resíduos sólidos urbanos, a disposição inadequada dos resíduos de serviços de saúde (RSS) a céu aberto também representa risco biológico ao meio ambiente e à saúde pública. Estes resíduos, quando não dispostos a céu aberto, geralmente são aterrados em valas sépticas ou co-dispostos com resíduos sólidos urbanos, em aterros sanitários.

O potencial de risco biológico atribuído aos resíduos de serviços de saúde constitui-se num ponto de discussão entre pesquisadores da área de meio ambiente, saneamento e de saúde. Há um grupo que considera que os RSS representam riscos adicionais à saúde humana e ao meio ambiente por apresentarem maior periculosidade que os resíduos sólidos urbanos e, um outro grupo, que se contrapõe ao fator de maior potencialidade de risco que os RSS representam, quando comparados aos RSU.

Neste contexto, são necessárias pesquisas que avaliem o risco real que os RSU, RSS e líquidos lixiviados de aterros sanitários podem representar à saúde pública e ao meio ambiente, levando-se em consideração a avaliação da presença de bactérias indicadoras de contaminação e patogênicas.

Dessa forma, a polêmica sobre o potencial risco biológico atribuído a estes elementos aliada à escassez de dados sobre a sobrevivência de microrganismos patogênicos nos resíduos aterrados e nos líquidos lixiviados, justifica plenamente a investigação de técnicas e procedimentos capazes de elucidarem esta questão.

Assim, esta dissertação pretende contribuir com a lacuna do conhecimento na avaliação das técnicas para a detecção e isolamento de microrganismos indicadores de contaminação e patogênicos, em líquidos lixiviados de aterros sanitários, bem como na avaliação da presença destes microrganismos e na susceptibilidade aos antimicrobianos dos microrganismos de interesse da comissão de controle de infecção hospitalar (CCIH).

Ressalta-se que esta pesquisa está inserida em um projeto mais amplo, “Avaliação da Sustentabilidade Tecnológica e Ambiental de Aterros Sanitários como Método de Tratamento e de Disposição Final de Resíduos de Serviços de Saúde - SUSTARSS”, financiada pela FUNASA (Fundação Nacional de Saúde), Edital 01/2001, área temática resíduos sólidos urbanos, linha de pesquisa Lixo 2, que inclui uma tese de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Escola de Engenharia da UFMG.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 *Objetivo geral*

Avaliar o potencial de patogenicidade dos líquidos lixiviados procedentes de duas células do aterro sanitário de Belo Horizonte, sendo uma com aterramento de resíduos sólidos urbanos (emergencial) e outra com co-disposição de resíduos sólidos urbanos e resíduos de serviços de saúde (AC05).

### 2.2 *Objetivos específicos*

- Avaliar as técnicas de análise qualitativa e quantitativa, para detecção de microrganismos indicadores de contaminação e patogênicos em líquidos lixiviados de aterro sanitário;
- Detectar e quantificar microrganismos indicadores de contaminação nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial, que apresentam características diferentes de aterramento de resíduos;
- Isolar e quantificar microrganismos patogênicos de interesse da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial;
- Avaliar a susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, isoladas dos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial;
- Comparar os resíduos sólidos urbanos e resíduos de serviços de saúde, após disposição em aterro sanitário, por meio da avaliação microbiológica dos líquidos lixiviados das células em estudo;

## 3 REVISÃO DA LITERATURA

### 3.1 Resíduos sólidos

#### 3.1.1 Situação da destinação final dos RSU e RSS no Brasil

No Brasil, a maioria dos RSU e RSS gerados são dispostos de forma inadequada. Conforme dados contidos no Plano Nacional de Saneamento Básico-PNSB (IBGE, 2000), 63,6% dos municípios depositam seus resíduos em lixões, apenas 32,2% declaram que possui aterros adequados (13,8% sanitários e 18,4% aterros controlados), havendo ainda um percentual de 5% que não informou qual a destinação dos seus resíduos.

A disposição inadequada desses resíduos, além de ser uma prática contrária às posturas expressas na legislação, tem como consequência uma série de impactos ambientais, sociais e econômicos. Dentre os impactos ambientais ressaltam-se a poluição do ar, das águas e do solo. Quanto aos impactos econômicos, há desvalorização de áreas no entorno do lixão, perda de moradias devido a desabamentos, enchentes e gastos com desentupimento dos sistemas de drenagem de águas pluviais, dentre outros.

Adicionalmente, o impacto social agravante de um lixão está relacionado à presença de pessoas que sobrevivem da catação, vivendo de forma sub-humana e expostas aos riscos ocupacionais de características de contaminações química e biológica. Os riscos biológicos são atribuídos ao descarte de perfurocortantes (agulhas, ampolas quebradas, vidros de medicamentos, bisturis, etc), gazes e luvas contaminadas, peças anatômicas, fetos e demais materiais provenientes, principalmente dos RSS.

Em reportagem realizada com catadores do lixão de São Gonçalo, no Rio de Janeiro, MAGALHÃES (2000) retratou esta deprimente realidade, corroborada pelo depoimento da catadora Dona Jurema que fez um relato sobre os materiais provenientes dos RSS descartados no lixão – *“Esse é o lixo mais disputado no meio de tantos catadores e entre aqueles que chegam aqui até para negociá-lo. A chegada de “caminhões” é sempre vista com bons olhos. Os preços oferecidos, muitas vezes, ultrapassam as quantias estabelecidas para outras mercadorias, como papel, papelão, vidro, plástico, alumínio ou simples objetos”. E prossegue: “Fiscalização? Ninguém sabe de onde vem, quem transporta, quem compra e para onde vai. Aqui prevalece a lei do silêncio”.*

Nesta mesma reportagem houve o relato que, nos lixões, onde também são estabelecidos e impostos códigos de “ética” traçados com base em interesse de segmentos distintos, aparecem “comerciantes” de materiais altamente suspeitos: como seringas de injeção que provavelmente vão alimentar dependentes de drogas que, na falta de recursos até para o sustento do vício, se submetem às condições desses “negociantes”, que invariavelmente circulam pelos arredores (MAGALHÃES, 2000).

As principais causas que contribuem para esta realidade brasileira são: falta de uma política de saneamento, vontade das gestões municipais, falta de recursos financeiros, crescimento urbano e conseqüente aumento da geração de resíduos, escassez de áreas adequadas para a destinação final dos resíduos. Aliados a essas causas, destacam-se a falta de conhecimento e do cumprimento das legislações por parte das instituições geradoras dos resíduos.

### **3.1.2 Epidemiologia dos resíduos**

Em relação aos aspectos sanitários, o principal problema da disposição inadequada dos resíduos é a possibilidade de transmitir diversas enfermidades ao homem e aos seres vivos, por meio de diferentes vias de contágio. Portanto, os resíduos sólidos urbanos representam um elemento que não deve ser desprezado no estudo da estrutura epidemiológica, uma vez que, pela sua variada composição, poderá conter agentes patogênicos afetando o homem de forma direta ou indireta (FORATTINI, 1973).

Para FORATTINI (1973) & BARROS *et al* (1996), o resíduo não é causa direta de doença. Contudo, já foi comprovada a transmissão de doenças por vias indiretas. Desta maneira, os agravos à saúde da população para os quais se possa atribuir certa responsabilidade aos resíduos, são aqueles resultantes das vias indiretas devido às condições favoráveis dos resíduos em oferecer alimento e abrigo, fatores essenciais para a proliferação dos vetores. Tais fatores dizem respeito, principalmente, à atividade de animais que, atraídos pelos resíduos, podem vir a desempenhar o papel de veiculadores ou de reservatórios de infecção para o homem e os animais domésticos.

Os principais vetores de importância epidemiológica, associados ao lixo estão apresentados na Figura 3.1.

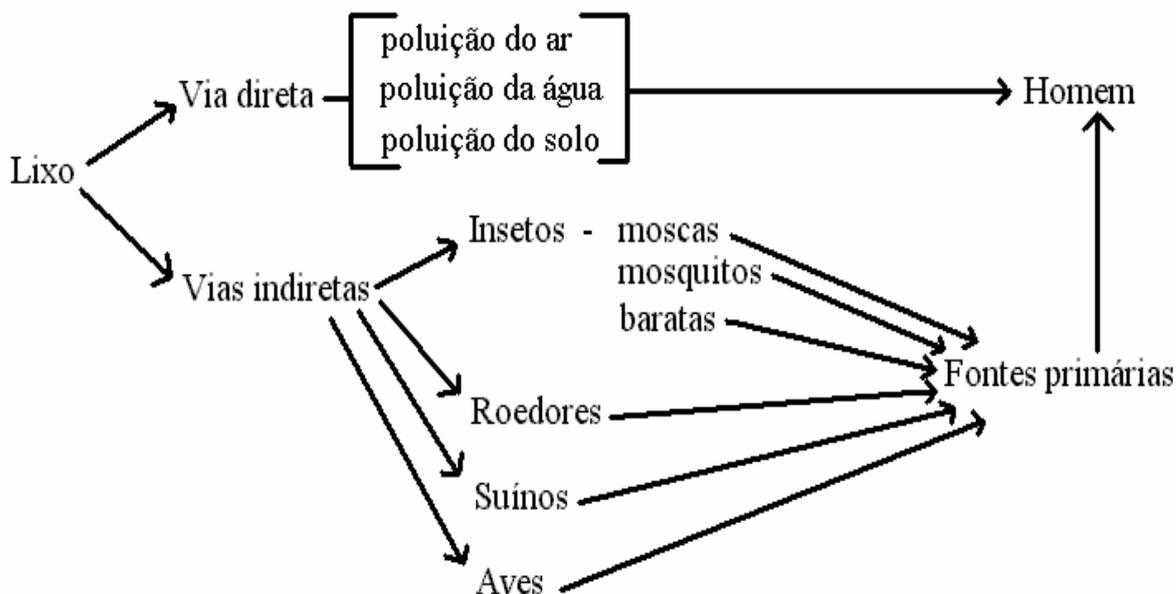


FIGURA 3.1: Vias de acesso de agentes patogênicos para o homem, propiciadas pelo lixo.

Fonte: ROCHA, 1982

Segundo SISINNO (2000), muitos são os vetores responsáveis pela transmissão de doenças ao homem e, dentre os mais importantes destacam-se os roedores e os insetos. Isto deve-se à alta capacidade de adaptação, reprodução rápida e diversificado hábito alimentar destes animais. As principais espécies de insetos e roedores de interesse sanitário são a *Musca doméstica* (mosca doméstica); *Periplaneta americana*, *Periplaneta australasiae* e *Blatella germanica* (baratas); *Rattus rattus* (rato preto, rato de telhado), *Rattus norvegicus* (ratazana, rato de esgoto) e *Mus musculus* (camundongo). As principais doenças causadas pelos vetores e a forma de transmissão encontram-se listadas na Tabela 3.1.

**Tabela 3.1: Doenças transmitidas pelos principais vetores que vivem nos resíduos**

Vetores	Doenças transmitidas	Modo de transmissão
Moscas e baratas	amebíase, giardíase	Água e alimentos contaminados
	Febre tifóide e disenteria	
Mosquito <i>Aedes aegypti</i>	Febre amarela e dengue	Picada do mosquito
Mosquito do gênero <i>Culex</i>	Filariose	Picada do mosquito
Mosquito do gênero <i>Anopheles</i>	Malária	Picada do mosquito
Pulga	Peste bubônica e tifo murino	Picada da pulga
Rato	Peste bubônica	Pulgas infectadas
	Tifo murino	Fezes de pulgas infectadas
	Leptospirose	Urina de rato, solo ou água contaminados

Fonte: SISINNO, 2000

Ressalta-se que, além das doenças causadas pelos vetores já citados, as aves (urubus e pombos) também destacam-se como responsáveis pela transmissão da toxoplasmose e os suínos pela transmissão da triquinose e cisticercose, pois normalmente são vistos revirando lixões em busca de alimento. Ademais, os resíduos domiciliares e os restos alimentares, em alguns municípios, são destinados para alimentação de suínos, principalmente em propriedades particulares (MOTA, 1999; SCHNEIDER *et al*, 2001). Portanto, a prática de alimentá-los com resíduos ou restos alimentares é inadequada, tendo em vista que estes animais podem se tornar hospedeiros intermediários da triquinose e cisticercose, as quais poderão ser transmitidas ao homem através da ingestão de carne infectada.

Para CATAPRETA & HELLER (2002), a maioria da bibliografia disponível referente ao efeito causado ao homem devido à disposição inadequada dos resíduos tem dedicado pouca atenção aos impactos na saúde, além disso, a escassez dos registros de ocorrências contribui para a dificuldade em se fazer uma relação direta entre resíduos sólidos e a saúde (RUTALA & MAYHALL, 1992). Porém, alguns estudos realizados no Brasil têm apontado para uma possível associação entre o manejo inadequado dos resíduos e o aumento de eventos mórbidos, mais especificamente diarreias e parasitoses (REGO *et al*, 2002).

Segundo FERREIRA & ANJOS (2001), os efeitos adversos dos resíduos sólidos urbanos ao meio ambiente e à saúde dos indivíduos apontam a deficiência nos sistemas de acondicionamento, coleta e disposição final como o principal fator gerador desses efeitos.

TCHOBANOGLIOUS *et al* (1993) consideraram evidente a relação entre saúde pública e as operações de acondicionamento, coleta, tratamento e disposição final.

A pesquisa sobre epidemiologia dos resíduos realizada por CATAPRETA & HELLER (2002), destacou a melhora do nível operacional do aterro como uma importante ação no sentido de assegurar e reduzir o máximo possível da emissão de gases e a proliferação de vetores.

Como abordado pelos diversos autores, os resíduos sólidos são elementos que devem ser avaliados nos aspectos relacionados à saúde pública. Assim, o controle dos insetos e animais transmissores das doenças mencionadas está diretamente associado à higiene do ambiente, destacando-se o gerenciamento integrado dos resíduos. Ressalta-se que para este gerenciamento existem legislações e normas regulamentadoras, as quais devem ser seguidas.

### **3.1.3 Aspectos normalizadores e legais referentes aos RSU e RSS**

Quanto aos aspectos legais, discorrem basicamente normas e resoluções sobre a classificação, o gerenciamento, o tratamento e a destinação final dos resíduos sólidos urbanos e dos resíduos de serviços de saúde.

Com relação aos aspectos normalizadores, interessam as seguintes normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT: NBR 10004/87 (Resíduos Sólidos - classificação), NBR 10005/87 (Lixiviação de Resíduos - procedimento), NBR 10006/87 (Solubilização de Resíduos - procedimento) e NBR 10007/87 (Amostragem de Resíduos - procedimento).

As normas da série 12000 da ABNT são mais específicas para os resíduos de serviços de saúde. A NBR 12807/93 - Terminologia, estabelece que resíduos de serviços de saúde (RSS) são aqueles resultantes de atividades exercidas por estabelecimento que execute atividades de natureza médico-assistencial humana ou animal (hospitais, postos de saúde, clínicas médicas e veterinárias, farmácias, laboratórios, entre outros). Os RSS são divididos em Classe A - infectantes, Classe B - especiais e em Classe C - comuns, com suas respectivas subdivisões (NBR 12808/93). Nesta norma, resíduo infectante é definido como aquele resíduo de serviço de saúde que, por suas características de maior virulência, infectividade e concentração de patógenos, apresenta risco potencial adicional à saúde pública.

Complementando as Normas da ABNT, foram publicadas as Resoluções do CONAMA que são mais restritas para os RSS. A Resolução n. 05/93 dispõe sobre o tratamento e a destinação final dos resíduos de serviços de saúde, portos, aeroportos, bem como a necessidade de estender tais exigências aos terminais ferroviários e rodoviários.

Posteriormente, foi publicada a Resolução CONAMA n.283/01, que dispõe sobre o tratamento e a destinação final dos resíduos de serviços de saúde. Esta resolução visa aprimorar, atualizar e complementar os procedimentos contidos na Resolução n.05/93 e estender as exigências às demais atividades que geram resíduos de serviços de saúde, tais como necrotérios, funerárias e serviços de medicina legal, entre outros. Para fins de disposição final, esta Resolução exige que os resíduos do Grupo A - infectantes devem ser submetidos a processos de tratamento específicos de maneira a torná-los resíduos comuns, do Grupo D. Quando não for possível tratar os resíduos do Grupo A ou quando o tratamento não garantir as características de resíduos comuns (Grupo D), o órgão ambiental competente poderá definir formas alternativas de destinação final em aterros devidamente licenciados, além de fazerem outras exigências.

Devido à falta de recursos financeiros da maioria das regiões brasileiras e às condições precárias do sistema de saúde pública de nosso país, as restrições da Resolução CONAMA n.283/01 elevam os custos do gerenciamento dos RSS para o estabelecimento de saúde, bem como para a implantação e operação dos aterros, quando estes são licenciados para receber tais resíduos sem tratamento.

No dia 05 de março de 2003, foi publicada no Diário Oficial da União a Resolução RDC n. 33/03 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que aprova o Regulamento Técnico para o Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde.

### **3.1.3.1 Classificação dos resíduos de serviços de saúde**

Quanto à classificação dos resíduos de serviços de saúde, conforme CUSSIOL et al (2003), não há consenso entre o órgão nacional de normalização e os de legalização. Enquanto a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), pela sua norma NBR 12808/93, classifica os resíduos em três grupos, as Resoluções 5/93 e 283/01, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), classificam em quatro grupos, com divisões diferentes daquelas estabelecidas pela ABNT. Há ainda a classificação segundo o Regulamento Técnico para Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Resolução RDC n.33/03).

A seguir, são apresentadas as classificações segundo a ABNT, o CONAMA e a ANVISA, que estão atualmente em vigor.

#### **Classificação da ABNT - NBR 12808/93**

##### **Classe A - Resíduos Infectantes**

É todo aquele que por sua característica de maior virulência, infectividade e concentração de patógenos apresenta risco potencial adicional à saúde pública. Esses resíduos são subdivididos nos seguintes tipos:

A1 - Biológico: cultura, inóculo, mistura de microrganismos e meio de cultura inoculado proveniente de laboratório clínico ou de pesquisa, vacina vencida ou inutilizada, filtro de gases aspirados de áreas contaminadas por agentes infectantes e qualquer resíduo contaminado por estes materiais.

A2 - Sangue e hemoderivados: bolsa de sangue após transfusão, com prazo de validade vencido ou sorologia positiva, amostra de sangue para análise, soro, plasma e outros subprodutos.

A3 - Cirúrgico, anatomopatológico e exsudato: tecido, órgão, feto, peça anatômica, sangue e outros líquidos orgânicos resultantes de cirurgia, necropsia e resíduos contaminados por estes materiais.

A4 - Perfurante ou cortante: agulha, ampola, pipeta, lâmina de bisturi e vidro.

A5 - Animal contaminado: carcaça ou parte de animal inoculado exposto aos microrganismos patogênicos ou portador de doença infectocontagiosa, bem como resíduos que tenham estado em contato com este.

A6 - Assistência ao paciente: secreções, excreções e demais líquidos orgânicos procedentes de pacientes, resíduos contaminados por estes materiais, inclusive restos de refeições.

É obrigatória a autoclavagem dos resíduos A1 e A2, antes do descarte.

### **Classe B - Resíduo Especial**

É aquele que, devido ao potencial de risco associado à sua natureza química, requer cuidados especiais de manuseio e tratamento. Pode ser do seguinte tipo:

B1 - Rejeito radioativo: material radioativo ou contaminado com radionuclídeos proveniente de laboratório de análises clínicas, serviços de medicina nuclear e radioterapia, conforme Resolução CNEN-NE-6.05.

B2 - Resíduo farmacêutico: medicamento vencido, contaminado, interditado ou não utilizado.

B3 - Resíduo químico perigoso: resíduo tóxico, corrosivo, inflamável, explosivo, reativo, genotóxico ou mutagênico, conforme norma NBR 10004/87 da ABNT.

### **Classe C - Resíduo Comum**

São todos aqueles que não se enquadram nos tipos A e B e que, por sua semelhança aos resíduos domésticos, não oferecem risco adicional à saúde pública. Por exemplo, os resíduos da atividade administrativa, dos serviços de varrição e limpeza de jardins e restos alimentares que não entraram em contato com pacientes.

Quanto aos resíduos de serviços de saúde, segundo a NBR 10004/87 são classificados como perigosos devido às características de patogenicidade. Além das normas específicas referentes à classificação dos resíduos sólidos e resíduos de serviços de saúde, existem outras normas da ABNT de interesse, as quais deverão ser consultadas. Tais normas encontram-se listadas a seguir.

NBR 12807/93 - Resíduos de serviços de saúde - Terminologia.

NBR 12808/93 - Resíduos de serviços de saúde - Classificação.

NBR 12809/93 - Manejo de resíduos de serviços de saúde - Procedimento.

NBR 12810/93 - Coleta de resíduos de serviços de saúde - Procedimento.

NBR 13463/95 - Coleta de resíduos sólidos - Classificação.

NBR 13853/97 - Coletores para resíduos de serviços de saúde perfurantes ou cortantes - Requisitos e métodos de ensaio.

NBR 9259/97 - Agulha hipodérmica estéril e de uso único.

NBR 9191/02 - Sacos plásticos para acondicionamento de lixo - Requisitos e métodos de ensaio.

NBR 7500/03 - Identificação para o transporte terrestre, manuseio, movimentação e armazenamento de produtos.

NBR 12235/92 - Armazenamento de resíduos sólidos perigosos.

NBR 14725/01 - Ficha de informação de segurança de produtos químicos - FISPQ.

As normas NBR 12807/93, 12808/93, 12809/93, 12810/93 e 10004/87 encontram-se em processo de revisão.

### **Classificação do CONAMA - Resolução n. 283/01**

#### **Grupo A - Resíduos Biológicos**

São aqueles resíduos que apresentam risco potencial à saúde pública e ao meio ambiente, devido à presença de agentes biológicos.

Enquadram-se neste grupo, dentre outros: sangue e hemoderivados; animais usados em experimentação, bem como os materiais que tenham entrado em contato com os mesmos; excreções, secreções e líquidos orgânicos; meios de cultura; tecidos, órgãos, fetos e peças

anatômicas; filtros de gases aspirados de área contaminada; resíduos advindos de área de isolamento; restos alimentares de unidade de isolamento; resíduos de laboratórios de análises clínicas; resíduos de unidades de atendimento ambulatorial; resíduos de sanitários de unidade de internação e de enfermaria e animais mortos a bordo dos meios de transporte.

Neste grupo incluem-se os objetos perfurocortantes tais como lâminas de barbear, bisturi, agulhas, escalpes e vidros quebrados, dentre outros materiais provenientes de estabelecimentos prestadores de serviços de saúde.

### **Grupo B - Resíduos Químicos**

Resíduos que, devido às suas características químicas, apresentam risco potencial à saúde pública e ao meio ambiente. Enquadram-se neste grupo, dentre outros:

- drogas quimioterápicas e produtos por elas contaminados;
- resíduos farmacêuticos (medicamentos vencidos, contaminados, interditados ou não utilizados);
- demais produtos considerados perigosos, conforme classificação da NBR 10004 da ABNT (produtos tóxicos, corrosivos, inflamáveis e reativos).

### **Grupo C - Rejeitos Radioativos**

Enquadram-se neste grupo, os materiais radioativos ou contaminados com radionuclídeos provenientes de laboratórios de análises clínicas, serviços de medicina nuclear e radioterapia, segundo Resolução CNEN-NE-6.05.

### **Grupo D - Resíduos Comuns**

São todos os demais que não se enquadram nos grupos descritos anteriormente.

### **Classificação da ANVISA - Resolução RDC 33/03**

#### **Grupo A - Potencialmente Infectantes**

Resíduos com a possível presença de agentes biológicos que, por suas características de maior virulência ou concentração, podem apresentar risco de infecção. Esses resíduos são subdivididos nos seguintes tipos:

A1 - Culturas e estoques de agentes infecciosos de laboratórios industriais e de pesquisa; resíduos de fabricação de produtos biológicos, exceto os hemoderivados; descarte de vacinas de microrganismos vivos ou atenuados; meios de cultura e instrumentais utilizados para transferência, inoculação ou mistura de culturas; resíduos de laboratórios de engenharia genética.

A2 - Bolsas contendo sangue ou hemocomponentes com volume residual superior a 50mL.

A3 - Peças anatômicas (tecidos, membros e órgãos) do ser humano, que não tenham mais valor científico ou legal e/ou quando não houver requisição prévia pelo paciente ou seus familiares; produto de fecundação sem sinais vitais, com peso menor que 500g ou estatura menor que 25cm ou idade gestacional menor que 20 semanas, que não tenham mais valor científico ou legal e/ou quando não houver requisição prévia pela família.

A4 - Carcaças, peças anatômicas e vísceras de animais provenientes de estabelecimentos de tratamento de saúde animal, de universidade, de centros de experimentação, de outros similares, assim como camas desses animais e suas forrações.

A5 - Todos os resíduos provenientes de paciente que contenham ou sejam suspeitos de conter agentes classe de risco IV, que apresentem relevância epidemiológica e risco de disseminação (Anexo 1).

A6 - *kits* de linhas arteriais endovenosas e dialisadores, quando descartados. Filtros de ar e gases oriundos de áreas críticas, conforme Resolução RDC 50/02, da ANVISA.

A7 - Órgãos, tecidos e fluidos orgânicos com suspeita de contaminação com príons e resíduos sólidos resultantes da atenção à saúde de indivíduos ou animais com suspeita de contaminação com príons (materiais e instrumentais descartáveis, indumentária que tiveram contato com os agentes acima identificados). O cadáver com suspeita de contaminação por príons não é considerado resíduo.

### **Grupo B - Químicos**

Resíduos contendo substâncias químicas que apresentam risco à saúde pública ou ao meio ambiente, independentemente de suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade.

Enquadram-se neste grupo:

B1 - Os resíduos dos medicamentos ou dos insumos farmacêuticos quando vencidos, contaminados, apreendidos para descarte, ou parcialmente utilizados e demais medicamentos impróprios para consumo, que oferecem risco. Incluem-se nesse grupo:

- produtos hormonais de uso sistêmico;
- produtos hormonais de uso tópico, quando descartados por serviços de saúde, farmácias, drogarias e distribuidores de medicamentos;
- produtos antibacterianos de uso sistêmico;
- produtos antibacterianos de uso tópico, quando descartados por serviços de saúde, farmácias, drogarias e distribuidores de medicamentos;
- medicamentos citostáticos;
- medicamentos antineoplásicos;
- medicamentos imunossupressores;
- medicamentos imunomoduladores;
- medicamentos anti-retrovirais.

B2 - Os resíduos dos medicamentos ou dos insumos farmacêuticos quando vencidos, contaminados, apreendidos para descarte ou parcialmente utilizados, e demais medicamentos impróprios para consumo, que, em função de seu princípio ativo e forma farmacêutica, não oferecem risco. Incluem-se nesse grupo todos os medicamentos não classificados no Grupo B1 e os antibacterianos e hormônios para uso tópico, quando descartados individualmente pelo usuário domiciliar.

B3 - Os resíduos e insumos farmacêuticos dos medicamentos controlados pela Portaria MS 344/98 e suas atualizações.

B4 - Saneantes e desinfetantes.

B5 - Substâncias para revelação de filmes usados em raios X.

B6 - Resíduos contendo metais pesados.

B7 - Reagentes para laboratório, isolados ou em conjunto.

B8 - Outros resíduos contaminados com substâncias químicas perigosas.

### **Grupo C - Rejeitos Radioativos**

São considerados rejeitos radioativos quaisquer materiais resultantes de atividades humanas que contenham radionuclídeos em quantidades superiores aos limites de isenção especificados na norma CNEN-NE-6.02 - “Licenciamento de Instalação Radioativas” - e para os quais a reutilização é imprópria ou não prevista.

As fontes seladas não podem ser descartadas, devendo a sua destinação final seguir orientações específicas da Comissão Nacional de Energia Nuclear - CNEN.

### **Grupo D - Resíduos Comuns**

São todos os resíduos gerados nos serviços abrangidos na resolução que, por suas características, não necessitam de processos diferenciados relacionados ao acondicionamento, identificação e tratamento, devendo ser considerados resíduos sólidos urbanos - RSU.

Enquadram-se nesse grupo:

- espécimes de laboratório de análises clínicas e patologia clínica, quando não enquadrados nas classificações A5 e A7;
- gesso, luvas, esparadrapo, algodão, gazes, compressas, equipo de soro e outros similares, que tenham tido contato ou não com sangue, tecidos ou fluidos orgânicos, com exceção dos enquadrados nas classificações A5 e A7;
- bolsas transfundidas vazias ou contendo menos de 50 mL de produto residual (sangue ou hemocomponentes);
- sobras de alimentos não enquadrados nas classificações A5 e A7;
- papéis de uso sanitário e fraldas, não enquadrados nas classificações A5 e A7;

- resíduos provenientes das áreas administrativas dos estabelecimentos de assistência à saúde;
- resíduos de varrição, flores, podas e jardins;
- materiais passíveis de reciclagem;
- embalagens em geral;
- cadáveres de animais, assim como camas desses animais e suas forrações.

Obs: Os cadáveres de animais errantes ou domésticos, não são considerados RSS. A destinação final destes deve ser feita de acordo com as normas municipais ou do Distrito Federal.

### **Grupo E - Perfurocortantes**

São os objetos e instrumentos que contêm cantos, bordas, pontos ou protuberâncias rígidas e agudas capazes de cortar ou perfurar.

Enquadram-se nesse grupo:

- lâminas de barbear, bisturis, agulhas, escalpes, ampolas de vidro, lâminas e outros assemelhados provenientes de serviços de saúde;
- bolsas de coleta incompleta, descartadas no local da coleta, quando acompanhadas de agulha, independentemente do volume coletado.

Ainda que os aspectos legais referentes aos RSS tenham gerado polêmica, a responsabilidade de gerenciá-los é do estabelecimento gerador, o qual deve atender os requisitos legais. Em relação ao exercício de fiscalização dos RSS e das condições dos lixões e aterros sanitários cabe aos poderes estaduais e municipais.

#### **3.1.3.2 Classificação dos resíduos sólidos urbanos**

De modo geral, segundo BARROS (1996) e Instituto de Pesquisas Tecnológicas/IPT (2000), os resíduos sólidos urbanos são classificados quanto à sua origem em: domiciliar, comercial, público, serviços de saúde, portos e aeroportos, terminais rodoviários e ferroviários, industrial, agrícola, de serviços de varrição e da construção civil. Além dessas classificações, a norma da ABNT, NBR 10004/87 classifica os resíduos sólidos urbanos em Classe I -

perigosos, Classe II - não inertes e Classe III - inertes, conforme suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade, toxicidade e patogenicidade.

Embora os RSU tenham várias classificações, estas não têm gerado tanta polêmica quanto a classificação dos RSS e, por este motivo, não foi dada ênfase à sua classificação.

### **3.2 Considerações sobre líquido lixiviado**

Apesar de uma pequena parcela dos resíduos serem dispostos adequadamente em aterro sanitário, seus subprodutos, gases e líquidos lixiviados gerados pelo processo de degradação dos resíduos, ainda representam problema ambiental, se não tratados convenientemente. Sendo assim, será realizada uma abordagem sobre definição, formação, característica do líquido lixiviado e aspectos normalizadores e legais sobre o lançamento do líquido lixiviado, pois o mesmo constitui-se no objetivo principal desta pesquisa.

#### **3.2.1 Definição de líquido lixiviado**

Conforme definição de ROCHA (1982), a atividade enzimática de degradação do material orgânico biodegradável leva à formação de um líquido conhecido como sumeiro que, ao infiltrar-se no solo, é percolado, recebendo também o nome de chorume.

Segundo a NBR 8419/84 da ABNT, o chorume é definido como líquido formado pela decomposição de substâncias contidas nos resíduos sólidos, que tem como características cor escura, mau cheiro e elevada Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO).

Enquanto TORRES *et al* (1997) definiram chorume como sendo uma água residuária industrial que, pelo fato de conter, às vezes, níveis altos de metais e outros compostos, precisa de estudos para determinar a melhor alternativa de tratamento, o IPT (2000) define o chorume como um líquido escuro, turvo e malcheiroso proveniente do armazenamento e tratamento do lixo, também conhecido como sumeiro, chumeiro, lixiviado e percolado.

LIBÂNIO (2002) concluiu que o termo “lixiviado” pode ser aplicado a uma infinidade de líquidos sob diversas condições - águas pluviais em escoamento superficial sobre solos sem cobertura vegetal, água de infiltração em aterros industriais e outros.

Ainda, segundo LIBÂNIO (2002), as terminologias “percolação” e “percolado” dão a idéia de transferência de poluentes da fase líquida para a fase sólida, com a retenção de poluentes no

leito percolador, enquanto que “lixiviação” implica o fenômeno de solubilização de substâncias da fase sólida para líquida. Assim sendo, optou-se pela utilização da terminologia “líquido lixiviado” de aterro sanitário nesta pesquisa.

No entanto, a geração do líquido lixiviado em um aterro sanitário não acontece imediatamente após a disposição do resíduo. Seu surgimento ocorre após um dado período do início do aterramento dos resíduos e depende de vários fatores.

Para QASIM & CHIANG (1994), a geração do líquido lixiviado é influenciada pelos seguintes fatores:

- climatológicos e correlatos: regime de chuvas e precipitação pluviométrica anual, escoamento superficial, infiltração, evapotranspiração e temperatura;
- relativos aos resíduos: composição, densidade e teor de umidade inicial;
- relativos ao tipo de disposição e operação do aterro: características da permeabilidade, idade e profundidade do aterro, conformação e cobertura das células, grau de compactação.

### **3.2.2 Composição e características dos líquidos lixiviados**

A composição e características do líquido lixiviado estão diretamente associadas ao tipo de resíduo sólido aterrado e à fase na qual se encontra o processo de decomposição dos resíduos.

Conforme descrito pelo IPT (2000), a decomposição dos resíduos sólidos urbanos aterrados ocorre, em sua maioria, pelo processo anaeróbio sendo subdividida em três fases: fase aeróbia, acetogênica e metanogênica.

A fase aeróbia possui duração média de um mês e ocorre com grande liberação de calor e elevação da temperatura. O líquido lixiviado produzido nesta fase contém elevada concentração de sais de alta solubilidade, como por exemplo, o cloreto de sódio.

Na fase acetogênica são produzidos os compostos orgânicos simples e de alta solubilidade, (ácidos graxos voláteis) e nitrogênio amoniacal, provocando o abaixamento do pH para valores entre 4 e 6. Como consequência, o caráter ácido acelera a solubilização dos inorgânicos. Os valores baixos de pH favorecem o aparecimento de maus odores, com a liberação de gás sulfídrico ( $H_2S$ ) e amônia ( $NH_3$ ), de acordo com LIMA (2002). Portanto, durante esta fase, o líquido lixiviado apresenta alta DBO, concentração de ácidos voláteis, nitrogênio amoniacal e metais pesados.

Por fim, na fase metanogênica os compostos orgânicos são consumidos pelas bactérias arqueometanogênicas, dando origem ao metano (CH<sub>4</sub>) e gás carbônico (CO<sub>2</sub>) e o pH aumenta para valores entre 6,6 e 7,3. Além disso, é a fase mais sensível da anaerobiose, qualquer desequilíbrio no sistema afetará o processo de decomposição.

Como visto, as reações bioquímicas que ocorrem durante as fases de degradação tornam as substâncias químicas mais suscetíveis ao arraste pelo líquido lixiviado. Por conseguinte, o líquido lixiviado sofrerá variações no decorrer desse processo, ou seja, durante cada fase da decomposição e, conforme a idade do aterro, terá características diferenciadas. No entanto, na realidade de um aterro essas fases não são tão distintas, pois há sempre o aterramento de resíduos novos, causando uma grande variabilidade na idade do material disposto.

### **3.2.3 Aspectos físico-químicos dos líquidos lixiviados**

#### **3.2.3.1 Parâmetros físicos**

- Temperatura

A temperatura influencia os processos biológicos, reações químicas e bioquímicas que ocorrem na água e também outros processos como a solubilidade dos gases dissolvidos. A solubilidade dos gases decresce e a dos sais minerais cresce com o aumento da temperatura da água (MACEDO, 2002). Da mesma forma, a solubilidade dos gases e sais minerais do líquido lixiviado também será influenciada pela variação da temperatura.

A temperatura tem grande influência no crescimento dos microrganismos, uma vez que todos os processos de crescimento são dependentes de reações químicas, que são afetadas pela temperatura. Alguns microrganismos podem crescer em uma faixa muito maior de temperatura. Entretanto, esta variação pode ser maior para alguns microrganismos que para outros. Para qualquer microrganismo, as três temperaturas importantes são: temperatura de crescimento mínima, ótima e máxima.

Sendo assim, a temperatura também influencia o desenvolvimento da microbiota do líquido lixiviado, pois cada microrganismo possui uma temperatura ótima de crescimento. Dentre a microbiota do líquido lixiviado, destacam-se as bactérias acetogênicas e arqueometanogênicas, cuja temperatura ótima de crescimento é de 45°C.

Para BIDONE (2001), a maioria dos microrganismos é mesófila e a temperatura de crescimento varia de 25° a 45°C. Entre estes estão os microrganismos saprófitos e os patogênicos para homens e animais.

- Condutividade

A condutividade elétrica é determinada pela presença de substâncias dissolvidas que se dissociam em ânions e cátions, ou seja, a capacidade de uma substância em transmitir corrente elétrica (MACEDO, 2002). Portanto, caracteriza a capacidade do líquido lixiviado de conduzir corrente elétrica. Segundo SOUZA (2003), a condutividade decai ao longo do tempo, em um aterro sanitário.

### **3.2.3.2 Parâmetros químicos**

- pH

Como qualquer reação enzimática, o processo anaeróbio é fortemente afetado pelo pH, que é um dos principais fatores ambientais interferentes no processo e, conseqüentemente, vai refletir no predomínio da microbiota do líquido lixiviado.

Para SOUZA (2003), o pH do percolado é uma das mais importantes variáveis no controle de um aterro sanitário, pois através dele é possível identificar a fase de degradação na qual o líquido lixiviado se encontra.

Segundo CLARETO (1997), a variação do pH no chorume pode ser de 3,5 a 9,0. Em caracterização do líquido lixiviado do aterro sanitário de Bauru/SP, SEGATO e SILVA (2002) encontraram valores elevados, acima de 7,0.

Além disso, o pH dos líquidos lixiviados varia no decorrer das fases de decomposição, o que terá implicações específicas na solubilização e precipitação de determinados poluentes e na determinação do predomínio de espécies microbianas. Segundo BIDONE (2001), o pH do meio varia de 6,5 a 7,0 e é favorável ao desenvolvimento das arqueometanogênicas.

- Demanda Bioquímica de Oxigênio - DBO

Para SPERLING (1996), a DBO retrata a quantidade de oxigênio requerida para estabilizar, por meio de processos bioquímicos, a matéria orgânica carbonácea. Relaciona-se a uma oxidação bioquímica da matéria orgânica realizada inteiramente por microrganismos.

- Demanda Química de Oxigênio – DQO

Segundo MACEDO (2002), a DQO avalia a quantidade de OD (mg/L) durante a oxidação química da matéria orgânica. O valor obtido é, portanto, uma indicação indireta do teor de matéria orgânica presente, sendo útil para detectar a presença de substâncias resistentes à degradação biológica.

Do ponto de vista de qualidade, tanto a DBO como a DQO são fatores importantes a serem avaliados no líquido lixiviado, não somente por indicarem a condição aeróbia ou anaeróbia desse líquido, mas devido às exigências legais dos padrões de lançamento para estes parâmetros.

- Potencial de oxidação-redução - Eh

O potencial de oxidação-redução, potencial redox ou simplesmente Eh, é definido como a tendência de um meio em aceitar ou ceder elétrons. A oxidação caracteriza-se pela perda de elétrons e a redução pelo ganho de elétrons. Este processo é simultâneo, ou seja, quando uma substância libera elétrons (oxida) outra recebe elétrons (reduz).

Segundo PHOLAND & HARPER (1985), o potencial redox se reduz aos menores valores na fase metanogênica, em um aterro sanitário.

### **3.2.4 Aspectos normalizadores e legais sobre o lançamento de líquidos lixiviados**

Em relação aos líquidos lixiviados oriundos de aterro sanitário, há uma exigência por parte dos órgãos ambientais quanto ao tratamento e lançamento, mas ainda não foi consolidada uma legislação específica referente aos padrões de lançamento de líquidos lixiviados, que possa respaldar as administrações públicas responsáveis por esta questão.

Especificamente no Estado de Minas Gerais, para o lançamento de líquidos lixiviados de aterros sanitários, geralmente são obedecidos os padrões estabelecidos para o lançamento de efluentes nos corpos receptores. Seguem-se as limitações da Deliberação Normativa nº.10/86 (DN), do Conselho Estadual de Política Ambiental (COPAM). Esta deliberação estabelece normas e padrões para a qualidade das águas e lançamento de efluentes nas coleções de águas, além de outras providências. Portanto, no caso de lançamento do líquido lixiviado em um corpo d'água, deve-se respeitar os padrões de lançamento do corpo receptor, bem como os padrões de qualidade da água do mesmo.

Ainda referente ao lançamento de líquidos lixiviados, a Deliberação Normativa COPAM n.46/01 alterou o limite de eficiência de remoção em termos de DBO e DQO, admitindo um limite máximo de 60 e 90mg/L, respectivamente, ou então uma redução mínima da carga poluidora em 60%, desde que a qualidade da água do corpo receptor permaneça compatível com a sua classe de enquadramento. Entretanto, DBO e DQO não foram pesquisadas neste estudo.

Para lançamento dos líquidos lixiviados na rede de esgoto, devem ser atendidas as limitações da Norma Técnica T.187/00 da Companhia de Saneamento de Minas Gerais (COPASA), que estabelece condições e critérios para o lançamento de efluentes líquidos de indústria na rede pública coletora de esgotos.

Nas tabelas A.26 e A.27 do anexo são apresentados os limites dos padrões de lançamento no corpo receptor e na rede coletora de esgoto, para os parâmetros microbiológicos indicadores de contaminação e físico-químicos pesquisados no líquido lixiviado do aterro sanitário de Belo Horizonte, conforme DN COPAM n.10/86 e Norma Técnica COPASA T.187/00. Ressalta-se que o líquido lixiviado do aterro sanitário de Belo Horizonte, é lançado na rede de esgoto da Copasa.

Quanto aos parâmetros físico-químicos e microbiológicos pesquisados, a DN COPAM n.10/86, somente referencia o pH (6,0 - 9,0) e temperatura (<40°C), os coliformes totais (ausentes, 1000/100mL - 20000/100mL) e fecais (ausentes, 200/100mL - 4000 /100mL), cujos limites máximos de lançamento dependem do enquadramento do corpo receptor.

A Norma Técnica COPASA T.187/00 não faz nenhuma exigência quanto aos parâmetros microbiológicos, somente para os físicos-químicos, pH (6,0 - 10,0) e temperatura (<40°C).

### **3.3 Comissão de controle de infecção hospitalar - CCIH**

O problema das infecções hospitalares tem sido objeto de preocupação e estudo, desde o final dos anos sessenta. Assim, o Ministério da Saúde, considerando que as infecções hospitalares constituem risco significativo à saúde dos usuários dos hospitais, e que sua prevenção e controle envolvem medidas de qualificação da assistência hospitalar, de vigilância sanitária, dentre outras, publicou a Portaria 2616 em 12/05/98, que consta de instruções para o controle e prevenção das infecções hospitalares.

Com a publicação da Portaria 2616/98 foi revogada a Portaria 930 de 27/08/92, também do Ministério da Saúde. Segundo exigências da Portaria 2616/98, todos os hospitais do país, independente da natureza da entidade mantenedora, deverão ter Comissão de Controle de Infecção Hospitalar. Além das comissões, deverão também constituir Serviços de Controle de Infecção Hospitalar, compreendendo, pelo menos um médico e uma enfermeira para cada 200 leitos.

A comissão de controle de infecção hospitalar é constituída por grupo interdisciplinar de profissionais da área de saúde, de nível superior (área médica, enfermagem, farmácia, laboratório e administração) formalmente designado para planejar, elaborar, implementar, manter e avaliar o Programa de Prevenção e Controle de Infecção Hospitalar (PPCIH), adequado às características e necessidades da Unidade Hospitalar. O PPCIH é o conjunto de ações desenvolvidas deliberada e sistematicamente, para a máxima redução possível da incidência e da gravidade das infecções hospitalares.

Segundo MARTINS (2001), uma das ações básicas e mais importantes da CCIH é a ação educativa, com ênfase na conscientização da comunidade hospitalar quanto à importância da prevenção e controle de infecções. Para isso, a CCIH deve promover cursos de treinamento para os profissionais de diversos níveis e setores do hospital e divulgar dados da literatura e, principalmente da própria instituição que confirmem a necessidade do controle de infecção.

Portanto, a Portaria 2616/98 reafirmou a importância da CCIH, bem como a implementação do PPCIH, dado ao aumento crescente das infecções hospitalares. O cumprimento desta portaria, em parte, relete na qualidade da assistência hospitalar, uma vez que a principal função da CCIH é o planejamento, elaboração, implementação, avaliação e adequação das medidas preventivas e de controle das infecções hospitalares.

### **3.4 Aspectos Microbiológicos**

Neste item serão abordados alguns princípios de microbiologia importantes para o melhor entendimento da pesquisa, uma vez que a mesma está diretamente relacionada com a microbiologia dos líquidos lixiviados de aterros sanitários. Serão descritos, por partes, focando principalmente o grupo de microrganismos objeto desta pesquisa. Primeiramente, abordar-se-á a microbiota do corpo humano e, sequencialmente, os microrganismos patogênicos de interesse da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) e os indicadores de contaminação ambiental.

### 3.4.1 Microbiota normal do corpo humano

Segundo COUTO *et al* (1999), os vários microrganismos encontrados no corpo humano em qualquer sítio anatômico são denominados microbiota normal. Algumas bactérias são encontradas regularmente em locais anatômicos particulares, outras estão presentes só ocasionalmente ou somente em alguns momentos da vida do hospedeiro. A microbiota normal diferencia-se entre as várias espécies e é influenciada pelos fatores como idade, sexo, dieta alimentar e temperatura. Na Tabela 3.2. e na Tabela 3.3 são mostradas a microbiota normal humana e a distribuição de algumas bactérias viáveis tanto nos animais como no homem.

**Tabela 3.2: Microbiota Normal do Corpo Humano**

Local do corpo	Microrganismos
Pele	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus sp</i> , difteróides ( <i>Corynebacterium sp.</i> ), <i>Propionibacterium</i> , <i>Bacillus sp</i> , Fungos do gênero <i>Pityrosporum</i> .
Orofaringe	Estreptococos anaeróbios, Estreptococos aeróbios, Epiroquetas anaeróbias, <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Neisseria</i> não patogênica, Fungos do gênero <i>Candida sp</i> .
Cólon	Cocos anaeróbios Gram-positivos ( <i>Peptococcus e Peptostreptococcus</i> ), Bastonetes anaeróbios gram-positivos ( <i>Clostridium</i> , todas as espécies), <i>Lactobacillus</i> , <i>Enterococcus sp</i> .
Vagina	Anaeróbios Gram-negativos ( <i>Bacteroides</i> , <i>Veillonella</i> ), Estreptococos anaeróbios ( <i>Peptostreptococcus</i> ), Estreptococos aeróbios dos grupos B e D, <i>Lactobacillus</i> (bacilo de Döderlein), <i>Staphylococcus epidermidis</i> , Leveduras (transitórias)
Olhos	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Haemophilus sp</i> (0,4 a 25%), <i>Streptococcus sp</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , Difteróides, <i>Staphylococcus aureus</i> (30%).
Nariz	Difteróides, <i>Staphylococcus epidermidis</i> , Estreptococos não do grupo A, <i>Staphylococcus aureus</i> (20% a 80% adulto), <i>Haemophilus sp</i> .

Fonte: MARTINS, 2001

**Tabela 3.3: Número de bactérias viáveis encontradas nas fezes de animais adultos (logaritmo de bactérias viáveis por grama de fezes)**

Animal	<i>Escherichia coli</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Bacteroides</i>	Lactobacilos
Bovinos	4,3	2,3	5,3	0	2,4
Carneiros	6,5	4,3	6,1	0	3,9
Cavalos	4,1	0	6,8	0	7,0
Porcos	6,5	3,6	6,4	5,7	8,4
Galinhas	6,6	2,4	7,5	0	8,5
Coelhos	2,7	0	4,3	8,6	0
Cães	7,5	8,4	7,6	8,7	4,6
Gatos	7,6	7,4	8,3	8,9	8,8
Ratos	6,8	0	7,9	8,9	9,1
Homem	6,7	3,2	5,2	9,7	8,8

Fonte: SILVA, 1999

Embora vários microrganismos sejam constituintes da microbiota normal do corpo humano, alguns causam doenças ao homem e são os principais responsáveis pelas infecções hospitalares, sendo então considerados microrganismos patogênicos de interesse médico no controle de infecção hospitalar e outros, além de causarem doenças, são também utilizados como indicadores de contaminação.

SOUZA (2003) concluiu que os estudos a respeito da microbiologia de agentes patogênicos humanos em ambientes naturais foram ampliados mas, mesmo assim, é mais conhecido o comportamento destes microrganismos em seu ambiente específico, ou seja, no corpo humano.

Dada a possibilidade de sobrevivência de microrganismos constituintes da microbiota normal humana, nos RSU e RSS, mesmo após o seu aterramento, é imprescindível e relevante a pesquisa destes microrganismos de interesse médico no controle de infecção hospitalar, no líquido lixiviado de células com aterramento de RSU e co-disposição de RSU com RSS, para avaliar o risco biológico deste líquido e entender o destino destes patógenos no aterro sanitário.

#### **3.4.2 Microrganismos patogênicos de interesse da comissão de controle de infecção hospitalar**

Segundo COUTO *et al* (1999), os microbiologistas classificam como microrganismos patogênicos aqueles que causam doenças podendo ser patógenos primários, secundários ou oportunistas. Os patógenos primários são aqueles microrganismos que, possuindo características peculiares, são capazes por si próprios, independentemente de fatores do hospedeiro, de provocar doenças infecciosas. Geralmente, são causadores de infecções comunitárias e raramente causam infecções hospitalares. Os patógenos secundários desenvolvem suas potencialidades patogênicas quando há um desequilíbrio na relação parasito-hospedeiro, principalmente em casos de imunoresistência do hospedeiro.

Para SILVA (1999), as infecções podem ser causadas por bactérias, fungos, vírus ou parasitas, podendo ser endógenas ou exógenas. Nas infecções endógenas, o microrganismo é um componente da microbiota normal do paciente. As infecções endógenas podem ocorrer quando o microrganismo é aspirado do trato respiratório superior para o inferior ou quando ele penetra na pele ou em mucosas traumatizadas ou após processo cirúrgico. Por outro lado, nas infecções exógenas, o microrganismo é adquirido do meio ambiente (por exemplo, do

solo, água, ar, objetos, picada de insetos, etc.) ou de outra pessoa ou animal. Na tabela 3.4 encontram-se relacionados os patógenos causadores de infecções hospitalares e a frequência com que ocorrem.

**Tabela 3.4: Frequência de patógenos causadores de infecções hospitalares (em porcentagens)<sup>1</sup>**

Microrganismos	Trato urinário	Sítios cirúrgicos	Septicemias	Pneumonias	Outros	Todos os sítios
<i>E. coli</i>	25	8	5	4	4	12
<i>Klebsiella</i>	8	4	5	9	4	6
<i>Enterobacter</i>	5	7	4	11	4	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	8	3	16	6	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	19	16	20	17	12
<i>Staphylococcus</i> (coag. Neg.)	4	14	31	2	14	11
<i>Enterococcus</i>	16	12	9	2	5	10

<sup>1</sup> Dados do sistema NNIS (1995 – 1997). Emmori, T.G. & R.P. Gaynes, 1993. *An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory*. Clin. Microbiol. Ver. 6:428-442.

Dentre os microrganismos da microbiota do corpo humano de maior interesse médico no controle de infecção hospitalar, destacam-se os microrganismos da família *Enterobacteriaceae*, dos gêneros *Streptococcus*, *Clostridium*, *Pseudomonas* e *Staphylococcus*, os quais serão abordados a seguir com enfoque às características e metabolismo das espécies *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e grupo *Enterococcus*.

### 3.4.2.1 *Enterobacteriaceae*

Enterobactérias são bastonetes gram-negativos, aeróbios em sua maioria, que constituem os principais componentes da flora intestinal humana normal, sendo relativamente incomuns em outros locais do organismo humano. São representadas pela *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Proteus sp*, *Enterobacter sp*, *Serratia sp*, *Citrobacter* (MURRAY *et al*, 1992).

As espécies de enterobactérias causadoras de infecções hospitalares incluem *E. coli*, *Klebsiella sp*, *Proteus sp*, *Enterobacter sp* e *Serratia marcescens*, representando 80% de todos os bastonetes Gram-negativos e 50% de todas as bacteremias clinicamente significativas isoladas nos laboratórios de microbiologia. A *E. coli* destaca-se como responsável pela maioria das infecções produzidas por este grupo de bactérias, principalmente infecções urinárias, TRABULSI *et al* (2002).

A *E. coli* é um bacilo Gram-negativo, anaeróbio facultativo, possui exigências nutricionais simples, fermenta a glicose e é oxidase negativa. É encontrada no solo e na água decorrente da presença de fezes e na microbiota de quase todos os animais de sangue quente, incluindo os seres humanos. Tem sido isolada de diversos sítios do corpo humano, causando patologias como pneumonias, meningites, infecções intestinais e muitas outras. Como parte da microbiota fecal humana, esse microrganismo tem papel importante na contaminação fecal dos alimentos. Algumas cepas patogênicas de *E.coli* podem causar diarreias severas em todos os grupos etários e produzir uma potente endotoxina. O tratamento com antimicrobianos destes pacientes infectados é obrigatório, pois caso contrário, a infecção pode levar o indivíduo à morte (PELCZAR *et al*, 1996).

As cepas de *E. coli* que causam diarreia são atualmente classificadas em cinco grupos: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), enterotoxigênica (ETEC), enteroinvasora (EIEC), enterohemorrágica (EHEC) e enteroaderente (EAEC). Não há um teste bioquímico específico que as diferencie das *E. coli* presentes em amostras fecais normais e devem, portanto, ser diferenciadas através de provas sorológicas, com a caracterização dos antígenos somáticos **O** e flagelar **H** das mesmas (SILVA, 1999).

Ressalta-se que a presença de *E. coli* em amostras de água, solo, alimento e demais amostras ambientais indica poluição fecal; portanto, é utilizada como microrganismo indicador de contaminação fecal.

#### **3.4.2.2 Clostridium**

Os clostrídios são bactérias que vivem em habitats anaeróbios onde componentes orgânicos estão presentes, incluindo solo, águas paradas e o trato intestinal de animais. São capazes de fermentar uma ampla variedade de compostos orgânicos. Como produtos finais de seu metabolismo podem produzir ácido butírico, ácido acético, butanol, acetona e ainda grandes quantidades de gases (CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>) durante a decomposição de açúcares. Os clostrídios também produzem uma ampla gama de enzimas extracelulares para degradar grandes moléculas no meio ambiente em componentes fermentáveis. Por isto, têm uma função na biodegradação e no ciclo do carbono. Em infecções anaeróbias por clostrídios, estas enzimas têm importante papel na invasão e na patologia propriamente dita (SILVA, 1999).

A maioria das espécies de clostrídios é saprófita e uma pequena parte deles é patogênica para o homem - *C. tetani*, *C. botulinum* e *C. perfringens*. As espécies *C. tetani* e *C. botulinum*

produzem as mais potentes toxinas biológicas conhecidas que afetam o homem, sendo responsáveis pelo tétano e pelo botulismo respectivamente, devendo sua virulência quase que inteiramente ao poder letal das toxinas (SILVA, 1999).

O *C. perfringens* é um bacilo anaeróbio, Gram-positivo, formador de esporos, com temperatura de crescimento na faixa de 20 a 50°C e ótima a 45°C, encontrado comumente no solo, água contaminada por fezes e na flora normal do trato gastrointestinal de animais e seres humanos (Instituto de Tecnologia de Alimentos/ITAL, 2000).

*C. perfringens* é a espécie de clostrídio freqüentemente isolada de amostras clínicas, podendo estar associado à colonização simples ou causar doença grave ou letal. Produz uma enorme quantidade de enzimas de invasão e exotoxinas, que infectam feridas e levam à gangrena gasosa, além de causar também infecções uterinas, bacteremia e enterite necrosante. Além disso, produz uma enterotoxina que é uma importante causa de intoxicação alimentar, quando encontrada em alimentos enlatados inadequadamente esterilizados. A contaminação ocorre pela ingestão da célula vegetativa que, após ingerida, desenvolve-se no intestino humano liberando a toxina e causando a intoxicação (SILVA, 1999).

Além da importância clínica, tem sido recomendada a sua utilização como complemento aos indicadores de contaminação fecal em água, pois sua incidência no meio aquático está constantemente associada aos dejetos humanos, sendo sua presença comum em fezes, esgotos e águas poluídas.

#### **3.4.2.3 Streptococcus**

O gênero *Streptococcus* é representado por um conjunto heterogêneo de bactérias Gram-positivas, em formas de cocos que fazem parte da microbiota normal do homem e de muitos animais. Muito deles são responsáveis por uma variedade de manifestações clínicas, sendo considerados importantes agentes infecciosos tanto para o homem quanto para os animais. Entre as doenças humanas, causam escarlatina, febre reumática, glomerulonefrite e a pneumonia (MURRAY *et al*, 1992).

A classificação dos *Streptococcus* tem sido baseada amplamente na identificação de sorogrupos a partir de componentes da parede celular destas bactérias. Os principais microrganismos do gênero que causam infecções em humanos são *S. pyogenes* e *S. pneumoniae* e as espécies de *Enterococcus* do grupo D *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* (MURRAY *et al*, 1992).

O grupo dos estreptococos fecais engloba espécies de *Streptococcus* e *Enterococcus* do grupo sorológico D de Lancefield, que ocorrem em grande quantidade nas fezes humanas e de outros animais e têm o trato intestinal como habitat natural. São bactérias láticas na forma de cocos ou cocobacilos em pares ou cadeias, Gram positivas, imóveis, catalase negativos e anaeróbios facultativos, cujas principais características diferenciais são a capacidade de hidrolisar a esculina, crescer a 45°C e na presença de 40% de bile. O grupo de *Enterococcus* é um subgrupo dos estreptococos fecais e inclui as espécies reclassificadas para o novo gênero *Enterococcus*, capazes de crescer a 10°C, pH 9,6 e na presença de 6,5% de NaCl. As principais espécies que compõem estes dois grupos, bem como suas características, encontram-se sumarizadas na Tabela 3.5.

**Tabela 3.5: Principais características das espécies que compõem o grupo dos estreptococos fecais e *Enterococcus***

Característica	Grupo dos estreptococos fecais					
	Grupo dos <i>Enterococcus</i>				S. bovis	S. equinus
	E. faecalis*	E. faecium*	E. avium*	E. gallinarium*		
Catalase	-	-	-	-	-	-
Crescimento em 40% Bile	+	+	+	+	+	+
Hidrólise da esculina	+	+	+	+	+	+
Crescimento a 45°C	+	+	+	+	+	+
Crescimento em 6,5% NaCl	+	+	+	+	-	-
Crescimento a 10°C	+	+	+	+	-	-

\* Anteriormente classificadas no gênero *Streptococcus*, foram reclassificadas no novo gênero *Enterococcus*.

Fonte: ITAL, 2000

#### 3.4.2.4 *Staphylococcus*

As bactérias pertencentes ao gênero *Staphylococcus* são patógenos humanos amplamente distribuídos na natureza e fazem parte da microbiota normal da pele e mucosas de mamíferos e aves. Atualmente, o gênero *Staphylococcus* é composto por cerca de 27 espécies, sendo que algumas espécies são frequentemente associadas a uma variedade de infecções de caráter oportunista em seres humanos e animais. Entre elas, destacam-se, em patologia humana, as espécies *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus* e *Staphylococcus haemolyticus* (MURRAY *et al*, 1992).

Tradicionalmente, os estafilococos são divididos em duas categorias com base na sua habilidade de coagular o plasma (reação de coagulase) - estafilococos coagulase positivos e

coagulase negativos. Entre os coagulase positivos, o *Staphylococcus aureus* representa a espécie geralmente envolvida em infecções humanas, tanto de origem comunitária quanto hospitalar. As espécies coagulase negativas, denominadas como SCN, são hoje também consideradas como importantes causas de infecção, particularmente no ambiente hospitalar, em pacientes com as defesas orgânicas comprometidas ou portadores de corpos estranhos, tais como próteses, catéteres e enxertos sintéticos. Praticamente quase todas as pessoas possuem estafilococos coagulase-negativa em sua superfície cutânea (SILVA, 1999).

*Staphylococcus aureus* (coagulase-positivo) são cocos Gram-positivos que formam grupos de cocos em forma de cachos. São catalase positivos e são suscetíveis à elevada temperatura, assim como a desinfetantes e soluções anti-sépticas. São encontrados na orofaringe, trato gastrointestinal e trato urogenital sendo transportados na superfície cutânea e na nosofaringe (TORTORA *et al*, 2000).

Os *S. aureus* causam doenças devido à produção de toxinas ou invasão direta e destruição do tecido, além de serem os agentes mais comuns de infecções piogênicas (formação de pus) que podem se localizar na superfície da pele ou em regiões mais profundas. As infecções da pele recebem diferentes designações, tais como: foliculite, furúnculos, carbúnculos, conjuntivites, celulites, impetigo, síndrome da pele escaldada, de acordo com a localização e outras características. As infecções profundas são de caráter mais grave e ocorrem, particularmente em indivíduos debilitados devido a doenças crônicas, ferimentos traumáticos, queimaduras ou imunocomprometidos. Estas infecções incluem pneumonias, abscessos profundos, osteomielites, endocardites, flebites, mastites, meningite e artrite bacteriana. Causam também, intoxicação alimentar devido à ingestão de alimento contaminado pelas toxinas estafilocócicas A, B, C, D, E, sendo a enterotoxina A mais associada à intoxicação alimentar (MARTINS, 2001).

A transferência do *S. aureus* para um indivíduo suscetível pode ser através de contato direto, de fômites (objetos inanimados contaminados) ou devido à ingestão de alimentos contaminados. Desta forma, por ser comumente encontrado na flora humana e ser o agente principal das infecções estafilocócicas humanas, uma das formas de evitar sua transferência para os alimentos, pacientes ou entre os pacientes, e prevenção da infecção é a adoção do simples hábito de lavar adequadamente as mãos antes de manipular os alimentos, antes e após o atendimento aos pacientes.

#### 3.4.2.5 *Pseudomonas*

O gênero *Pseudomonas* é representado por bacilos Gram-negativos retos ou ligeiramente curvos, em pares ou cadeias curtas que produzem citocromo oxidase. Uma das principais características das *Pseudomonas* é a produção de um ou mais pigmentos (piocianina/verde, fluoresceína/amarelo ou piorrubina/vermelho-marrom), pela maioria das cepas, embora algumas cepas sejam apiogênicas. Possuem também odor característico, adocicado, semelhante à uva e algumas cepas têm aparência mucóide devido à abundância de uma cápsula de polissacarídeo (MURRAY *et al*, 1992).

O gênero *Pseudomonas* possui mais de 130 espécies, a maioria delas saprófitas, sendo que várias espécies são associadas às infecções humanas e, dentre elas, destaca-se a *Pseudomonas aeruginosa* (SILVA, 1999).

A *P. aeruginosa* é um microrganismo ubíquo, de vida livre e muito encontrado em ambientes úmidos. Quanto à obtenção de energia, é uma bactéria aeróbia não fermentadora que obtém a sua energia de processos oxidativos de carboidrato. Embora seja capaz de usar mais de 75 compostos orgânicos diferentes, ela pode crescer em meios de cultura contendo somente acetato como fonte de carbono e sulfato de amônio como fonte de nitrogênio. Além disso, apesar de ser aeróbia, pode crescer anaerobiamente em algumas circunstâncias, usando o nitrato como acceptor de elétrons. Este microrganismo cresce bem em temperaturas variando de 25 a 37°C, mas cresce lentamente em temperatura muito baixas ou muito altas. No entanto, a habilidade de crescer a 42°C a diferencia de muitas outras espécies de *Pseudomonas* (SILVA, 1999).

Reconhecida como patógeno oportunista, raramente causa doença em indivíduos saudáveis. Entretanto, é uma ameaça para pacientes hospitalizados e tem sido isolada com elevada frequência em infecções associadas a pacientes imunodeprimidos. Existe uma grande incidência destas infecções em pacientes idosos, crianças, pacientes de UTI (Unidade de Terapia Intensiva) e pacientes com doenças de base graves como, por exemplo, queimaduras extensas, trauma cirúrgico em consequência de cirurgias muito extensas, viciados em drogas, alcoolismo, fibrose cística, diabetes, tumores malignos, pneumonia e outras condições debilitantes. As principais infecções causadas pela *P. aeruginosa* são: bacteremia, endocardite, traqueobronquite, broncopneumonia, otite, infecções nas feridas por queimadura, infecções urinárias, gastroenterites e septicemias fatais em crianças (MURRAY *et al*, 1992).

Além de sua versatilidade nutricional, a *P. aeruginosa* resiste a altas concentrações de sal, corantes, muitos anti-sépticos e aos antibióticos mais comumente utilizados. Estas propriedades ajudam a explicar sua natureza ubíqua e contribuem para a sua alta incidência em infecções hospitalares. A alta mortalidade associada a estas infecções deve-se à combinação de fatores como defesas enfraquecidas do hospedeiro, resistência bacteriana à maioria dos antibióticos e produção de enzimas extracelulares e toxinas (MURRAY *et al*, 1992). Alguns fatores de virulência associados às *Pseudomonas* podem ser verificados na Tabela 3.6.

**Tabela 3.6: Fatores de virulência associados a *Pseudomonas***

Fator de virulência	Efeito biológico
Fímbrias	Aderência ao epitélio respiratório
Cápsulas de olissacarídeos	Aderência ao epitélio traqueal, antifagocítico
Endotoxina	Febre, choque, oligúria, leucopenia ou leucocitose; coagulação intravascular disseminada; anormalidades metabólicas
Exotoxina A	Inibição da síntese protéica
Exoenzima S	Inibição da síntese protéica
Elastase	Lesão do tecido vascular, inibição da função dos neutrófilos
Protease alcalina	Lesão tecidual, anticomplementar, inativação da IgG, inibição da função dos neutrófilos
Fosfolipase C	Lesão tecidual
Leucocidina	Inibição da função dos neutrófilos e linfócitos

Fonte: MURRAY *et al*, 1992

Baseado em estudos que têm demonstrado que a presença de *Pseudomonas aeruginosa* pode causar surtos de gastroenterites veiculadas pela água e interferir em processos industriais, particularmente nas indústrias farmacêuticas devido à sua capacidade de formar limo, recomenda-se a inclusão de sua pesquisa como exame complementar para avaliação da qualidade de águas destinadas ao abastecimento público e, principalmente, de águas recreacionais, de acordo com a Companhia de Tecnologia e Saneamento/CETESB (1993) e o ITAL (2000).

Sendo assim, a pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* é relevante por se tratar de um patógeno oportunista e da falta de correlação entre sua presença e a de outras bactérias indicadoras de contaminação fecal. Adicionalmente, tem sido causadora de problemas nos centros de hemodiálise.

Conforme BIDONE (2001), os microrganismos *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* são de grande interesse médico-sanitário por serem os grandes

causadores de infecção hospitalar, além de ser os mais comumente encontrados em análises microbiológicas dos RSS, o que justifica a importância de pesquisar a sua sobrevivência nos líquidos lixiviados de aterro sanitário.

Embora o tratamento terapêutico e procedimentos higiênicos adequados sejam essenciais para evitar a disseminação de várias infecções, a questão sanitária também é fator primordial para a prevenção das mesmas. Dentre estas questões sanitárias, destaca-se o gerenciamento adequado dos resíduos, uma vez que estudos constataram a presença destes microrganismos nos RSU e RSS.

Ressalta-se que muitas das infecções bacterianas são tratadas com antibióticos. Assim, aborda-se o histórico dos antimicrobianos, bem como sua classificação e resistência bacteriana aos mesmos, visando o melhor entendimento da avaliação da susceptibilidade bacteriana aos antimicrobianos, que é um dos objetivos desta pesquisa.

### **3.4.3 Antimicrobianos e resistência bacteriana aos antimicrobianos**

Segundo MARTINS (2001), embora o uso de substâncias químicas no tratamento de doenças infecciosas seja tão antigo quanto a humanidade, somente a partir do século XVI, com o desenvolvimento da alquimia, as drogas medicinais passaram a ser obtidas através de laboratórios.

Os estudos referentes aos antimicrobianos iniciaram-se em 1935, quando da descoberta da ação do azo vermelho protosil que protegia camundongos contra infecções estreptocócicas sistêmicas e curava pacientes com estas infecções. A partir desta data com a descoberta do processo semi-sintético na obtenção de penicilinas e derivados da sulfanilamida tornou-se possível a quimioterapia das infecções sistêmicas (MURRAY *et al*, 1992).

A demonstração da atividade terapêutica das sulfonamidas contra as infecções bacterianas sistêmicas representou um grande avanço nos anos 30. A seguir houve importantes avanços na quimioterapia das infecções bacterianas e posteriormente, nas décadas de 40 e 50, foram desenvolvidas a estreptomicina e tetraciclina, seguidas pelos aminoglicosídeos, penicilinas semi-sintéticas, cefalosporinas, quinolonas e outros antimicrobianos que aumentaram a variação e eficácia da quimioterapia das infecções sistêmicas (MARTINS, 2001).

Segundo SILVA (1999), os antibióticos podem ser classificados conforme a sua origem, efeito antimicrobiano, espectro e mecanismos de ação:

### Origem

- **Naturais:** são obtidos a partir de fungos e bactérias;
- **Sintéticos:** são obtidos totalmente por síntese química, em laboratórios;
- **Semi-sintéticos:** obtidos por modificações químicas de antimicrobianos naturais

### Efeito

- **Bacteriostáticos:** inibem o crescimento do microrganismo;
- **Bactericidas:** sua ação é letal sobre o microrganismo, causando sua morte.

### Espectro de atividade

- **Amplio:** atuam sobre um grande número de espécies (bactérias Gram-negativas e Gram-positivas);
- **Intermediário:** atuam sobre um número limitado de microrganismos;
- **Reduzido:** atuam sobre um pequeno número de espécies (bactérias selecionadas).

### Mecanismo de ação

- Inibição da síntese da parede celular;
- Alteração da permeabilidade celular;
- Inibição da síntese protéica;
- Inibição da síntese de ácidos nucleicos (DNA e RNA).

Um dos fatores que determinam o potencial de utilização de um antibiótico é a sua eficácia que, conseqüentemente, está diretamente relacionada com o seu espectro de ação (velocidade de ação, susceptibilidade do alvo microbiano e efeitos colaterais no hospedeiro).

Quanto ao espectro de ação, os antibióticos de amplo espectro têm uso preferencial em relação aos de espectro reduzido, pois atuam contra uma grande variedade de bactérias. Na Tabela 3.7 são apresentados os antibióticos com os respectivos espectros de ação, dando ênfase àqueles comumente utilizados na quimioterapia das infecções causadas por *Pseudomonas aeruginosa* ou *Staphylococcus aureus*.

**Tabela 3.7: Classificação dos antibióticos e espectro de ação**

Grupo	Subgrupo	Antibiótico	Espectro de Ação
Betalactâmico Semi-sintéticos	Carboxipenicilinas		Carboxipenicilinas (carbenicilinas): Espectro de ação semelhante ao das aminopenicilinas, têm atividade também contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterobacter sp</i> e <i>Proteus</i> indol-positivo.
	Cefalosporinas	3 <sup>a</sup> geração Cefotaxima Cefixima Ceftriaxona	Excelente espectro para bactérias Gram-negativas (enterobactérias, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Neisseria sp</i> e <i>Haemophilus influenzae</i> ) e pequena ação contra bactérias Gram-negativas.
		4 <sup>a</sup> geração Cefepime Cefipirona	Ativa para Gram-negativos e com espectro de ação aumentado para <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>Pseudomonas</i> produtoras de betalactamases por via cromossômica. Atuam em Gram positivos com exceção dos <i>Enterococcus</i> .
	Carbapenêmicos		Imipenem Meropenem
Aminoglicosídeos	Não tem subgrupo	Gentamicina Tobramicina Netilmicina	Gentamicinas: Espectro de ação: bacilos Gram-negativos aeróbicos e facultativos dentre eles <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Staphylococcus sp.</i> (coagulase-negativo)
Quinolonas	Não tem subgrupo	Ciprofloxacina Pefloxacina Ofloxacina Lomefloxacina Levofloxacina Sparfloxacina	Ciprofloxacina: classe de amplo espectro; é ativa contra enterobactérias e outros bacilos Gram-negativos, inclusive <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , cocos Gram-positivos e Gram-negativos.

Fonte: Adaptado de MARTINS, 2001

Com a utilização dos antibióticos nos processos infecciosos, acreditou-se que as doenças infecciosas deixariam de ser um problema. Entretanto, este uso tem sido frequentemente limitado pelo aparecimento de patógenos resistentes aos mesmos (TRIEU-CUT *et al*, 1987). Foram sintetizados outros antibióticos, mas sempre estão surgindo bactérias que apresentam resistência aos novos medicamentos.

### 3.4.3.1 Resistência bacteriana a drogas

A resistência bacteriana é caracterizada como um fenômeno genético, relacionado à existência de genes contidos em microrganismos, os quais codificam diferentes mecanismos bioquímicos, impedindo a ação de diversos fármacos. A resistência pode ser natural quando os genes de resistência fazem parte do código genético do microrganismo ou adquirida, quando os genes de resistência não estão normalmente presentes nos código genético (TAVARES, 2001).

Na atualidade, a resistência bacteriana aos antimicrobianos tornou-se um problema mundial e sua dimensão vai além dos hospitais. Em recente Simpósio sobre o tema, vários estudos relataram que, tanto na agropecuária como na veterinária, as bactérias desenvolvem resistência aos antibióticos, após um determinado tempo de uso dos mesmos (II Simpósio de Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos, 2003).

Desta forma, o aumento de bactérias resistentes é devido, em parte, ao elevado consumo de antibióticos tanto na medicina humana, quanto na veterinária. Segundo ANDREOTTI (2003), o uso de antimicrobianos na produção animal, potencialmente seleciona linhagens de bactérias resistentes aos antibióticos que podem ser transferidas ao ser humano via digestão de alimentos e água contaminada.

Corroborando com o autor acima, BRITO (2003) afirmou que, assim como na medicina humana, o uso de antibióticos nos animais causa aumento de resistência tanto em bactérias patogênicas quanto nas bactérias da flora endógena. Bactérias resistentes dos animais podem causar doenças no homem pelo contato direto ou via produtos alimentares de origem animal. Estas bactérias resistentes podem colonizar o homem e transferir resistência a outras bactérias da microbiota humana.

Adicionalmente, genes de resistência a agentes antimicrobianos podem ocorrer em populações bacterianas e serem disseminados de um ecossistema para outro. Genes resistentes a determinados antibióticos primeiramente descritos em bactérias específicas de seres humanos foram encontrados em espécies de microrganismos específicos de animais e vice-versa, sugerindo que populações bacterianas podem compartilhar e trocar estes genes (ASM, 1999).

Para vários pesquisadores, alguns fatores vêm contribuindo significativamente para o aumento da resistência dos microrganismos aos agentes microbianos, tanto na área hospitalar como na pecuária e na veterinária (ANDREOTTI, 2003; BRITO, 2003; FERNANDES, 2000). Dentre estes fatores destacam-se:

- o uso irracional de antimicrobianos;
- o emprego inadequado de técnicas diagnósticas e terapêuticas que quebram as barreiras naturais de defesa do hospedeiro;
- a não observância de normas simples de prevenção da transmissão de infecções;
- uso de antibióticos falsificados, principalmente nas áreas mais carentes;

- a preferência dos profissionais de saúde para o emprego das drogas mais novas, caras e de amplo espectro, causando maior pressão seletiva;
- as estratégias publicitárias estimulando o consumo e prescrição dos novos antibióticos;
- deficiência na formação dos profissionais de saúde e, obviamente, dos varejistas que acabam por indicar ou fornecer livremente medicamentos;
- a utilização de antibióticos na pecuária, suinocultura e avicultura para prevenir e tratar infecções bacterianas e como aditivo alimentar em rações, para melhorar o ganho de peso;
- a utilização de antibióticos na proteção de plantas (horticultura e agricultura) e na preservação e conservação de alimentos;
- a ampliação do comércio internacional de animais e dos alimentos deles derivados.

A resistência apresentada pelos microrganismos está relacionada com a sua sobrevivência. Desta forma, os microrganismos patogênicos desenvolveram mecanismos de resistência aos antimicrobianos e, segundo MARTINS (2001), os principais mecanismos de resistência bacteriana são:

- síntese de enzimas;
- redução da incorporação do antibiótico por diminuição da permeabilidade ou por efluxo ativo da droga;
- alteração do alvo de ação do antibiótico.

Os mecanismos de resistência têm sido identificados e descritos para todos os antimicrobianos conhecidos e disponíveis para uso humano e veterinário, em especial, para os modernos antibióticos como cefalosporinas, aminoglicosídeos e fluorquinolonas (MCDERMONTT *et al*, 2002).

Na Tabela 3.8 estão relacionados os antibióticos e respectivos mecanismos de resistência nos quais estão envolvidos.

**Tabela 3.8: Principais antibióticos e mecanismos de resistência envolvidos**

<b>Antibióticos</b>	<b>Mecanismo de resistência envolvido</b>
Betalactâmicos: penicilinas, cefalosporinas, carbapênicos Aminoglicosídeos Cloranfenicol	Inativação enzimática
Betalactâmicos (proteínas ligadoras de penicilinas) Aminoglicosídeos (proteínas ribossômicas) Quinolonas (DNA girase) Macrolídeos (RNA ribossômico)	Alteração do sítio de ação
Aminoglicosídeos Quinolonas Betalactâmicos Cloranfenicol	Diminuição da permeabilidade
Quinolonas Tetraciclinas	Promoção de efluxo

Fonte: Adaptado de MARTINS, 2001

### **3.4.3.2 Resistência bacteriana dos microrganismos de interesse médico**

Vários relatos na literatura médica têm documentado as altas taxas de resistência a antimicrobianos detectadas em algumas espécies de microrganismos. Cepas multirresistentes são isoladas com certa frequência, causando sérios problemas terapêuticos. Dentre estes microrganismos, destacam-se *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*.

Quanto ao conceito de multirresistência bacteriana frente aos antimicrobianos, não existem critérios bem estabelecidos. Segundo OLIVEIRA *et al* (1998), os critérios mais amplamente utilizados são a resistência apresentada a duas ou mais drogas de classes farmacológicas distintas, ou a apenas uma droga para qual os microrganismos são normalmente sensíveis. Além disso, as cepas de amostras clínicas que apresentam susceptibilidade intermediárias aos antimicrobianos, em caso de surtos ou epidemias, são consideradas resistentes.

Desta forma, cada instituição define os critérios utilizados na caracterização de microrganismos multirresistentes. Assim sendo, OLIVEIRA *et al* (1998) ressaltaram pela importância clínica e pelo risco potencial que representam em caso de surgimento de epidemias tanto hospitalares como comunitárias, as seguintes associações de microrganismos/resistência a antibióticos:

- *Staphylococcus coagulase-negativo*, resistente à análogos da meticilina;
- *Staphylococcus aureus*, resistente à meticilina e análogos;
- *Enterobacter sp*, resistente à ceftazidima;
- *Pseudomonas aeruginosa*, resistente ao imipenem;
- *Pseudomonas aeruginosa*, resistente à ceftazidima;
- *Enterococcus* resistente à vancomicina;
- *Escherichia coli*, resistente a ciprofloxacina;
- *Escherichia coli*, resistente à ceftazidima.

O *Staphylococcus aureus* vem desenvolvendo resistência crescente aos antimicrobianos comumente utilizados para seu tratamento, podendo ser mediada por cromossomas ou plasmídeos. Nos hospitais a questão de resistência bacteriana toma dimensões dramáticas com o *S. aureus* resistentes à meticilina/oxacilina (MRSA), *Enterococcus* Vancomicina Resistente (VRE) e as gram negativas multirresistentes (FERNANDES *et al*, 2000). Conforme SILVA (1999), cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina/oxacilina (MRSA) e de *S. aureus* com sensibilidade reduzida à vancomicina (VISA) infectam pacientes hospitalizados. A colonização pelo MRSA é longa, com relatos de mais de um ano de persistência.

Segundo MENDES *et al* (2001), a *Pseudomonas aeruginosa* tem se caracterizado por apresentar resistência a diversos agentes antimicrobianos. Vários fatores são responsáveis pela resistência observada nesta bactéria, destacando-se a permeabilidade da parede celular, inativação por B-lactamases (cromossomiais ou plasmidiais), afinidade por PBPS ou combinação destes fatores.

Bactérias têm sofrido mutações e adquirido novos genes localizados em elementos genéticos móveis tais como: plasmídeos, transposons, integrons ou cassetes, produzindo novos mecanismos para superar a ação de muitos antibióticos. O uso extensivo e o mau uso dos antibióticos têm causado forças poderosas na seleção das bactérias. Recentemente, várias cepas resistentes a novos antibióticos têm sido isoladas de pacientes em todo o mundo (PILAI, 2001).

Assim, a possibilidade de disseminação de bactérias resistentes entre diferentes países, as relações entre resistência e virulência e os respectivos efeitos sobre a evolução bacteriana,

aliados com a dificuldade da indústria em desenvolver novos antimicrobianos na velocidade em que a resistência se estabelece, são constatações que fazem do controle da resistência um enorme desafio (VIEIRA, 2003).

Além da utilização dos antibióticos, o descarte inadequado de medicamentos nos RSS, nos RSU e/ou nos efluentes hospitalares, aliado à presença de linhagens resistentes a antibióticos nestes efluentes, também contribui para a disseminação de bactérias resistentes no ambiente (SANCHES, 1988; SCHIO, 2001).

ORTOLAN *et al* (2002) reafirmaram que a presença de linhagens multiresistentes pode representar risco à saúde pública se atingirem o sistema de abastecimento de água. Desta forma, a circulação de genes de resistência nas águas representa um fator de risco para os usuários e para os consumidores destas águas, uma vez que o gene das linhagens multiresistentes pode atingir o homem via direta ou indireta.

Salienta-se que, apesar dos resíduos serem dispostos de forma adequada, os microrganismos patogênicos resistentes presentes nos RSU e RSS podem sobreviver às condições ambientais adversas de um aterro e serem levados pelo líquido lixiviado para outras fontes de contaminação, em especial a água.

Ademais, como já mencionado, o isolamento de cepas de microrganismos resistentes deixou de ser um problema localizado nos ambientes hospitalares, para tornar-se um fenômeno de maior abrangência, inclusive na área ambiental.

O uso excessivo de antimicrobianos favoreceu a seleção de organismos resistentes, que vêm se disseminando rapidamente, em diversos ambientes. Assim sendo, a disseminação e o crescente aumento da resistência bacteriana tornou-se uma questão emergente de saúde pública, justificando-se a necessidade de conhecer a susceptibilidade dos microrganismos comumente causadores de infecções hospitalares (*Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*) isolados do líquido lixiviado de aterro sanitário.

#### **3.4.4 Microrganismos indicadores de contaminação**

Como abordado nos itens 3.4.1 e 3.4.2. que discorrem a respeito das características e metabolismo dos microrganismos da microbiota humana, o grupo coliformes, *Enterococcus* e a espécie *Clostridium perfringens*, são utilizados como indicadores de contaminação fecal,

pois normalmente habitam o trato gastrointestinal de humanos e de outros animais, além de estar presentes em suas fezes.

Ademais, os parâmetros microbiológicos para o lançamento de líquidos lixiviados em Minas Gerais, baseiam-se nos indicadores coliformes totais e fecais, cujos limites são contemplados na DN COPAM n.10/86.

Segundo VON SPERLING (1996), as razões pelas quais os coliformes são indicadores de contaminação fecal devem-se ao fato de apresentarem-se em grande número nas fezes humanas e de animais de sangue quente, possuírem resistência similar à maioria das bactérias patogênicas e as técnicas para sua detecção serem mais rápidas.

Para BASTOS *et al* (2000), usualmente, o grau de contaminação das águas é avaliado com base na densidade de organismos indicadores - coliformes totais (*Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*) e termotolerantes – partindo-se do pressuposto de que há uma relação semi-quantitativa entre estas bactérias e a presença de patógenos.

Além do grupo dos coliformes, recomenda-se a utilização de outros microrganismos como indicadores. Normalmente, o gênero *Enterococcus* é utilizado para complementar parâmetros de qualidade ambiental e melhorar os laudos microbiológicos no sentido de definir tanto a poluição fecal quanto a possibilidade de sua origem (humana ou animal), CHARRIERRE *et al* (1994). Este grupo apresenta maior resistência aos diversos processos de tratamento de esgoto, em comparação com os coliformes fecais e permite uma correlação mais direta com a sobrevivência de vírus (ITAL, 2000).

A detecção da espécie *Clostridium perfringens* também é recomendada como complemento a outros parâmetros indicadores de qualidade ambiental, devido à sua capacidade de esporular e apresentar excepcional longevidade em água e às mais adversas condições do meio ambiente, ITAL (2000). Adicionalmente, apresenta grande resistência aos desinfetantes e aponta sobre contaminações fecais mais remotas que aquelas indicadas pela presença de *E. coli*, MURRAY *et al*, 1992). Sendo assim, pode assegurar ausência de microrganismos patogênicos de menor persistência que esta espécie.

Segundo DUTKA & KAMEL (1988), vários registros vêm demonstrando que os coliformes não têm apresentado relações com outros microrganismos patogênicos ou indicadores de sua presença. Da mesma forma, a Organização Mundial de Saúde/OMS (1995) chamou atenção

para o fato de que o grupo dos coliformes totais inclui espécies de origem não exclusivamente fecal, podendo estes ocorrer naturalmente no solo, na água e em plantas.

Complementando a abordagem do autor acima, CERQUEIRA & SÁ HORTA (1999) relataram que num futuro próximo devem ser padronizadas e simplificadas as técnicas de detecção e identificação de outros parâmetros microbiológicos para as funções similares atribuídas aos coliformes fecais.

Entretanto, quanto à presença de indicadores de contaminação ambiental nos líquidos lixiviados de aterro sanitário, COOPER *et al* (1975) constataram que a concentração destes microrganismos foi superior nos líquidos lixiviados oriundos de lisímetros que simularam a disposição dos resíduos sólidos em aterro sanitário, do que a encontrada nos que simularam a disposição dos resíduos sólidos em lixões. Os autores avaliaram a concentração destes microrganismos, durante 20 semanas.

Desta forma, pressupondo-se que o líquido lixiviado pode carrear e veicular microrganismos provenientes dos RSU e RSS, e considerando estudos que sugerem a inclusão de outros parâmetros microbiológicos na avaliação da qualidade ambiental, torna-se necessário avaliar o potencial de contaminação desse líquido, levando-se em consideração outros parâmetros indicadores de contaminação, inclusive parâmetros de interesse no controle de infecções hospitalares, como a *Pseudomonas aeruginosa* e o *S. aureus*.

### **3.4.5 Aspectos microbiológicos dos RSU, RSS e líquidos lixiviados de aterros sanitários**

A preocupação da sociedade com o potencial risco biológico dos RSS advém da sua composição heterogênea que inclui substâncias infectantes e materiais perfuro-cortantes, além da suposta capacidade dos mesmos em transmitir doenças.

Segundo SISINNO (2000), no que se refere à composição dos resíduos, os RSU são constituídos de uma variedade de materiais, muito deles similares aos RSS (fraldas, fezes, papel higiênico, absorventes higiênicos, curativos, ataduras, frascos de soros, luvas, etc.). Desta forma, tanto os RSU como os RSS podem conter uma diversidade de microrganismos patogênicos representando riscos biológicos para a saúde humana e para o ambiente.

Corroborando com o parágrafo anterior, ROCHA (2003), durante a caracterização da composição gravimétrica dos RSU de Belo Horizonte, detectou resíduos com potencial de

contaminação biológica, destacando-se: fezes, papel higiênico, fraldas descartáveis, absorventes higiênicos, sangue e fluídos corpóreos.

Estudos realizados por SOARES *et al* (1997) no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, demonstraram que aproximadamente 73% dos resíduos coletados neste local poderiam ser tratados como domésticos. O mesmo autor afirmou ainda que, embora a parcela considerada infecciosa ofereça risco à saúde pública, há carência de informação sobre o tema.

Os RSS, embora representem uma pequena parcela em relação ao total de resíduos sólidos gerados por uma comunidade, são geralmente considerados de alto risco. Algumas publicações afirmam que os RSS representam maior risco potencial para a saúde humana, já outras consideram que os riscos são os mesmos, quando comparados aos RSU (ZANON e EIGENHEER, 1991; RUTALA & MAYHALL, 1992).

Enquanto algumas pesquisas apontam que os resíduos sólidos urbanos possuem maior concentração de patógenos, outras revelam resultados opostos. Para FERNANDES *et al* (2000), a maioria das pesquisas publicadas que compara resultados de análises microbiológicas dos RSS a análises de resíduos sólidos urbanos demonstrou que a carga bacteriana é menor nos RSS, inclusive infectantes.

Segundo SOUZA (2003), deve-se considerar não somente a concentração de microrganismos encontrados nos resíduos, mas também a origem da cepa, pois supõe-se que as cepas bacterianas de origem hospitalar ofereçam maior risco à comunidade em relação às de origem doméstica, por apresentarem maior resistência aos antimicrobianos.

Assim, a simples presença de microrganismos patogênicos nos resíduos não é suficiente para torná-los infecciosos, pois não há evidência científica de casos de transmissão de agentes infecciosos para pessoas ou animais pelo contato direto com estes resíduos em aterros sanitários, com exceção dos acidentes com os perfuro-cortantes (ZANON, 1990; FERREIRA, 1997; ANDRADE, 1999).

Portanto, o risco de transmissão de doenças infecciosas não deve ser estabelecido somente pela verificação da presença de microrganismos patogênicos, sendo necessário considerar os aspectos epidemiológicos envolvidos em cada situação de risco, uma vez que o acesso ao hospedeiro depende da existência de uma via de transmissão, de uma porta de entrada, da

condição de imunodeficiência do hospedeiro, da virulência do microrganismo, dentre outros fatores (RUTALA e MAYHALL, 1992; ZANON, 1991).

Segundo ROCHA & NEDER (1997), tanto os resíduos sólidos urbanos como os resíduos sólidos de serviços de saúde representam risco potencial de patogenicidade e de contaminação. Afirmam ainda que os RSS, quando co-dispostos com outros resíduos em aterro ou dispostos a céu aberto, podem trazer contaminações.

Um dos fatores mais preocupantes em relação aos RSS é a fração infectante. FERNANDES *et al* (2000) relataram que é possível destiná-los em aterros sanitários, desde que sejam rigorosamente seguidos procedimentos de segurança ocupacional em todas as etapas do gerenciamento. LICHTVEL *et al* (1990), também apontaram que a disposição da fração infectante no solo, com critérios semelhantes aos aplicados em aterros sanitários, não implica em risco de transmissão de doenças infecciosas, pois não há evidências que estes resíduos infectantes aumentem a contaminação de águas subterrâneas ou do solo, se dispostos adequadamente, quando comparados aos resíduos urbanos.

Embora haja estudos que apontem para a viabilidade da co-disposição da fração infectante dos RSS com RSU (BIDONE, 2001), ainda existe uma carência de pesquisas sobre a amplitude e o comportamento dos microrganismos patogênicos presentes nos resíduos sólidos urbanos e resíduos de serviços de saúde, quando dispostos em aterro sanitário, tornando-se necessários estudos mais detalhados e aprofundados sobre o tema.

Pelo que foi exposto, quanto à co-disposição dos RSS com os RSU em aterros sanitários também há controvérsias. Alguns pesquisadores apontam para a viabilidade desta prática, enquanto outros consideram que a co-disposição destes resíduos pode resultar em contaminação ambiental.

A bibliografia registra a preocupação crescente com o risco biológico dos resíduos desde a década de 70. Várias pesquisas foram desenvolvidas sobre a ocorrência e sobrevivência de microrganismos entéricos, nos resíduos aterrados, nas águas subterrâneas e nos líquidos lixiviados dos aterros sanitários.

ENGELBRECHT & AMIHOR (1975), apud COLLINS & KENEDDY (1992), alertaram para o potencial de contaminação microbiológica do líquido lixiviado de aterro sanitário, pois verificaram a presença de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus*

*faecalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella sp*, *Proteus sp* e coliformes.

Em estudo comparativo sobre análise de águas subterrâneas realizados por FUSCONI & GODINHO (1999), observou-se um maior número de microrganismos presentes na água subterrânea sob influência de um aterro controlado, dando indícios de que o aumento da concentração dos microrganismos deveu-se à infiltração do líquido lixiviado oriundo do aterro controlado.

KINMAM *et al* (1986) pesquisaram sobre bactérias indicadoras em 19 lisímetros, durante 10 anos. Relataram que um elevado número de bactérias indicadoras de contaminação fecal estava presente, mesmo após 10 anos de aterramento dos resíduos. Porém, verificaram que a concentração destes microrganismos decaiu, quando compararam a concentração detectada inicialmente, após dois anos e dez anos (Tabela 3.9).

**Tabela 3.9: Concentração de bactérias indicadoras de contaminação fecal em aterros com diferentes idades de aterramento dos resíduos**

Microrganismos	Resíduos úmidos (UFC/g)		
	Início	Após dois anos	Após 10 anos
Coliformes totais	$6,8 \times 10^8$	$5,6 \times 10^4$	$1,4 \times 10^3$
Coliformes fecais	$2,6 \times 10^7$	$5,6 \times 10^3$	< 0,2
<i>Streptococcus faecalis</i>	$1,4 \times 10^8$	$1,6 \times 10^4$	$2,4 \times 10^2$

Fonte: KINMAM *et al* (1986), EPA-600/2-86-035. U.S.Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH

SOBSEY (1978), em pesquisa sobre vírus entéricos, analisou amostras de líquido lixiviado de 21 diferentes aterros dos Estados Unidos e Canadá. Foram detectados poliovírus tipos 1 e 3, somente em uma amostra oriunda de um aterro operado inadequadamente, evidenciando que o líquido lixiviado proveniente de aterros operados conforme normas técnicas e critérios de engenharia não representa risco à saúde pública, no que se refere aos vírus entéricos. Adicionalmente, a maioria das amostras do líquido lixiviado dos aterros não continha níveis detectáveis de coliformes fecais. Em apenas duas amostras a concentração foi superior a  $10^3$ NMP/100mL.

Conforme resultados de análises em amostras de resíduos coletadas a diferentes profundidades em um aterro sanitário com nove anos (Tabela 3.10), DONNELLY e SCARPINO (1983) constataram que as concentrações de coliformes totais, coliformes fecais e *Streptococcus faecalis* em todas as amostras de resíduos foram relativamente altas.

Entretanto, comparando os resultados das amostras do líquido lixiviado e do RSU coletadas a uma profundidade próxima (3,01m e 3,20m) observou-se que os valores de coliformes totais ( $9,2 \times 10^3$  NMP/100mL), coliformes fecais ( $3,5 \times 10^2$  NMP/100mL) e *Streptococcus faecalis* ( $1,1 \times 10^2$  NMP/100mL) detectados no líquido lixiviado foram inferiores aos detectados nos resíduos ( $3,5 \times 10^4$  NMP/100mL), ( $4,9 \times 10^2$  NMP/100mL), ( $3,5 \times 10^4$  NMP/100mL), indicando a redução da concentração destes microrganismos no líquido lixiviado.

Os autores, também detectaram concentrações baixas desses microrganismos nas amostras de argila e na camada de solo localizada logo abaixo desta. Concluíram que o líquido lixiviado não conseguiu penetrar na camada de argila e contaminar o lençol freático, devido à construção e operação adequadas do referido aterro.

Observaram ainda, que as concentrações dos coliformes totais ( $2,4 \times 10^5$  NMP/100mL) coliformes fecais ( $3,5 \times 10^3$  NMP/100mL) e *Streptococcus faecalis* ( $9,8 \times 10^5$  NMP/100mL) foram superiores nas amostras do solo superficial. Provavelmente, pode ser devido à presença de fezes de animais e até mesmo de humanos, uma vez que os autores não referenciaram a condição de isolamento do aterro sanitário estudado e a origem do solo utilizado na cobertura da camada final do aterro sanitário.

**Tabela 3.10: Concentração de bactérias indicadoras de contaminação fecal em resíduos sólidos e líquido lixiviado em aterro de 9 anos.**

Tipo de solo	Profundidade das amostras coletadas (m)	Bactérias indicadoras de contaminação fecal		
		Coliformes totais	Coliformes fecais	<i>Streptococcus faecalis</i>
Solo da Superfície	0,46	$2,4 \times 10^5$	$3,5 \times 10^3$	$9,8 \times 10^5$
RSU	1,52	$1,1 \times 10^2$	$<2,0 \times 10^1$	$2,0 \times 10^4$
RSU	2,13	$2,4 \times 10^3$	$2,0 \times 10^1$	$6,0 \times 10^4$
RSU	2,60	$1,6 \times 10^5$	$2,3 \times 10^2$	$6,3 \times 10^5$
RSU	2,74	$5,4 \times 10^4$	$3,3 \times 10^2$	ND <sup>b</sup>
Líquido lixiviado <sup>a</sup>	3,01	$9,2 \times 10^3$	$3,5 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$
RSU	3,20	$3,5 \times 10^4$	$4,9 \times 10^2$	$3,5 \times 10^4$
Camada de argila	3,35	$5,0 \times 10^1$	$< 2,0 \times 10^1$	$2,0 \times 10^4$
Solo abaixo do revestimento	3,96	$5,0 \times 10^1$	$< 2,0 \times 10^1$	$<2,0 \times 10^4$

a – técnica de número mais provável : UFC/100g ou NMP/100mL

Fonte: Adaptado de DONNELLY & SCARPINO (1983). EPA-600/2-84-119. U.S.Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH

Em estudo com fraldas descartáveis de RSU a várias profundidades de aterros entre dois e dez anos de operação, SUFLITA *et al* (1992) e HUBER *et al* (1994) apontaram que as bactérias indicadoras de contaminação fecal podem persistir e de fato crescer nos aterros. Entretanto, as

altas temperaturas geradas nos aterros sanitários podem causar a morte e a inativação rápida de protozoários entéricos patogênicos e de vírus.

Embora os riscos biológicos em aterros sanitários construídos conforme critérios de engenharia e operados adequadamente pareçam ser mínimos, precisa ser reconhecido que a opção do aterro sanitário para disposição de RSS está se tornando cada vez menos desejável devido à regulamentação ambiental que exige o tratamento dos mesmos antes da disposição final. Desta forma, a pressão legal cada vez maior para que haja tratamento prévio dos RSS antes da disposição final faz emergir uma necessidade de se entender o destino dos patógenos em um aterro sanitário (PALMISANO & BARLAZ, 1996).

Para PALMISANO & BARLAZ (1996), parte do conhecimento refere-se às bactérias indicadoras de contaminação fecal e não sobre os patógenos propriamente ditos. O destino de muitos patógenos e sua ocorrência em potencial nos resíduos sólidos urbanos e no líquido lixiviado, ainda não foram devidamente avaliados. Informações sobre essas ocorrências permitem uma melhor estimativa da destruição dos patógenos em processos utilizados para o tratamento dos RSS e RSU, bem como a opção de destiná-los em aterros.

Visto que os componentes dos RSU e RSS podem conter uma variedade de bactérias patogênicas, inclusive da microbiota humana e que estas podem sobreviver dentro de um aterro, podendo ser carregadas pelo líquido lixiviado e contaminar os corpos d'água, deve-se avaliar o potencial de contaminação biológica desses líquidos.

### **3.4.6 Métodos e técnicas disponíveis para detecção de microrganismos**

Serão descritos métodos diretos mais comumente utilizados para a detecção dos microrganismos a partir de amostras de águas, de alimentos e amostras clínicas, os quais baseiam-se na capacidade de multiplicação dos microrganismos quando transferidos para um meio de cultura que pode ser líquido ou sólido.

#### **3.4.6.1 Técnica de tubos múltiplos**

É um método de análise qualitativa e quantitativa que permite determinar o número mais provável (NMP) dos microrganismos de interesse, pela estimativa da densidade de bactérias em uma amostra, calculada a partir dos resultados positivos obtidos por diluições sucessivas da amostra e distribuição de alíquotas em uma série de tubos contendo meios de cultura seletivos e diferenciais. Neste método, a cultura é diluída até um ponto em que as amostras da

diluição, quando semeadas em meio apropriado, não apresentam crescimento (CETESB,1998). O método se baseia em testes presuntivos e confirmativos e os resultados são obtidos por meio de tabelas do Standard Methods, correspondente às diluições utilizadas.

#### **3.4.6.2 Técnica de presença e ausência**

O teste de presença/ausência não objetiva quantificar os microrganismos nas amostras, mas sim verificar sua presença num determinado volume. Sua principal aplicação é a análise de águas destinadas ao consumo humano, para as quais a legislação brasileira Portaria n. 1.469 de 29/12/00, estabelece como padrão a ausência de coliformes totais e fecais em 100 mL da amostra. É mais simples, rápida e econômica do que a técnica de tubos múltiplos. Pode ser realizada com meios de cultura diferenciais e presuntivos ou com meios que incorporam substrato cromogênicos e fluorogênicos como o colilert, dentre outros (ITAL, 2000).

#### **3.4.6.3 Plaqueamento em meio sólido**

Segundo TRABULSI *et al* (2002), neste método, alíquotas de diluições seriadas da amostra são semeadas em meios de cultura sólidos adequados e incubadas de maneira a permitir o desenvolvimento de colônias (unidades formadoras de colônias – UFC) isoladas. Estas são contadas e, após considerada a diluição, obtém-se o número de bactérias viáveis por mililitro na suspensão original ou, como mais adequadamente se designa, o número de unidades formadoras de colônias (UFC/mL).

Conforme consta no manual do ITAL (2000), o plaqueamento em meio sólido pode ser em superfície ou em profundidade:

- Plaqueamento em Superfície (“spread plate”)

Técnica que quantifica os microrganismos a partir da inoculação das amostras sobre a superfície de um meio sólido (ágar). Limita o volume inoculado a 0,1 mL da amostra ou suas diluições, mas permite uma melhor visualização das características das colônias na superfície, além de facilitar sua transferência para outros meios de cultura.

- Plaqueamento em Profundidade (“pour plate”)

Permite a inoculação de até 2 mL da amostra ou suas diluições e é indicado para a análise de amostras com contagens acima de  $10^2$ /mL .

É uma técnica geral de enumeração de microrganismos que pode ser utilizada tanto para bactérias heterotróficas como para a contagem de outros grupos, gêneros ou espécies de microrganismos. Essa versatilidade é decorrente do princípio do método que se baseia na premissa de que cada célula microbiana presente em uma amostra, quando fixada em um meio de cultura sólido adequado, irá formar uma colônia visível e isolada.

É também conhecida como contagem padrão em placas e é muito utilizada para estimar o número de bactérias heterotróficas na água, particularmente como uma ferramenta para acompanhar as variações nas condições de processo ou a eficiência das diversas etapas de tratamento, permitindo ainda verificar as condições higiênicas em diferentes pontos da rede de distribuição.

#### **3.4.6.4 Técnica de membrana filtrante**

É uma metodologia de concentração de microrganismos indicada para amostras nas quais se espera ausência ou contagens muito baixas dos microrganismos em estudo, fora do limite de detecção das técnicas de plaqueamento convencionais e de outros métodos. Por este motivo, sua principal aplicação é a análise de água destinada ao consumo humano, embora possa ser utilizada para outros tipos de água selecionando-se volumes adequados à concentração dos microrganismos presentes (ITAL, 2000).

É um método de análise quantitativo que permite determinar o número de unidades formadoras de colônias (UFC) dos microrganismos alvo na amostra, baseado na filtração de um volume adequado da amostra através de um filtro membrana. É utilizada para a análise de coliformes, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* e *Clostridium perfringens*.

Esta técnica baseia-se na filtração de volumes adequados da amostra de água, através de membrana filtrante com porosidade adequada. As bactérias a serem detectadas apresentam dimensões maiores e ficarão retidas na superfície da membrana a qual é então transferida para uma placa de Petri contendo o meio de cultura seletivo e diferencial. Por capilaridade, o meio difunde-se para a membrana, entrando em contato com as bactérias e, após o período determinado de incubação, desenvolvem-se colônias com características típicas, que poderão ser observadas com o auxílio de um microscópio. A partir da contagem destas colônias, calcula-se a densidade de coliformes presentes na amostra (CETESB, 1993).

## **Limitações da técnica de membrana filtrante**

Esta técnica apresenta algumas limitações (em geral não associadas à aplicação no controle de águas potáveis) que impedem sua utilização em várias situações como substituta da técnica de tubos múltiplos sendo as mais importantes: materiais em suspensão, população elevada de outros grupos de bactérias, presença de metais pesados, presença de fenóis ou metais tóxicos e presença de algas (CETESB, 1993).

### **3.4.6.5 Métodos rápidos de detecção e identificação de bactérias**

Contrastando com os procedimentos convencionais, dependentes de crescimento para identificação de bactérias, o uso de provas com substratos cromogênicos de enzimas, permite ao laboratório identificar numerosas espécies de microrganismos de modo rápido. Substratos cromogênicos de enzimas detectam enzimas pré-formadas nas bactérias e permitem a identificação rápida de microrganismos específicos em comparação com os métodos clássicos de identificação, que incluem o crescimento em meios seletivos e diferenciais, as características das colônias e a morfologia celular em esfregaço corados por Gram (SCHAECHTER *et al*, 2002).

As principais técnicas rápidas de detecção e identificação de bactérias são:

- **Técnica de Substrato Cromogênico**

Técnica de identificação rápida de espécies bacterianas pela detecção de características fenotípicas. Baseia-se na síntese de compostos incolores que originam produtos de hidrólise coloridos diretamente ou após adição de um reagente. Os substratos enzimáticos comumente utilizados para identificação de bactérias são as enzimas glicosidase e aminopeptidase.

- **Provas com Substratos Fluorogênicos**

Outra aplicação relacionada aos testes rápidos é o uso de substratos fluorogênicos para a detecção de enzimas bacterianas e a identificação de microrganismos. Estes substratos são compostos de moléculas de carboidratos ou de aminoácidos, unidos por ligações glicosídicas ou peptídicas, que originam produtos finais fluorescentes quando hidrolisados por enzimas bacterianas.

Os meios cromogênicos e fluorogênicos foram desenvolvidos com o objetivo de serem seletivos e indicadores. Atualmente, diversos meios de cultura que incorporam substâncias cromogênicas e fluorogênicas em sua fórmula estão disponíveis no mercado. Como exemplo,

podem ser citados os seguintes kits: Colilert e Enterolert da IDEX e o Chromocult, Fluorocult e ReadyCult da MERCK (SILVA, 1999).

### **Técnicas microbiológicas miniaturizadas**

Segundo SCHAECHTER *et al* (2002), os métodos microbiológicos miniaturizados consistem em técnicas rápidas e práticas para a identificação de grande número de agentes patogênicos isolados de diversas amostras, na qual os microrganismos são identificados por meio de Kits ou painéis. Como exemplo, podem-se citar os sistemas:

- Bactray (Difco) – sistema desenvolvido para a identificação de bactérias Gram-negativas (particularmente enterobactérias não fermentadoras). O sistema compõe-se de três diferentes conjuntos de provas bioquímicas para identificação de bactérias Gram-negativas, oxidase negativas e oxidase positivas. Cada conjunto possui dez diferentes substratos contidos em um suporte plástico descartável, proporcionando rápida e fácil inoculação simultânea de provas bioquímicas.
- Api, Mini-Api e Vidas da BioMerieux – sistemas constituídos de diversos painéis, cada qual destinado à identificação de um determinado grupo de microrganismo.
- Sistema MicroScan (Dade-Behring) – utiliza as metodologias de colorimetria e de turbidez para a análise dos resultados.

#### **3.4.6.6 Provas bioquímicas**

As provas bioquímicas são amplamente utilizadas para diferenciar e identificar bactérias por meio de suas atividades enzimáticas. Algumas das principais provas bioquímicas normalmente utilizadas para identificação dos microrganismos de interesse médico e indicadores ambientais são: meio de Rugai Modificado, indol, degradação da uréia, motilidade, sulfeto de hidrogênio, citocromo oxidase, coagulase, prova de oxidação /Fermentação (OF) e fermentação do manitol.

Além dessas provas, outra prova rotineiramente utilizada antes de qualquer prova bioquímica para identificação dos microrganismos é a coloração de Gram, que se caracteriza pela coloração diferencial dos mesmos, através da qual as bactérias são classificadas em Gram-positivas ou Gram-negativas, dependendo da retenção ou não do corante cristal-violeta em sua estrutura.

### **3.4.6.7 Determinação da susceptibilidade aos agentes antimicrobianos**

A determinação da susceptibilidade aos agentes antimicrobianos pode ser determinada direta ou indiretamente. A determinação direta é feita pelos chamados métodos de diluição e a indireta pelo método de difusão em placa (TRABULSI *et al*, 2002).

**Método de diluição:** método quantitativo que consiste no preparo de diluições sucessivas do antimicrobiano a serem testadas em tubos contendo caldos de cultura, onde será então inoculada a suspensão bacteriana padronizada do microrganismo em estudo. Após a incubação, deve-se verificar a menor concentração do antimicrobiano que inibiu o crescimento bacteriano. Esta concentração é denominada concentração inibitória mínima – CIM (TAVARES *et al*, 2001).

**Método de difusão em placa:** método qualitativo, consiste na deposição de um disco de papel impregnado com o antimicrobiano no meio de cultura sólido e em placa previamente semeada com suspensão da bactéria em estudo. A droga aplicada difunde-se no meio de cultura e o crescimento bacteriano poderá ser inibido, formando-se então um halo de inibição em torno do disco (zona onde não há crescimento bacteriano), cujo diâmetro varia de acordo com a velocidade de difusão do antimicrobiano. Os halos são medidos e os resultados são reportados como sensível, intermediário (moderadamente resistente) ou resistente (TAVARES *et al*, 2001).

O método de difusão em placa pode ter numerosas variáveis, de acordo com a tecnologia empregada. Para que os resultados obtidos entre os diferentes laboratórios sejam comparados, foi padronizada, internacionalmente, a técnica descrita por Bauer e Kirby. Nesta técnica são estabelecidas normas para as concentrações a serem utilizadas nos discos de cada antimicrobiano, padronização do inóculo bacteriano testado e tipo de meio de cultura a ser utilizado (SILVA, 1999).

Para o isolamento e a identificação dos microrganismos indicadores de contaminação e patogênicos no líquido lixiviado, deve-se analisar qual destas técnicas é a mais adequada, devido às características do líquido lixiviado.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Amostragem dos líquidos lixiviados

#### 4.1.1 Local de Amostragem

As amostras dos líquidos lixiviados foram procedentes de duas células do aterro sanitário de Belo Horizonte/MG, localizado próximo à BR 040. A escolha deste aterro foi devido ao fato de nele existirem células com diferentes características de aterramento de resíduos, a saber: célula contendo somente resíduos sólidos urbanos e com dois anos de aterramento de resíduos (Célula Emergencial) e célula com co-disposição de resíduos sólidos urbanos e de resíduos de serviços de saúde e com 5 anos de aterramento dos resíduos (Célula ACO5), além da existência de pontos de amostragens (piezômetros-PLQ) que facilitaram a coleta dos líquidos lixiviados, conforme detalhamento apresentado na Tabela 4.1 e Figuras 4.1 e 4.2.

**Tabela 4.1: Características das células amostradas do aterro sanitário de Belo Horizonte**

Célula	Características das células amostradas	Ponto de coleta
AC05	- co-disposição de RSU e RSS - ainda em processo de aterramento de resíduos. Início janeiro/2001	PLQ-5A
Emergencial	- disposição de RSU - encerrado o processo de aterramento de resíduos (julho/95 a agosto/97) - passou por processo de recirculação de líquidos lixiviados, fase acetogênica, metanogênica e alcalinogênica	PLQ-6A

Fonte: Secretaria Municipal de Limpeza Urbana (2003)

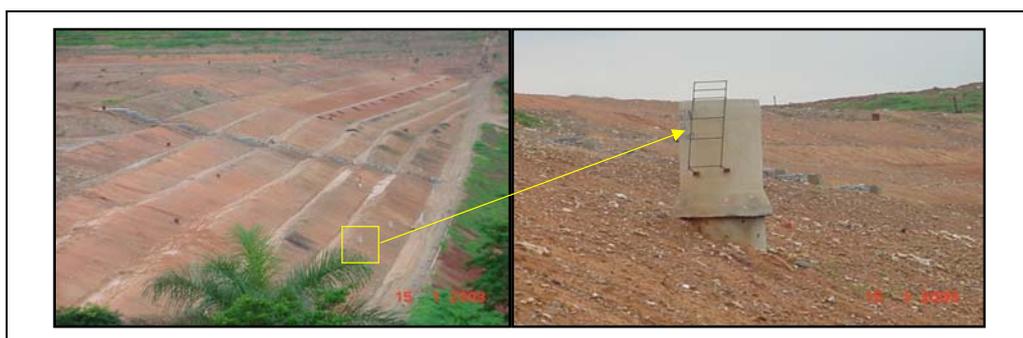


FIGURA 4.1: Visão geral da célula AC05 e do piezômetro de coleta do líquido lixiviado PLQ-5A



FIGURA 4.2: Visão geral da célula emergencial e do piezômetro de coleta do líquido lixiviado PLQ-6A

#### 4.1.2 Amostragem

As amostragens ocorreram em período chuvoso (Janeiro/2003 a Abril/2003). Foram coletadas 25 amostras do líquido lixiviado de cada célula em estudo, sendo uma amostragem por semana. Inicialmente, estavam previstas três coletas semanais, durante este período. No entanto, não foi possível cumprir este cronograma devido ao cancelamento das coletas em dias muito chuvosos.

Durante o desenvolvimento da parte experimental, houve preocupação com a segurança e saúde ocupacional das pessoas envolvidas neste trabalho. Além dos Equipamentos de Proteção Individual (EPI's) obrigatórios (luvas, jaleco e sapatos fechados), foram utilizados coletores e máscara de respiração adaptados para as atividades de coleta do líquido lixiviado.

No início dos experimentos, verificou-se que as movimentações (recalques) inerentes ao processo de decomposição ocorrido no interior das células provocaram o deslocamento da parte inferior do piezômetro PLQ-5A da célula AC05. Este fato, somado a alta profundidade do piezômetro (30m), à liberação de gases no interior do mesmo e à leveza do coletor, tornaram mais trabalhosa e demorada a atividade de coleta das amostras.

Portanto, com o objetivo de acelerar o tempo de coleta e, conseqüentemente, reduzir o período de exposição aos gases liberados pelo piezômetro foi necessária a adaptação do coletor de amostras (jarra de inox). Também foi adaptada uma mangueira para fiação elétrica a uma máscara de vapores orgânicos, para evitar a inalação desses gases. Ressalta-se que a máscara adaptada foi utilizada somente nas primeiras amostragens, após a instalação do queimador, o mesmo era retirado e colocado após a coleta, o que facilitou a amostragem nesta célula. As adaptações estão apresentadas nas Figuras 4.3 e 4.4 e as amostragens do líquido lixiviado da célula AC05 e emergencial podem ser visualizados nas Figuras 4.5 e 4.6.



FIGURA 4.3: Jarra adaptada para coleta do líquido lixiviado da célula AC05



FIGURA 4.4: Máscara adaptada para respiração, durante as primeiras amostragens do líquido lixiviado da célula AC05



FIGURA 4.5: Amostragem do líquido lixiviado no piezômetro da célula AC05



FIGURA 4.6: Amostragem do líquido lixiviado no piezômetro da célula emergencial

## **4.2 Caracterização físico-química dos líquidos lixiviados**

Embora vários outros aspectos físico-químicos, além dos discutidos neste trabalho, sejam importantes na análise do líquido lixiviado, apenas alguns deles serão monitorados, temperatura, condutividade, pH e potencial redox.

### **4.2.1 Caracterização do pH, temperatura e potencial redox**

O pH, temperatura e potencial redox foram caracterizados com equipamento de medição de campo, durante as amostragens. Os parâmetros foram caracterizados com auxílio de um pHmetro da DIGIMED, modelo DM-20. Para caracterização de cada parâmetro utilizou-se o eletrodo específico juntamente com um termocompensador (temperatura a 25°C). A caracterização seguiu os procedimentos do Standard Methods (1998).

### **4.2.2 Caracterização da condutividade**

A condutividade também foi caracterizada durante a amostragem com o auxílio de equipamento de medição de campo. Utilizou-se um condutivímetro da DIGIMED, modelo DM-3 com o eletrodo específico para condutividade. Esta caracterização foi realizada

conforme recomendações do STANDARD METHODS (1998). Na Figura 4.7 estão apresentados os equipamentos utilizados para medição dos parâmetros físico-químicos. Figuras 4.8 e 4.9 visualizam-se a medição desses parâmetros na célula AC05 e emergencial.



FIGURA 4.7: Equipamentos utilizados para medição dos parâmetros físico-químicos



FIGURA 4.8: Medição dos parâmetros físico-químicos da célula AC05



FIGURA 4.9: Medição dos parâmetros físico-químicos da célula emergencial

### 4.3 Caracterização Microbiológica dos Líquidos Lixiviados

#### 4.3.1 Infra-estrutura para a realização das análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Fundação Ezequiel Dias/FUNED, em Belo Horizonte/MG, por meio de convênio de cooperação técnico-científica. Foram utilizadas também as infra-estruturas do setor de lavagem e esterilização de materiais e do setor de produção de meios de cultura. Após a coleta, as amostras foram transportadas em caixas isotérmicas com gelo para o referido laboratório, onde foram imediatamente processadas.

##### 4.3.1.1 Parâmetros Microbiológicos

Os parâmetros pesquisados foram os microrganismos indicadores de contaminação fecal e os de interesse médico em controle de infecção hospitalar. Foram escolhidos representantes de cada grupo, conforme descrição sumarizada na Tabela 4.2.

**Tabela 4.2: Microrganismos pesquisados no líquido lixiviado do aterro sanitário de Belo Horizonte e sua importância**

<b>Microrganismos pesquisados</b>	<b>Importância dos microrganismos</b>
Contagem de bactérias aeróbias	estima número total de microrganismos na amostra
Coliformes totais e coliformes termotolerantes	indicação de poluição fecal
Grupo <i>Enterococcus</i>	indicação de poluição fecal e origem da poluição fecal
<i>Clostridium perfringens</i>	indicação de poluição ambiental mais remota
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	comumente causadores de infecção hospitalar e encontrados nos RSS
<i>Staphylococcus aureus</i>	comumente causadores de infecção hospitalar e encontrados nos RSS

#### 4.3.2 Estabelecimento das metodologias para as análises microbiológicas do líquido lixiviado

Devido à inexistência de metodologias específicas para análise microbiológica de líquidos lixiviados de aterro sanitário, foram testados os procedimentos do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (AWWA/APHA/WEF, 1998) e Compendium for the Microbiological Methods of Food (APHA/2001), para análise microbiológica de água e de alimentos, respectivamente.

Visando atingir os objetivos propostos, foram empregadas várias técnicas para detecção dos microrganismos no líquido lixiviado, desenvolvidas em etapas presuntiva e confirmativa, com meios de culturas seletivos e diferenciais. Essas técnicas e suas respectivas aplicações encontram-se sumarizadas na Tabela 4.3 e descritas a seguir.

**Tabela 4.3: Técnicas testadas para detecção dos microrganismos no líquido lixiviado do aterro sanitário de Belo Horizonte, com as respectivas aplicações e etapas de desenvolvimento**

Técnica testada	Aplicação da técnica	Etapas de desenvolvimento
Tubos Múltiplos	análise quantitativa e qualitativa de coliformes totais, coliformes termotolerantes, grupo <i>Enterococcus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	presuntiva e confirmativa
Tubos Múltiplos	análise quantitativa e qualitativa do grupo <i>Enterococcus</i>	confirmativa
Tubos Múltiplos	análise quantitativa e qualitativa de coliformes totais e <i>Escherichia coli</i>	confirmativa
Substrato Cromogênico	coliformes totais e <i>Escherichia coli</i>	confirmativa
Presença e Ausência	detecção da presença e ausência de coliformes totais, <i>Escherichia coli</i> e grupo <i>Enterococcus</i>	confirmativa
Plaqueamento em Superfície (“spread plate”)	análise quantitativa e qualitativa de <i>Staphylococcus aureus</i>	presuntiva e confirmativa
Plaqueamento em Profundidade (“pour plate”)	análise quantitativa e qualitativa de <i>Clostridium perfringens</i> e contagem de bactérias aeróbias	presuntiva e confirmativa

#### 4.3.2.1 Técnica de Tubos Múltiplos

Utilizou-se essa técnica para determinação de coliformes totais, coliformes termotolerantes, grupo *Enterococcus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Neste experimento trabalhou-se até a 5ª diluição com série de 5 tubos por diluição, na determinação de coliformes totais, termotolerantes e *Pseudomonas aeruginosa* e série de 10 tubos por diluição para o grupo *Enterococcus*.

- Coliformes totais e coliformes termotolerantes

##### Teste Presuntivo para coliformes totais

Inicialmente as amostras foram diluídas, homogeneizadas por inversão 25 vezes, e com pipetas esterilizadas foram inoculados 10mL das diluições sequenciais, em cada um dos cinco tubos de cada série contendo caldo lauril sulfato triptose (LST), em concentração dupla e com tubos de Durham invertidos. Os tubos devidamente identificados foram incubados a 35°C por 24-48 horas. Após esse período foi efetuada a leitura dos tubos, sendo considerados positivos os tubos com produção de ácido ou gás, devido à fermentação da lactose existente no meio de cultura LST, os quais foram submetidos ao teste confirmativo para coliformes totais.

##### Teste confirmativo para coliformes totais

A partir de cada tubo positivo de caldo lauril sulfato triptose, foi transferida uma alçada (com o auxílio de uma alça de platina) para tubos contendo caldo lactosado verde brilhante (CVB) com tubos de Durham invertidos. Os tubos foram incubados a 35°C por 24-48 horas. Observou-se a produção de gás a partir da fermentação da lactose no CVB, o que indicou a

presença de bactéria do grupo coliforme. Anotou-se o número de tubos positivos. O resultado foi expresso como NMP/100mL, de coliformes totais obtidos através da tabela do Standard Methods correspondente ao volume inoculado e combinação de tubos positivos. (Tabela A.10 do anexo). Os tubos positivos foram submetidos a testes confirmativos para coliformes termotolerantes.

#### Teste confirmativo para coliformes termotolerantes

Consistiu-se na transferência de uma alçada de cada tubo positivo de caldo lactosado verde brilhante para tubos correspondentes de caldo EC com tubos de Durhan invertidos. Incubaram-se os tubos em banho maria a 44°C durante 24 horas. Procedeu-se a leitura dos tubos, considerando positivos os tubos com formação de gás e reportou-se o resultado como NMP/100mL de coliformes termotolerantes.

A não ocorrência de gás após 24-48 horas de incubação, teste presuntivo e confirmativo para coliformes totais e após 24 horas, teste confirmativo para coliformes termotolerantes, indicou ausência de coliformes totais e coliformes termotolerantes no líquido lixiviado.

#### Isolamento de *Escherichia coli*

A partir dos tubos positivos de caldo *Escherichia coli* (EC), foi semeada uma alçada em placa de Petri contendo ágar Macconkey. As placas foram incubadas a 35°C por 48 horas. Após este período, procedeu-se a leitura das placas e verificou-se o crescimento de colônias características e não características de *Escherichia coli*. Essas colônias foram submetidas à prova de Gram e provas bioquímicas, catalase, oxidase e Rugai modificado.

Este procedimento foi realizado somente nas 5 primeiras coletas com o objetivo de isolar as colônias do coliforme fecal - *Escherichia coli*, para posterior realização de antibiograma. No entanto, como a *Escherichia coli* é suscetível a diversos antibióticos, optou-se por não fazer o antibiograma, sendo descartada a realização desta etapa nas amostragens posteriores.

- Grupo *Enterococcus*

#### Teste Presuntivo

Consistiu-se na inoculação de 10mL das diluições decimais das amostras em tubos com caldo dextrose azida (CDA) de concentração dupla, os quais foram incubados a 35°C durante 48 horas. Na leitura foram considerados positivos os tubos que apresentaram turvação e/ou precipitado. Os tubos positivos foram submetidos a teste confirmativo.

### Teste Confirmativo

Foi semeada uma alçada de cada tubo positivo de caldo dextrose azida em placas de ágar *Enterococcus* contendo bile esculina. As placas foram identificadas em correspondência com os tubos positivos e incubadas em posição invertida a 35°C durante 24-48 horas. Procedeu-se a leitura das placas e verificou-se o crescimento de colônias típicas de *Enterococcus* colônias castanho enegrecidas com halo marrom, indicativas da hidrólise da esculina. Essas colônias foram submetidas à coloração de Gram e teste de diferenciação do grupo *Enterococcus*.

A não ocorrência de turvação e/ou precipitado nos tubos de caldo dextrose azida (teste presuntivo) e o não crescimento de colônias castanho enegrecidas com halo marrom nas placas de ágar enterocos (teste confirmativo), após 48 horas de incubação, indicou a ausência do grupo *Enterococcus* no líquido lixiviado.

- Teste de diferenciação do grupo *Enterococcus*

A partir do ágar enterocos transferiram-se as colônias típicas e isoladas para tubos contendo caldo BHI com 6,5% de NaCl. Os tubos foram incubados a 35°C por 48 horas e observou-se a ocorrência ou não de crescimento, através da turvação do meio de cultura. Foram considerados positivos os tubos que apresentaram turvação do meio de cultura, indicando a presença de *Enterococcus*. Dentre os *Streptococcus faecalis*, apenas os *Enterococcus* crescem em 6,5% de NaCl. Anotou-se o número de tubos positivos e o resultado foi expresso em NMP/100mL de *Enterococcus*, obtidos através da tabela do Standard Methods correspondente ao volume inoculado e a combinação de tubos positivos (Tabela A.9).

- *Pseudomonas aeruginosa*

### Teste Presuntivo

Após as diluições seqüenciais, foram inoculados 20mL da amostra em tubos contendo caldo asparagina em concentração dupla. Esses tubos foram incubados a 35°C durante 24-48h. Procedeu-se a leitura dos tubos, considerando positivo os tubos que apresentaram turvação e produção de um pigmento esverdeado e fluorescente, visível em presença de luz ultravioleta. Os tubos positivos foram submetidos ao teste confirmativo.

### Teste Confirmativo

O ensaio confirmativo para *Pseudomonas aeruginosa* consistiu na transferência de uma alçada de cada tubo positivo de caldo asparagina, para tubos correspondentes de caldo acetamida. Esses tubos foram incubados a 35°C durante 24-48h. Após esse período realizou-se a leitura dos tubos, considerando positivo os tubos que apresentaram viragem alcalina do

indicador vermelho de fenol, mudando a cor do meio, que inicialmente era vermelho para rosa púrpura. O resultado foi expresso em NMP/100mL, de *Pseudomonas aeruginosa*, segundo Tabela A.9 do anexo. Na Figura 4.10 encontram-se demonstrados os testes presuntivo e confirmativo para detecção da *Pseudomonas aeruginosa*.

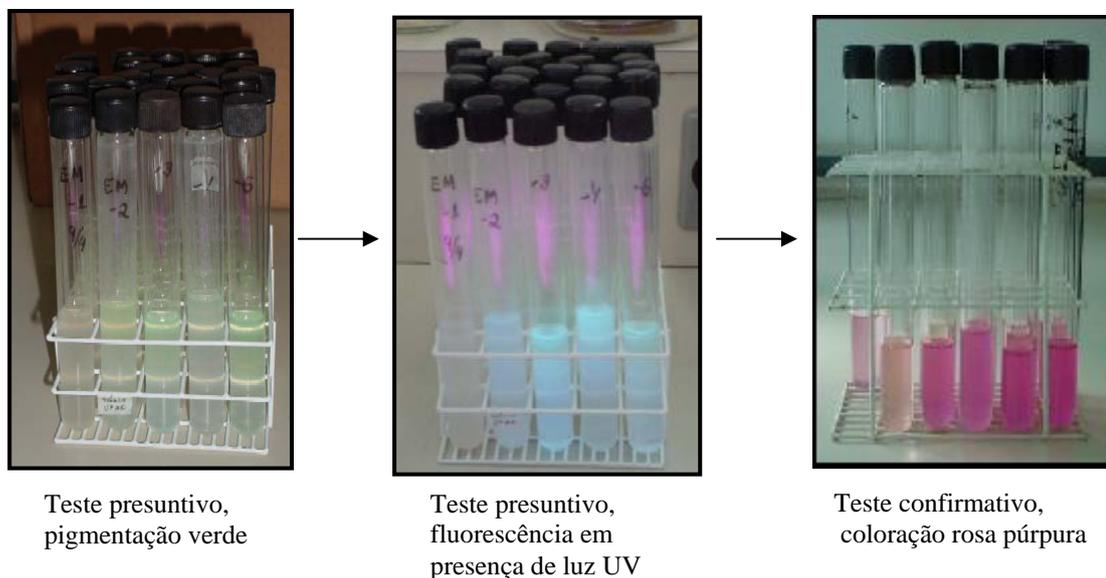


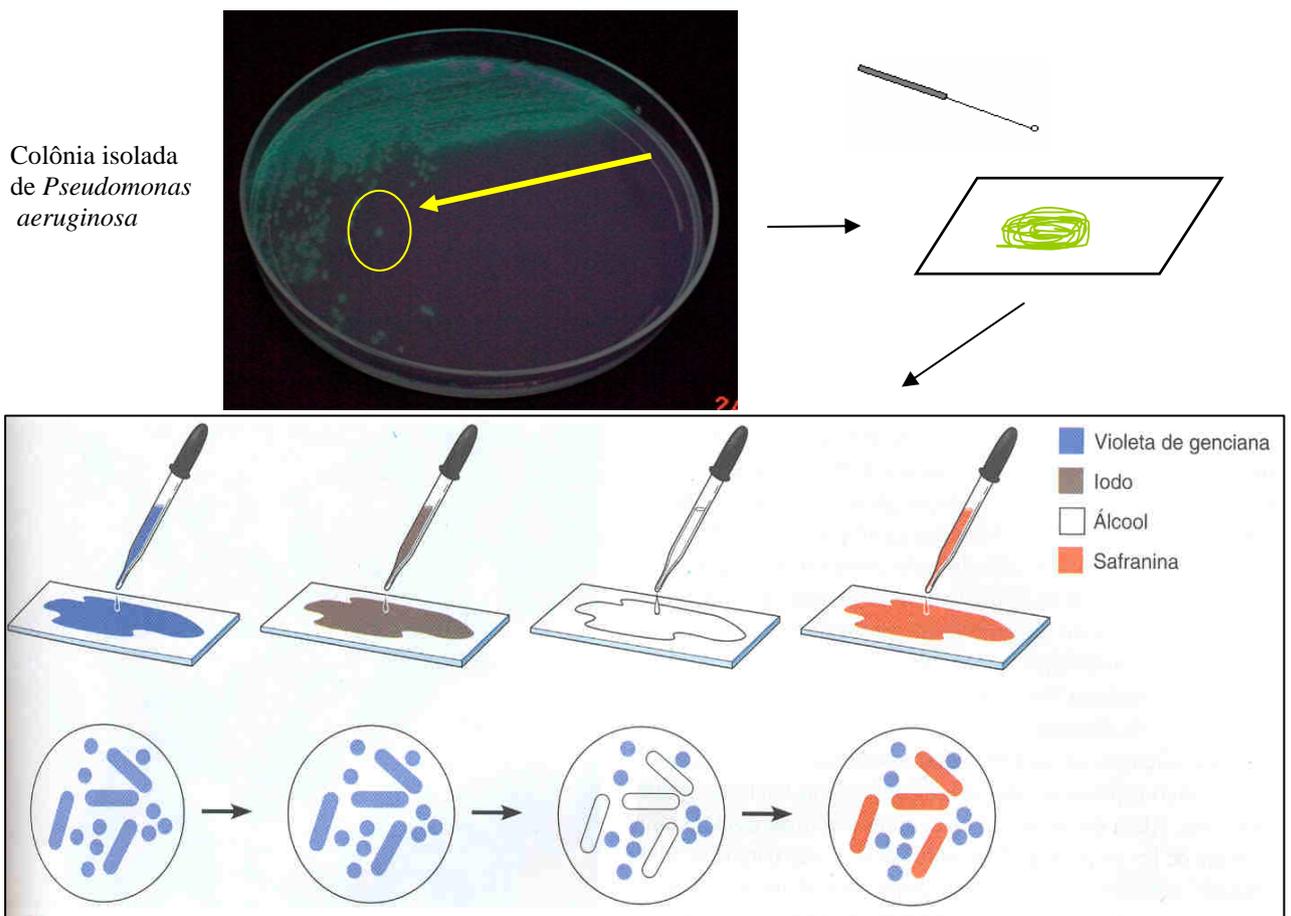
FIGURA 4.10: Testes presuntivo e confirmativo para detecção de *Pseudomonas aeruginosa* no líquido lixiviado

Foram considerados resultados negativos para *Pseudomonas aeruginosa* os tubos de caldo asparagina que não apresentaram fluorescência e os tubos de caldo acetamida (teste presuntivo) que não apresentaram mudança na coloração do meio (teste confirmativo, após 24-48 horas de incubação).

#### Isolamento de *Pseudomonas aeruginosa*

A partir dos tubos positivos de caldo acetamida, foi semeada uma alçada em placa de Petri contendo ágar cetrimida. As placas foram incubadas a 35°C por 48 horas. Realizou-se a leitura das placas e considerou-se como colônias características de *Pseudomonas aeruginosa* aquelas que apresentaram cor esverdeada e aspecto mucóide. Para confirmação dos resultados, essas colônias foram submetidas à prova de Gram, catalase, oxidase, Rugai modificado e, eventualmente, à prova de oxidação e fermentação (OF).

Após a realização dessas provas, as cepas confirmadas como *Pseudomonas aeruginosa* foram submetidas ao antibiograma. O isolamento da *Pseudomonas aeruginosa*, prova de Gram, as provas Rugai modificado e OF podem ser observadas nas Figuras 4.11, 4.12. e 4.13.



Fonte: TORTORA, 2000

FIGURA 4.11: Isolamento de *Pseudomonas aeruginosa* e coloração de Gram

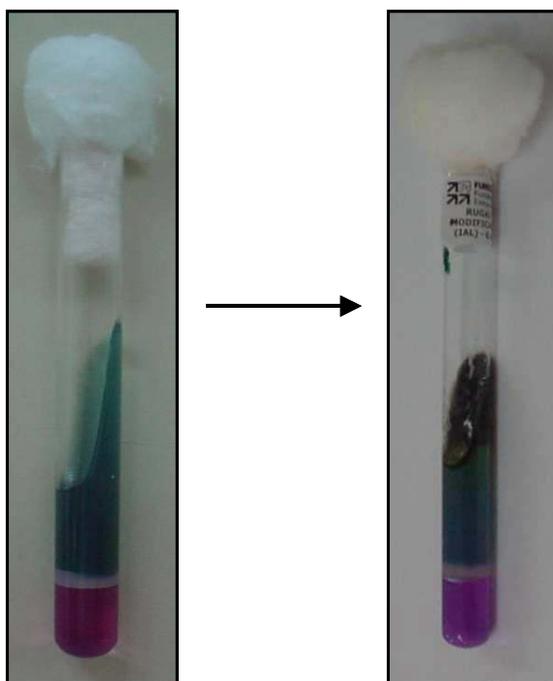


FIGURA 4.12: Prova bioquímica Rugai Modificado da colônia isolada de *Pseudomonas aeruginosa*

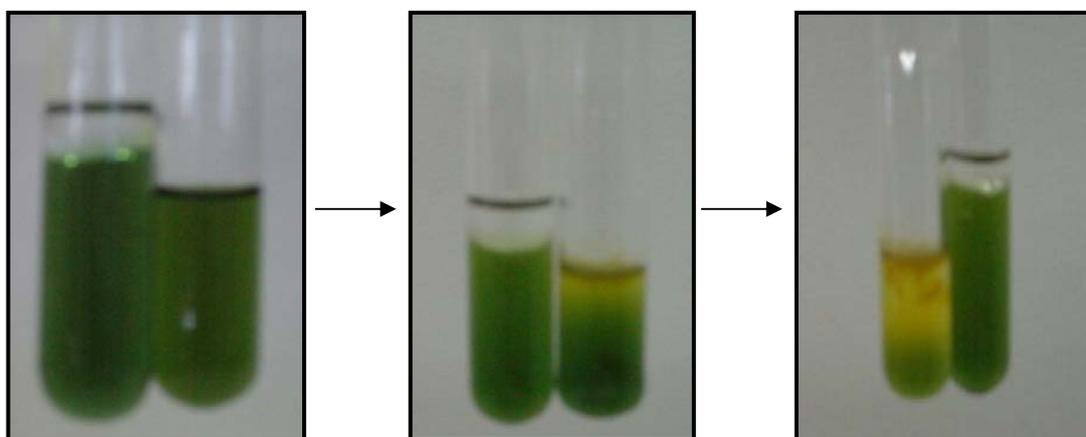


FIGURA 4.13: Prova bioquímica OF para confirmação de *Pseudomonas aeruginosa*

## Avaliação da susceptibilidade aos antimicrobianos dos microrganismos de interesse da CCIH

A avaliação da susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* isoladas dos líquidos lixiviados das células em estudo, foi realizada pela metodologia de difusão de discos, por meio de suspensão bacteriana direta, segundo as normas estabelecidas pelo National Commite For Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2002).

Foram testados os antibióticos mais comumente eficazes para o tratamento de infecções causadas por estas bactérias, conforme consta na Tabela 4.4.

**Tabela 4.4: Antibióticos e concentrações utilizadas para o antibiograma das cepas *Pseudomonas aeruginosa***

Antibióticos	Siglas dos antibióticos	Concentração dos discos de antibióticos
Carbenecilina	CAR	100mcg
Ceftazidima	CAZ	30mcg
Ciprofloxacina	CIP	5mcg
Cefepime	CPM	30mcg
Ceftriaxona	CRO	30mcg
Gentamicina	GEN	10mcg
Imipenem	IPM	10mcg

Fonte: NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS, 2002.

**Tabela 4.4: Antibióticos e concentrações utilizadas para o antibiograma das cepas de *Staphylococcus aureus***

Antibióticos	Siglas dos antibióticos	Concentração dos discos de antibióticos
Carbenecilina	CAR	100mcg
Ceftazidima	CAZ	30mcg
Ciprofloxacina	CIP	5mcg
Cefepime	CPM	30mcg
Ceftriaxona	CRO	30mcg
Gentamicina	GEN	10mcg
Imipenem	IPM	10mcg

Fonte: NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS, 2002.

As colônias isoladas de *Pseudomonas aeruginosa* foram inoculadas em tubos contendo solução salina, até atingir a turbidez padrão 0,5 na escala de McFarland. Obtida a turbidez padrão, foi mergulhado um swab de algodão não tóxico e estéril na suspensão bacteriana e semeou-se esta solução em placas de Petri contendo ágar Muller-Hinton. A semeadura foi feita em eixos diferentes para uma completa uniformidade da placa. Os discos de antibióticos foram depositados sobre a superfície da placa com auxílio de uma pinça estéril, mantendo

distância entre os discos para evitar a superposição de halos. Após a deposição dos discos, as placas foram incubadas em posição invertida a 35°C, durante 24 horas. Procedeu-se a leitura das placas medindo-se o diâmetro da zona de inibição dos halos com o auxílio de uma régua milimétrica.

Na Figura 4.14 pode ser observada a técnica de antibiograma e os halos de inibição.

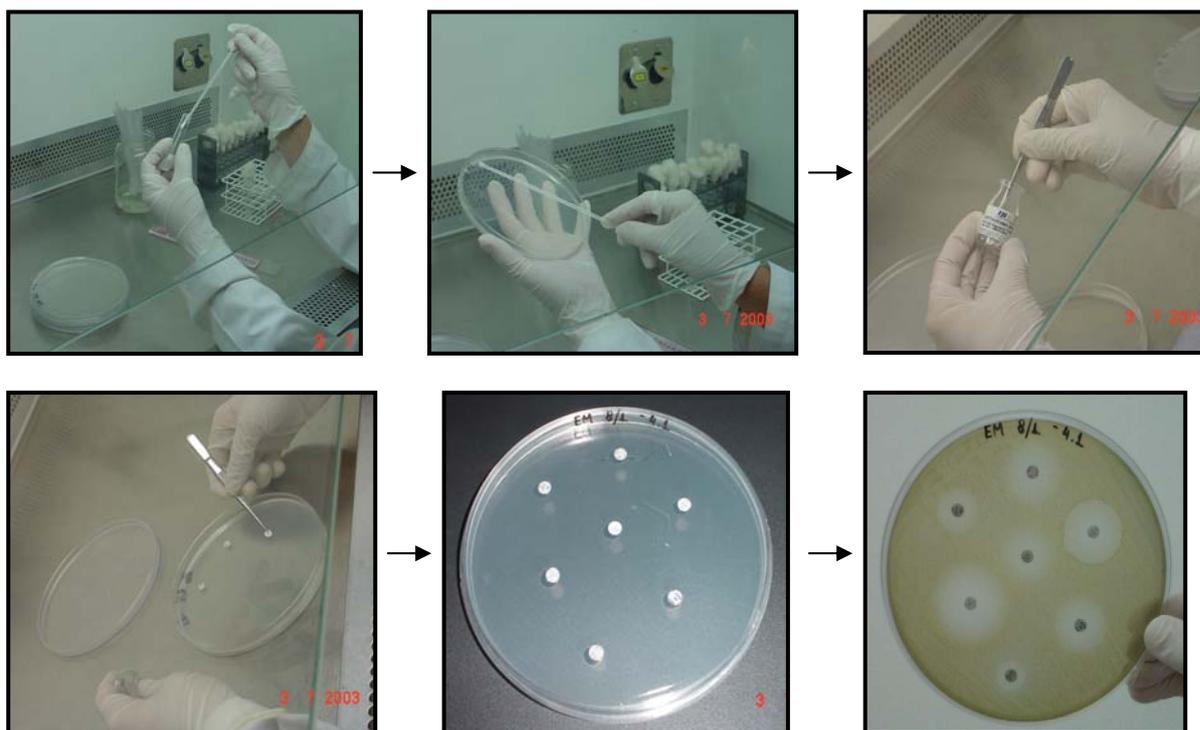


FIGURA 4.14: Antibiograma das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas do líquido lixiviado

A sensibilidade ou resistência das cepas foi determinada pela medida do diâmetro do halo, em milímetros, comparada ao estabelecido para cada antibiótico e de acordo com a concentração mínima padronizada internacionalmente para cada droga. Anotou-se o diâmetro dos halos e, conforme esse diâmetro, a cepa foi classificada como sensível (S), intermediária (I) ou resistente (R) aos antibióticos testados.

Ressalta-se que neste experimento as cepas resistentes a dois ou mais antibióticos, ou resistentes à ceftazidima ou ao imipenem, foram consideradas multirresistentes.

Normalmente, em casos de epidemias, as cepas intermediárias oriundas de amostras clínicas são consideradas multirresistentes, contudo para esta pesquisa, as cepas intermediárias não foram consideradas como resistentes por serem isoladas de uma amostra ambiental.

As colônias que cresceram dentro dos halos de inibição foram novamente cultivadas, isoladas, identificadas e submetidas ao antibiograma, visando a confirmação da resistência aos antibióticos e detecção de uma possível contaminação por outros microrganismos no meio de cultura Muller-Hinton.

Foi realizado o controle de qualidade da técnica empregada, utilizando-se cepas bacterianas de sensibilidade conhecida, frente às quais os anti-microbianos devem produzir determinados halos de inibição, caso a técnica tenha sido empregada corretamente.

#### 4.3.2.2 Técnica de Tubos Múltiplos com Substrato Cromogênico

Para a detecção do grupo *Enterococcus* foi testada a técnica de tubos múltiplos, porém com meio cromogênico (caldo Chromocult Enterococci, da MERCK).

A técnica consistiu na inoculação de 10mL das diluições decimais das amostras em tubos contendo caldo Chromocult Enterococci em concentração dupla. Os tubos foram incubados a 35°C durante 24 horas. Foram considerados positivos os tubos cujos meios apresentaram coloração esverdeada, conforme Figura 4.15. O resultado foi reportado em NMP/100mL de *Enterococcus*, conforme combinação dos tubos positivos (Tabela A.9 do anexo).



FIGURA 4.15: Detecção do grupo *Enterococcus* pela técnica de tubos múltiplos com (caldo Chromocult Enterococci)

#### 4.3.2.3 Técnica de Substrato Cromogênico

Paralelamente à utilização da técnica de tubos múltiplos foi também testada a técnica de substrato cromogênico da IDEX (colilert) para quantificação automática de coliformes totais e *Escherichia coli* com cartelas Quanti-Tray.

Acrescentou-se o conteúdo de um (1) frasconete de substrato cromogênico em cada frasco contendo 100mL de cada amostra e agitou-se os frascos até a dissolução total do meio de cultura. Posteriormente, transferiu-se o conteúdo de cada frasco para cartelas Quanti-Tray que foram seladas, identificadas e incubadas a 35°C por 24 horas. Procedeu-se a leitura das cartelas após 24 horas, considerando os compartimentos individuais (Weels) com coloração amarela positivos para coliformes totais e os compartimentos que ficaram fluorescente quando a cartela foi exposta a luz UV 365nm positivos para *Escherichia coli*.

O resultado foi expresso em NMP/100mL, de coliformes totais e *Escherichia coli*, conforme a contagem dos compartimentos amarelos e fluorescentes e consulta à tabela específica do Standard Methods (Tabela A.10 do anexo). Ressalta-se que na interpretação dos resultados comparou-se a coloração dos compartimentos individuais com o padrão colorimétrico da IDEX.

#### 4.3.2.4 Técnica de Presença e Ausência

Concomitantemente à utilização da técnica de tubos múltiplos foi testada a técnica de presença e ausência com os meios de cultura à base de substratos cromogênicos e fluorogênicos, o Readycult Coliformes e o Readycult Enterococci – meios seletivos e de enriquecimento para detecção simultânea de coliformes totais e *Escherichia coli*, grupo *Enterococcus*, respectivamente.

- Coliformes totais e *Escherichia coli*

Adicionou-se um frasconete com Readycult coliformes em frascos contendo 100mL de cada amostra. Os frascos foram agitados até a dissolução total do meio de cultura e incubados a 35°C por 24 horas. Realizou-se a leitura dos frascos considerando presença de coliformes totais em frascos cujos meios apresentaram coloração azul esverdeada, e presença de *Escherichia coli* em frascos cujos meios ficaram fluorescentes, quando expostos à luz ultravioleta (Figura 4.16). O resultado foi expresso como presença de coliformes totais e *Escherichia coli*.



FIGURA 4.16: Detecção simultânea de coliformes fecais e *Escherichia coli* pela técnica de presença e ausência com substrato cromogênico Readycult Coliformes

- Grupo *Enterococcus*

Adicionou-se um frascinete com Readycult Enterococci em frascos contendo 100mL das amostras. Os frascos foram agitados até a dissolução total do meio e incubados a 35° C, por 24 horas. Durante a leitura dos frascos, foi considerada a presença de *Enterococcus* e *Enterococcus* nos frascos cujos meios apresentaram coloração azul esverdeada (Figura 4.17). Reportou-se o resultado como presença de *Enterococcus*.



FIGURA 4.17: Detecção do grupo *Enterococcus* pela técnica de presença e ausência com substrato cromogênico Readycult Enterococci

#### 4.3.2.5 Técnica de Plaqueamento em Superfície (“spread plate”)

Técnica comumente utilizada para detecção de *Staphylococcus aureus* em alimento, adaptada para detecção deste microrganismo no líquido lixiviado.

## Teste presuntivo

Constituiu-se na inoculação de uma alíquota de 0,1mL de cada diluição das amostras, sobre a superfície de placas de Petri, previamente preparadas contendo ágar Baird-Parker (BP). O inóculo foi espalhado sobre a superfície do ágar, com auxílio de uma alça de Drigalshi, até sua completa absorção. As placas foram incubadas em posição invertida a 35°C, durante 48h. Após este procedimento efetuou-se a contagem das colônias típicas (colônias convexas de cor negra, brilhantes, rodeadas por um halo ou zona transparente) e atípicas de *Staphylococcus aureus*, separadamente, conforme Figuras 4.18 e 4.19. As colônias típicas e atípicas foram submetidas a coloração de Gram, teste de oxidase, catalase, coagulase, manitol e termonuclease, para confirmação do resultado.

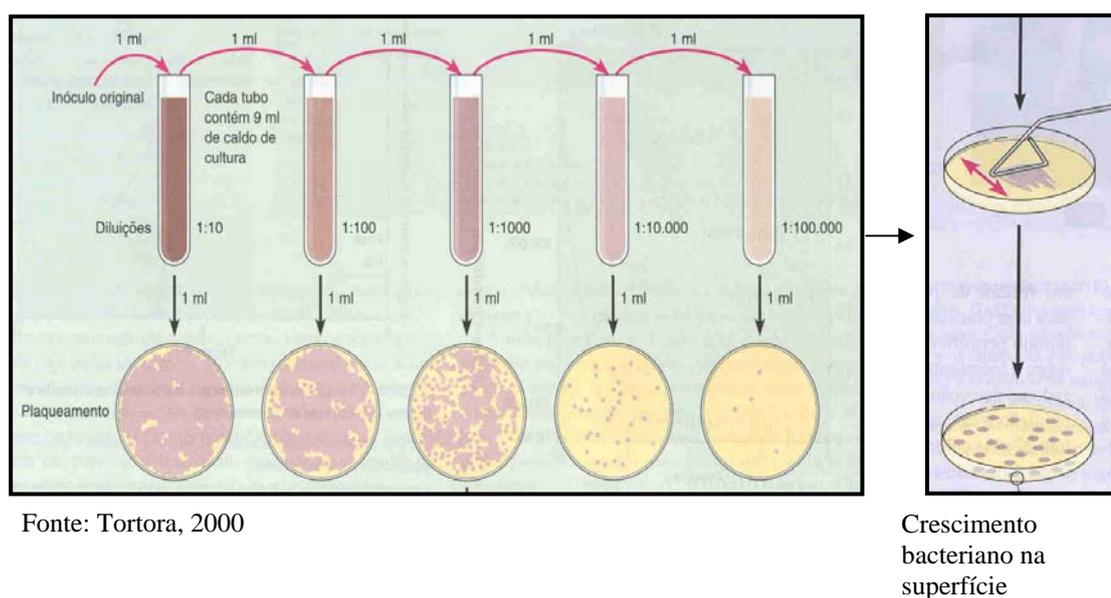


FIGURA 4.18: Técnica de plaqueamento em superfície



FIGURA 4.19: Plaqueamento em superfície para detecção de *Staphylococcus aureus* no líquido lixiviado

### Teste confirmativo

- Coagulase

Transferiu-se 5 colônias típicas e atípicas para tubos contendo 0,5 mL de caldo infusão cérebro coração (BHI), os quais foram incubados a 35°C por 12 horas. Posteriormente, adicionou-se 0,5 mL de plasma de coelho em cada tubo, incubando-os novamente por 12 horas à mesma temperatura. Procedeu-se à leitura dos tubos considerando positivos aqueles que apresentaram a coagulação do meio.

- Esterilização e inoculação de cepas de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva no líquido lixiviado

Este procedimento foi incluído visando confirmar a eficácia da técnica na recuperação *Staphylococcus aureus* coagulase positiva em líquidos lixiviados. Inicialmente, o líquido lixiviado das células AC05 e emergencial foi autoclavado a 121°C durante uma hora, para eliminar sua microbiota natural. Após atingir a temperatura ambiente, transferiu-se 20 mL do líquido de cada célula para tubos de ensaio previamente identificados e inoculou-se cepas de *Staphylococcus aureus*. Os tubos foram incubados a 35°C por 48 horas e após esse período foi semeada uma alíquota de 0,1mL do líquido lixiviado em placa de Petri contendo ágar Baird Parker e uma alçada do mesmo líquido em placa de Petri contendo ágar sangue. As placas foram incubadas a 35°C por 48 horas. Procedeu-se a leitura das placas fazendo a contagem das colônias presentes e anotou-se o resultado. Os tubos continuaram incubados e o procedimento de inoculação nas placas foi realizado diariamente até o momento que não houve crescimento das cepas no ágar Baird Parker e no ágar sangue.

Também foi semeada uma alíquota de 0,1mL do líquido lixiviado autoclavado e sem inoculação das cepas de *Staphylococcus aureus*, em placa de Petri contendo ágar Baird Parker e ágar sangue, para verificar a eficácia da esterilização. Realizou-se o mesmo procedimento descrito no parágrafo anterior, ou seja, verificou-se toda a microbiota do líquido lixiviado havia sido eliminada.

#### **4.3.2.6 Técnica de Plaqueamento em Profundidade (“pour plate”)**

Essa técnica foi utilizada para a contagem de bactérias aeróbias e análise quantitativa e qualitativa de *Clostridium perfringens* no líquido lixiviado.

- Bactérias aeróbias

Inoculou-se em duplicata uma alíquota de 1,0 mL de cada diluição adotada, em placa de Petri estéril, adicionou-se 15 a 20mL do ágar padrão para contagem (PCA), previamente fundido e estabilizado em banho-maria a 45°C, homogeneizou-se o inóculo e o PCA contidos na placa com movimentos circulares ou em forma de oito. As placas foram incubadas invertidas por 48h a 35°C. Após o período de incubação selecionou-se para leitura a duplicata de placas que continham entre 30 e 300 colônias por placa. A contagem foi realizada com auxílio de um contador de colônias. O resultado foi expresso em UFC/mL considerando-se a média aritmética da contagem obtida em cada uma das placas da duplicata.

- *Clostridium perfringens*

#### Teste presuntivo

Inoculou-se uma alíquota de 1,0 mL de cada diluição adotada em placa de Petri estéril, adicionou-se 20mL do ágar SPS, previamente fundido e estabilizado em banho-maria a 45°C, homogeneizou-se o inóculo e o ágar contidos na placa com movimentos circulares ou em forma de oito. As placas foram incubadas em jarras de anaerobiose com indicadores de anaerobiose a 44°C, durante 48 horas. Após o período de incubação, contou-se as colônias características (colônias negras) e inoculou-se 5 dessas colônias em caldo tioglicolato para posteriores testes confirmativos.

#### Teste confirmativo

O teste confirmativo constituiu-se na inoculação de uma alíquota de 1mL de cada tubo de tioglicolato para um tubo de leite tornassolado (Litmus milk) correspondente. Esses tubos foram incubados em banho maria a 44° C durante 12 horas. Considerou-se teste positivo para *Clostridium perfringens* os tubos que apresentaram coagulação, acidificação e formação de gás. O *Clostridium perfringens* fermenta o leite tornassolado, provocando coagulação, fermentação da lactose com produção de gás que é evidenciada pela mudança de coloração lilás para rosa do indicador de pH, o tornassol. O resultado foi expresso em UFC/mL.

Na Figura 4.20 observa-se a prova confirmativa para *Clostridium perfringens*

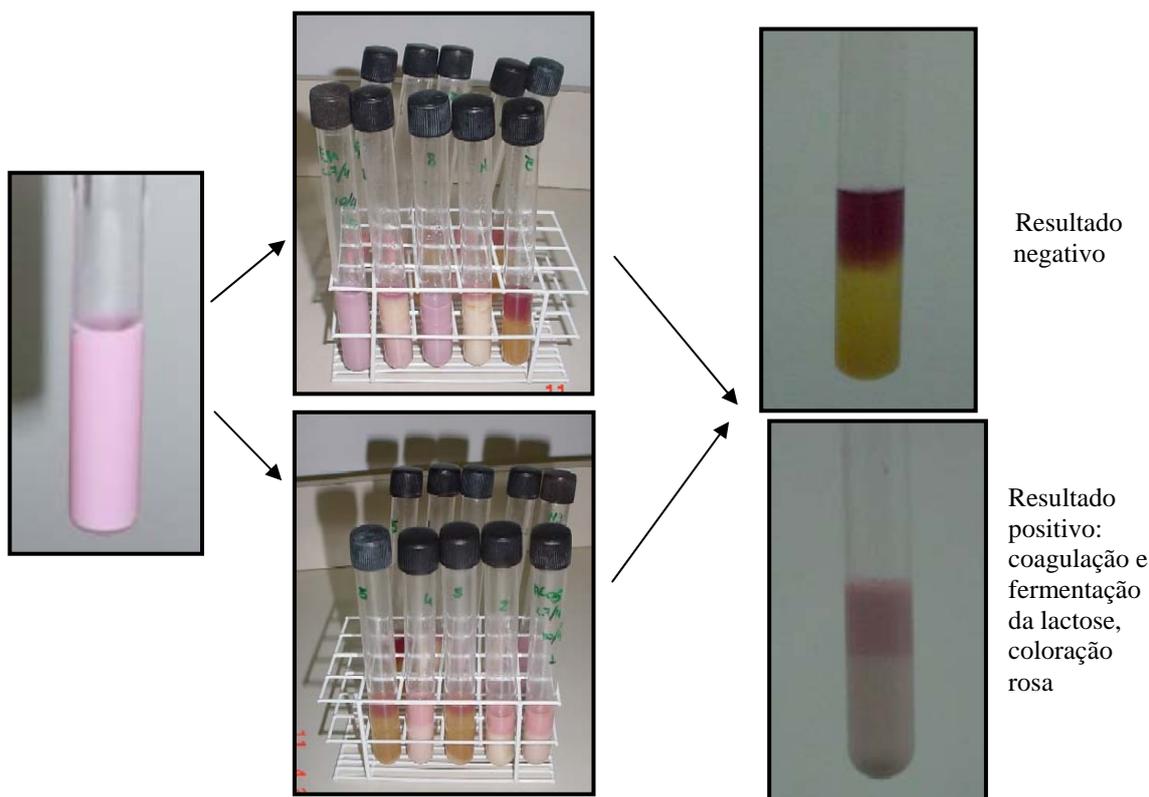


FIGURA 4.20: Teste confirmativo para *Clostridium perfringens* utilizando leite tornassolado

Ressalta-se que a técnica de membrana filtrante não foi testada nesta pesquisa devido as contra-indicações para amostras ambientais com características similares ao líquido lixiviado (alta turbidez, presença de metais pesados, dentre outras), como já descrito anteriormente na revisão da literatura.

#### 4.4 Tratamento e análise estatística dos dados

Para avaliação dos resultados referentes aos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do líquido lixiviado das células AC05 e emergencial, obtidos durante o decorrer da parte experimental, foi desenvolvida análise estatística descritiva dos dados como valores máximos, mínimos, médios, mediana e desvio padrão. Entretanto, visando detectar possíveis diferenças e associações entre as variáveis pesquisadas, complementou-se o estudo estatístico, aplicando o teste de sinais de Wilcoxon, teste do qui-quadrado -  $X^2$  e análise multivariada (análise fatorial por componentes principais).

O teste de wilcoxon é indicado no caso de tratamento simultâneo de várias amostras, eventualmente pequenas, independente da forma da distribuição das variáveis estudadas e em casos que os dados são apresentados em postos (número atribuído a um ítem da amostra individual, segundo sua ordem na lista), em escalas ordinais, etc. Restringe-se aos dados em que as distribuições sejam contínuas.

O teste dos sinais é aplicável no caso de duas amostras relacionadas quando o pesquisador deseja determinar se duas condições são diferentes, ou seja, testar a igualdade ou equivalência de dois processos. Segundo TRIOLA (2003), o teste se baseia em postos das diferenças entre os pares de dados. O teste utiliza apenas os sinais das diferenças, mas não seus valores numéricos. Pode ser aplicado também, a uma afirmação sobre a mediana de uma população.

Assim, o teste dos sinais foi aplicado com o objetivo de verificar a existência de diferença entre os valores dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do líquido lixiviado das células AC05 e emergencial, em relação ao tempo de aterramento dos resíduos e ao processo de disposição final destes resíduos.

Para descrever a associação das diversas variáveis pesquisadas (parâmetros físico-químicos e microbiológicos) entre si e destas com as observações (células AC05 e emergencial), utilizou-se a técnica de análise fatorial por componentes principais. Com esta técnica os fatores são obtidos a partir de uma decomposição da matriz de correlação (ou de covariância), tendo como resultado cargas fatoriais, que indicam o quanto cada variável está associada a cada fator e os autovalores associados a cada um dos fatores envolvidos.

Para SAMPAIO (1993), a análise multivariada pode ser utilizada em situações onde o número restrito de observações pode colocar em risco a qualidade do estudo e quando as respostas experimentais são medidas quantitativamente. Desta forma, optou-se por esta análise, uma vez que o experimento constou de 25 observações e os dados obtidos foram quantitativos.

O alvo mais importante desta técnica é a solução gráfica do sistema, onde não só as variáveis, mas também as observações podem ser localizadas em planos fatoriais que indicam o grau de associação das mesmas e a existência de distintos agrupamentos, por meio de um espaço dimensional com até  $n$  eixos que podem justificar plenamente a variação total do sistema (SAMPAIO, 1998).

Segundo critérios citados por SAMPAIO (1993), primeiramente avalia-se os três primeiros eixos, ou seja, as três primeiras componentes principais. Tais componentes devem apresentar uma inércia de 70%, sendo que a primeira apresenta o maior valor de inércia e as demais são definidas sequencialmente no sentido decrescente, conforme seus respectivos valores de inércia.

O primeiro eixo fatorial corresponde àquele que maximiza a variância das projeções de todos os pontos do sistema. O que equivale dizer que a nuvem de pontos tem sua projeção sobre tal eixo maximizada. Este primeiro eixo será o que justificará mais plenamente a variação das observações no sistema e, portanto, conterà o maior valor de inércia entre os demais eixos ortogonais (SAMPAIO,1998).

Outro teste muito utilizado para estudar a associação entre variáveis é o teste do qui-quadrado. Este teste é indicado para trabalhos experimentais, nos quais as observações são classificadas e agrupadas em várias categorias descritivas (dados qualitativos). Então, como o resultado referente à avaliação da susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas do líquido lixiviado foi qualitativo (classificado em sensível, intermediário e resistente), analisou-se a associação destes dados aplicando o teste do qui-quadrado por meio da elaboração de uma tabela de contingência.

Em uma tabela de contingência as frequências correspondem a duas variáveis, uma variável que categoriza as linhas, e outra que categoriza as colunas. O cruzamento simultâneo de duas características qualitativas em cada unidade de observação, origina uma classificação combinada, que é a base informativa da tabelas de contingência. Essas podem ser tabelas de dupla entrada, nas quais os resultados dos experimentos são colocados, permitindo assim o cálculo  $X^2$  a partir de números absolutos, observados e esperados.

O tratamento estatístico foi executado com o auxílio dos softwares Microsoft Excel, programas Statistica 5.0, Minitab 13.0 e FORTRAM 66.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados são discutidos individual e comparativamente para as células AC05 e emergencial. São apresentados na forma de figuras para uma melhor visualização das variações ocorridas, além das planilhas A1 a A12 do anexo. A estatística descritiva é apresentada em forma de tabelas mostrando valores máximos, mínimos, médios, mediana e desvio padrão e a estatística dedutiva em forma de tabela resumo. Primeiramente, discute-se sobre as técnicas utilizadas para análise microbiológica do líquido lixiviado e em seqüência os resultados obtidos para os parâmetros físico-químicos e microbiológicos dos líquidos lixiviados e avaliação da susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas do líquido lixiviado das células AC05 e emergencial.

### 5.1 Técnicas Testadas para a Detecção de Microrganismos no Líquido Lixiviado

Neste item são avaliadas as técnicas testadas para identificação dos microrganismos pesquisados, bem como os meios de cultura utilizados e os possíveis interferentes nas análises microbiológicas.

#### 5.1.1 Técnica de tubos múltiplos

A técnica de tubos múltiplos, apesar de ser muito trabalhosa foi a mais versátil. Pode ser aplicada na detecção qualitativa e quantitativa de coliformes totais, coliformes termotolerantes, grupo *Enterococcus* e *Pseudomonas aeruginosa*, no líquido lixiviado, variando-se a série de tubos por diluição, o volume das alíquotas distribuídas em cada tubo e os meios de cultura, conforme as exigências nutricionais de cada microrganismo.

Normalmente, na aplicação das técnicas de tubos múltiplos utilizam-se meios de cultura seletivos e diferenciais. Na presente pesquisa, para esta mesma técnica testou-se os meios seletivos e diferenciais e substrato cromogênico.

- Técnica de tubos múltiplos com meios seletivos e diferenciais

A turbidez do líquido lixiviado não foi fator que dificultou a leitura dos resultados, ou seja, foi possível visualizar a formação de gás nos tubos de Durham na detecção de coliformes totais e coliformes termotolerantes. Na detecção do grupo *Enterococcus* e *Pseudomonas aeruginosa*, também foi possível visualizar a turvação ou formação de precipitado e fluorescência em presença de luz UV, respectivamente.

Porém, os meios utilizados, seletivos e diferenciais (caldo LST, CVB EC) permitiram o crescimento de outros microrganismos. Este fato foi confirmado quando isolou-se a *Escherichia coli* em ágar Macconkey a partir do caldo EC e detectou-se colônias de *Enterobacter*, *Klebsiella sp* e *Citrobacter* (coliformes termotolerantes) que também desenvolveram a 44,5°C. Os resultados obtidos corroboram com CERQUEIRA & SÁ HORTA (1999), no sentido que estes autores sugerem a utilização do termo coliformes termotolerantes ao invés de coliformes fecais.

Da mesma forma, na detecção da *Pseudomonas aeruginosa* foram isolados outros microrganismos no meio ágar cetrimida a partir do caldo acetamida, especificamente *Aeromonas sp*.

- Técnica de tubos múltiplos com substrato cromogênico

O meio utilizado nesta técnica demonstrou ser mais sensível, em relação aos meios seletivos e diferenciais (caldo dextrose azida e ágar enterocos). Além disso, obteve-se o resultado das análises em um período menor de incubação das amostras (24 horas) e não houve necessidade da realização de provas confirmativas adicionais.

Ressalta-se que esta técnica foi utilizada somente para a detecção do grupo *Enterococcus*, conforme já descrito no item 4.3.2.2.

### **5.1.2 Técnica de presença e ausência com substrato cromogênico**

Os meios de cultura Readycult coliformes e Readycult *Enterococcus* possibilitaram a detecção da presença dos coliformes totais, *Escherichia coli* e *Enterococcus*, em um período de 24 horas de incubação das amostras.

Para as doze (12) das quinze (15) análises realizadas com o meio Readycult o resultado foi positivo, ou seja, detectou-se a presença de coliformes totais e fecais e *Enterococcus*, respectivamente. Provavelmente, a detecção destes microrganismos analisados em todas as doze amostras pode ser devido à especificidade do meio que é hidrolizado por enzimas específicas de cada espécie de microrganismo (STANDARD METHODS, 1998).

A turbidez do líquido lixiviado não dificultou a leitura dos resultados, após o período de incubação determinado (24h). Foi possível visualizar a coloração azul esverdeada da amostra, que indicou presença do grupo coliformes, e fluorescência sob luz ultravioleta que indicou

presença da *Escherichia coli*, quando utilizou o meio ReadyCult coliformes. Na detecção do grupo *Enterococcus* com o meio ReadyCult *Enterococcus*, também foi possível visualizar a coloração azul esverdeada que indicou a presença deste grupo.

A detecção de microrganismos no líquido lixiviado utilizando meios de cultura à base de substrato cromogênico permitiu a obtenção de resultado em um período de incubação menor (24h), que aquele necessário para as técnicas tradicionais (48h) que utilizam meios presuntivos e confirmativos. Ademais, estas últimas exigem provas confirmativas adicionais, além das 48 horas.

### **5.1.3 Técnica do substrato cromogênico (colilert)**

A técnica do substrato cromogênico (colilert) não foi aplicável para a detecção de coliformes totais e fecais no líquido lixiviado, pois houve interferência da turbidez na visualização da mudança de cor das amostras, após o período de incubação requerido (24h). Sendo assim, não foi possível perceber a coloração amarela dos compartimentos individuais (células), que indicariam resultado confirmativo para coliformes totais, e a fluorescência sob luz ultravioleta, que indicaria resultado confirmativo para *E. coli*.

### **5.1.4 Técnica de plaqueamento**

Na presente pesquisa utilizou-se a técnica em profundidade para contagem de bactérias aeróbias e detecção de *Clostridium perfringens* e técnica de plaqueamento em superfície para detecção de *Staphylococcus aureus*.

- Técnica de plaqueamento em profundidade para contagem de bactérias aeróbias e detecção de *Clostridium perfringens*

A técnica de plaqueamento em profundidade para detecção de bactérias aeróbias proporcionou resultados satisfatórios. Houve o crescimento dos microrganismos nas diluições seriadas utilizadas, conforme descrito no item 4.3.2.6, sendo possível a contagem destas bactérias nas respectivas diluições.

A detecção de *Clostridium perfringens* por meio desta mesma técnica possibilitou o isolamento deste anaeróbio no líquido lixiviado, porém houve uma certa dificuldade de transferir a colônia isolada no meio de cultura ágar SPS para as provas bioquímicas sequenciais, devido ao seu crescimento agregado ao ágar.

Ressalta-se que provavelmente, a técnica de tubos múltiplos convencionalmente adotada para detecção deste anaeróbio em amostras de água seria a mais indicada para detectá-lo no líquido lixiviado, uma vez que esta técnica foi testada anteriormente e foi aplicável para este objetivo. Entretanto em função de ser uma técnica trabalhosa e demandar muito tempo de execução foi necessária a contratação de serviços externos para análise deste parâmetro. No entanto, nenhum dos laboratórios consultados aplicava esta técnica, e sim a de plaqueamento em profundidade comumente utilizada para detecção de clostrídios em alimento. Assim, a detecção de *Clostridium perfringens* no líquido lixiviado foi por meio da técnica de plaqueamento em profundidade.

- Técnica de plaqueamento em superfície para detecção de *Staphylococcus aureus*

Para detecção de *Staphylococcus aureus* no líquido lixiviado foi adaptada a técnica de plaqueamento em superfície para detecção desta espécie em amostras de alimento.

A referida técnica foi eficiente na recuperação das cepas padrão de *Staphylococcus aureus* inoculadas no líquido lixiviado esterelizado, tanto utilizando o meio de cultura ágar sangue como o Baird-Parker.

## **5.2 Parâmetros físico-químicos das células AC05 e emergencial**

Primeiramente, são discutidos os parâmetros individual e comparativamente, para cada célula e sequencialmente o delineamento estatístico dos mesmos.

### **5.2.1 Potencial Hidrogeniônico - pH**

Na Figura 5.1 são apresentados os resultados de pH dos líquidos lixiviados da célula AC05 e emergencial.

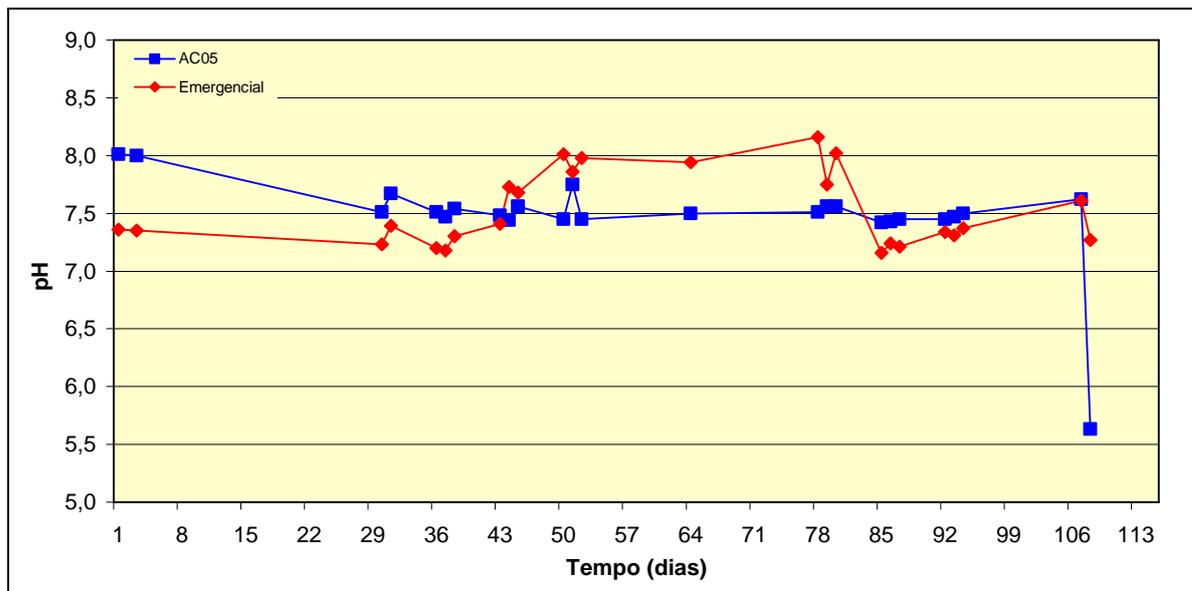


FIGURA 5. 1: Variação do pH nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial, em função do tempo

Observa-se que o pH do líquido lixiviado da célula AC05 manteve-se próximo da neutralidade (aproximadamente 7,5) durante todo o monitoramento com variações nas primeiras e na última coleta. No início o valor de pH foi mais elevado (aproximadamente 8,0), tendendo a uma maior alcalinidade. Esta elevação pode ter sido devido ao arraste de substâncias inorgânicas alcalinas (carbonatos, óxidos, etc.) pelas águas das chuvas.

Contrariamente, observa-se um decaimento significativo do pH na última coleta (aproximadamente 5,63), que pode ser atribuído ao direcionamento do líquido lixiviado de outro ponto da célula AC05 para o piezômetro 5A onde houve amostragem. Provavelmente, este líquido afluyente tinha outras características com caráter mais ácido e conseqüentemente resultou no decaimento do pH do líquido lixiviado desse piezômetro, uma vez que variações bruscas neste parâmetro pode ser devido ao despejo de soluções ácidas ou alcalinas.

Esperava-se que o pH do líquido lixiviado da célula AC05 fosse mais ácido, uma vez que esta célula ainda estava em operação durante as amostragens, ocorrendo o aterramento diário de resíduos (RSU e RSS). Entretanto, presume-se que, no período de amostragem a célula AC05 estava na fase metanogênica devido a aparente produção de gás, conseqüentemente, o consumo de ácidos voláteis característicos desta fase pode ter contribuído para a elevação do pH.

É importante ressaltar que apesar da suposição da fase metanogênica, o aterramento diário de resíduos causa uma grande variabilidade nas características do líquido lixiviado, sendo

possível a ocorrência das fases acetogênica e metanogênica simultaneamente, na mesma célula. Este fato também, pode ter influenciado na variação do valor do pH da célula AC05.

Uma outra explicação para esta ocorrência é que o uso de entulho da construção civil (pH alcalino) na cobertura das células tenha influenciado no pH da célula AC05, tornando-o neutro. Pode-se inferir que os aspectos construtivos do aterro (camadas) vão influenciar na circulação do líquido e conseqüentemente nas fases de digestão anaeróbia.

O pH da célula emergencial manteve-se na faixa de neutro a alcalino (7,0 a 8,0). Observa-se que os valores obtidos entre os dias 1 a 45 e 85 a 106 tenderam a neutro (7,0 a 7,5) e os obtidos entre os dias 46 a 82 tenderam a alcalino (7,5 a 8,0).

Esta variação observada pode ser devido a infiltração das águas de chuvas no piezômetro da célula emergencial, pois durante as amostragens que coincidiram com os dias chuvosos, o líquido lixiviado deste piezômetro era bombeado para outros pontos de coleta de líquido, para evitar o transbordamento do mesmo.

Em análise comparativa dos resultados de pH do líquido lixiviado obtidos nas duas células, verifica-se que os valores de pH da célula AC05 mantiveram-se mais constantes que aqueles da célula emergencial. As variações do pH ocorridas na célula emergencial foram mais acentuadas e ficaram na faixa de 7,0 a 8,0.

### **5.2.2 Temperatura**

Na Figura 5.2 são mostradas as temperaturas das amostras de líquido lixiviados de cada célula em estudo.

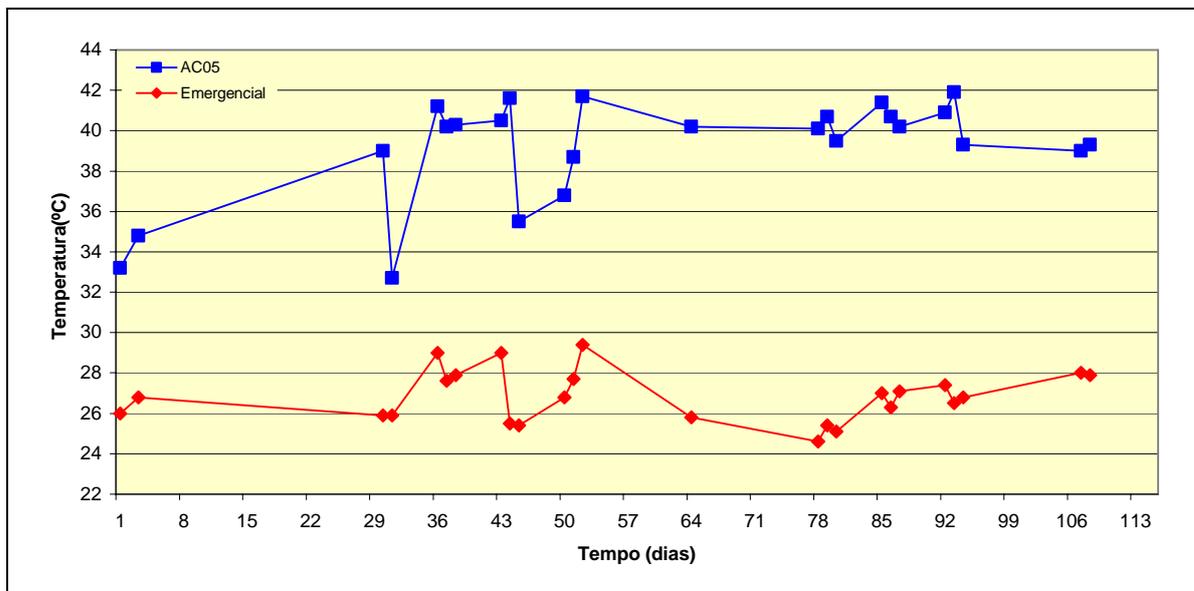


FIGURA 5. 2: Variação da temperatura nos líquido lixiviados das células AC05 e emergencial em função do tempo

Observa-se que a temperatura da AC05 manteve-se na faixa de 32 a 42°C e na célula emergencial manteve-se entre 24 a 30°C.

Comparando os resultados da célula AC05 e emergencial percebe-se que a temperatura da AC05 manteve-se mais elevada que da emergencial. Provavelmente, a célula AC05 estava em intensa atividade de degradação da matéria orgânica pelo fato de estar recebendo resíduos diariamente, durante o período das amostragens. Isto pode ter refletido em uma temperatura mais elevada.

É importante ressaltar que a temperatura das duas células, embora diferenciadas, possibilitou o desenvolvimento dos microrganismos em estudo, isto pode ser devido à capacidade que estes microrganismos têm de suportar faixa maiores de variação da temperatura.

### 5.2.3 Condutividade

Na Figura 5.3 são apresentados os resultados referentes à condutividade nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial.

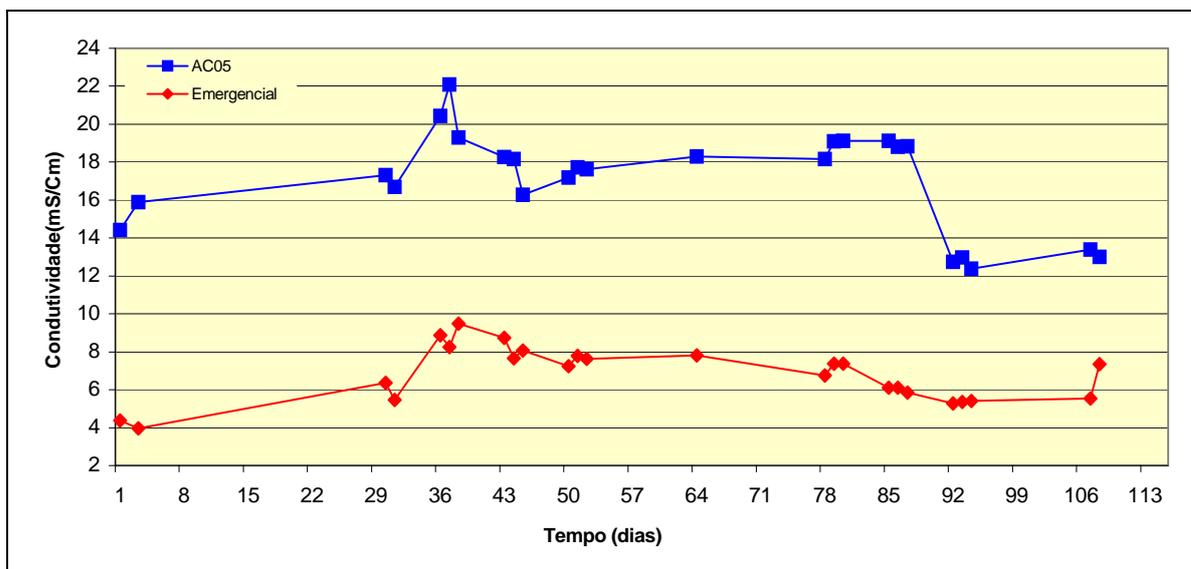


FIGURA 5. 3: Variação da condutividade nos líquido lixiviados das células AC05 e emergencial em função do tempo

Os valores da condutividade do líquido lixiviado da célula AC05, mantiveram-se aproximadamente entre 14 e 22mS/cm e na célula emergencial mantiveram-se entre 4 a 8mS/cm. Verifica-se que, em ambas as células houve variações do valor da condutividade. Estas variações podem ser explicadas pela mudança dos valores de pH e da temperatura observados no líquido lixiviado das células estudadas, uma vez que se constituem fatores de interferência na condutividade.

Outra explicação possível para esta ocorrência foi a incidência de chuva no período de amostragem que levou à diluição do líquido lixiviado e conseqüentemente variações nos valores da condutividade de ambas as células.

Em análise comparativa dos resultados obtidos entre a células AC05 e emergencial, verifica-se que a condutividade da célula AC05 foi superior à da emergencial ao longo do período avaliado. Isto pode ser devido, principalmente, ao estágio de aterramento de resíduos diferenciado de cada célula, que devido a características como temperatura mais elevada, favorece a solubilidade e arraste dos íons, contribuindo para o aumento da condutividade, dado que a célula AC05 recebia resíduos diariamente e apresentou maiores valores de temperatura.

Pode-se dizer que a condutividade decai ao longo do tempo, em um aterro sanitário, devido a estabilização da matéria orgânica, redução da temperatura, e conseqüentemente redução da solubilização de elementos inorgânicos, uma vez este parâmetro está relacionado com a presença de íons dissolvidos no líquido lixiviado.

## 5.2.4 Potencial Redox

Na Figura 5.4 são mostrados os valores de potencial redox dos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial.

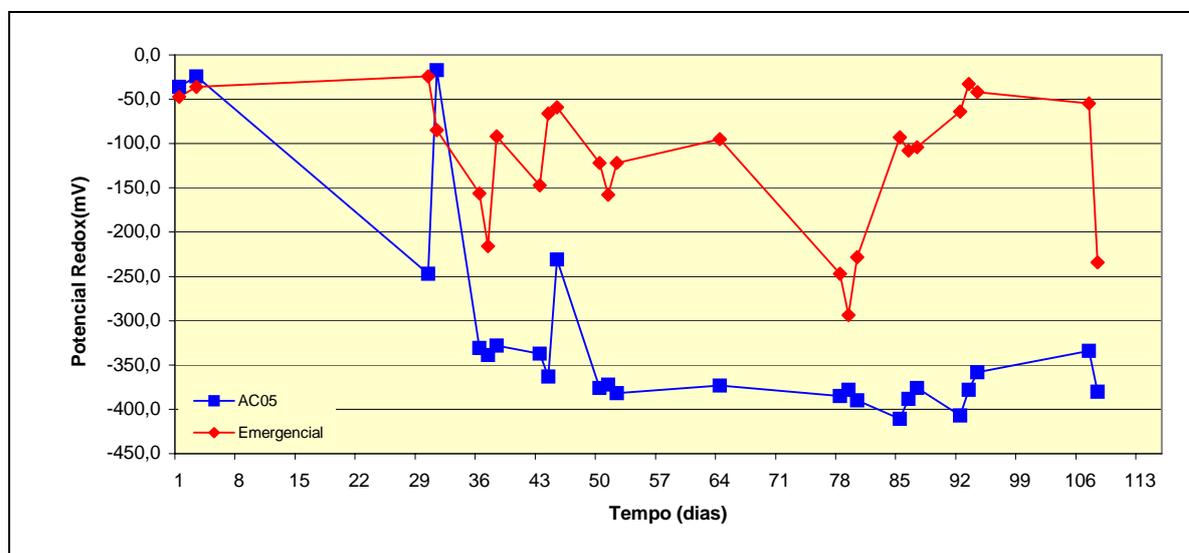


FIGURA 5. 4: Variação do potencial redox nos líquido lixiviados das células AC05 e emergencial em função do tempo

Os valores de potencial redox da célula AC05 ficaram na faixa de -400 a -25mV. Percebeu-se que a partir do dia 36 houve predomínio da condição -400 a -300mV.

Na célula emergencial os valores encontrados oscilaram entre -300 a -25mV. Apesar das oscilações verificadas, os valores detectados na maioria das amostragens mantiveram-se na faixa de -200 a -50mV.

Comparando-se os resultados das duas células é possível observar que tanto na AC05 como na emergencial os maiores valores foram obtidos nos 30 primeiros dias, coincidentemente com o período de maior precipitação, dando indícios de que a presença de oxigênio dissolvido nas águas de chuvas pode ter interferido nas condições de oxiredução do meio.

Observa-se também que os valores da célula AC05 mantiveram-se mais constantes e foram menores que os da célula emergencial, portanto mais redutor se encontrava o meio. Provavelmente, a não disponibilidade de oxigênio no meio também possa ter favorecido esta situação, pois o potencial redox está associado ao oxigênio dissolvido e quanto menor a quantidade de oxigênio mais redutor será o meio.

A diferença dos valores do potencial redox entre as duas células, também pode ser explicado pelos diferentes estágios do aterramento de resíduos nas mesmas. Durante o período das amostragens, a célula AC05 recebia resíduos diariamente, enquanto o referido processo já tinha encerrado a aproximadamente 5 anos na célula emergencial (Julho/1997). Assim, supõe-se que a AC05 estava em processo intenso de atividade biológica, com temperatura mais elevada, produção de gás, redução de O<sub>2</sub> e valores mais baixos de potencial redox. Já a emergencial, em processo mais avançado de estabilização da matéria orgânica, apresentou temperatura mais baixa, possivelmente redução da produção de gás, aparecimento de substâncias oxidadas, aumento da quantidade de O<sub>2</sub> e valores mais altos de potencial redox.

Ressalta-se que não foi monitorado a geração de gases nas células estudadas. Entretanto, a produção aparente de gás foi claramente percebida durante as coletas do líquido lixiviado no piezômetro da célula AC05, uma vez que foi necessária a adaptação de máscara para respiração, dada a intensidade da emanção dos gases no interior deste piezômetro.

Na emergencial não foi necessário o uso da máscara, pois não percebeu-se a emanção de gases neste piezômetro. Assim, a ausência aparente de gás e a cor mais clara do líquido lixiviado dava indícios de estabilização da matéria orgânica.

Uma outra hipótese é o fato da célula emergencial ter passado pelas três fases (acetogênica, metanogênica e alcalinogênica) do processo de biorremediação. Isto pode ter contribuído para a aceleração do processo natural de decomposição anaeróbia e conseqüentemente interferido no equilíbrio do sistema desta célula.

Além disso, os aspectos operacionais inerentes de um aterro sanitário podem ter influenciado na variação dos parâmetros físico-químicos monitorados. Na célula emergencial o líquido lixiviado às vezes era bombeado para evitar o transbordamento do piezômetro, pois suspeitava-se de infiltração das águas de chuva. Esta medida possivelmente favoreceu a entrada de oxigênio no meio, contribuindo para variações nos valores de potencial redox.

Na célula AC05, para evitar os “bolsões” (acúmulo localizado de líquido lixiviado) fazia-se a drenagem desse líquido para outros piezômetros existentes, inclusive para o piezômetro 5A, onde foi realizada a amostragem. Assim, supõe-se que a chegada do líquido drenado com outras características, pode também ter interferido no equilíbrio do meio e causado variações no sistema.

### 5.3 Tratamento e análise estatística dos dados

O tratamento estatístico dos resultados referentes aos parâmetros físico-químico dos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial baseou-se na estatística descritiva e dedutiva. São feitas algumas considerações sobre estatística descritiva de forma resumida e sequencialmente sobre a estatística não-paramétrica - teste de postos com sinais de wilcoxon.

#### 5.3.1 Estatística descritiva

Nas Tabelas 5.1 e 5.2, são apresentados os resultados para os parâmetros físico-químicos dos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial, obtidos pelo software Statistica versão 5.0.

**Tabela 5.1: Estatística descritiva para os parâmetros físico-químicos da célula AC05**

Parâmetros Físico-Químicos	Nº de Observações	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
pH	25	7,48	7,50	5,63	8,16	0,42
Temperatura (°C)	25	39,20	40,20	32,70	41,90	2,52
Potencial Redox (mV)	25	-317,65	-372,00	-411,00	-17,30	117,77
Condutividade (mS/Cm)	25	17,09	17,73	12,39	22,10	2,61

**Tabela 5.2: Estatística descritiva para os parâmetros físico-químicos da célula emergencial**

Parâmetros Físico-Químicos	Nº de Observações	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
pH	25	7,52	7,37	7,16	8,16	0,32
Temperatura (°C)	25	26,83	26,80	24,60	29,40	1,28
Potencial Redox (mV)	25	-117,08	-95,00	-294,00	-24,00	75,43
Condutividade (mS/Cm)	25	6,81	7,25	3,96	9,49	1,43

Observa-se que os valores médios de pH das células AC05 e emergencial estão próximos, respectivamente 7,48 e 7,52. Tais valores médios, segundo BROCK (2003) situam-se na faixa de pH ótimo para o desenvolvimento das bactérias em estudo e para uma boa atividade anaeróbia, cujos valores recomendáveis situam-se na faixa de 7,0 a 7,4. Verifica-se também que o pH estava favorável ao desenvolvimento das bactérias arqueometanogênicas.

Ademais, tanto os valores médios de pH da célula AC05 e da emergencial estão na faixa dos valores de pH para aterros novos (4,5 - 7,5) e consolidados (6,6 - 7,5), TCHOBANOGLOUS *et al* (1993).

Já os valores médios, referente às temperaturas dos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial apresentaram-se distintos, 39,2 e 26,83°C respectivamente, e propícios para desenvolvimento dos microrganismos estudados.

Com relação ao potencial redox verifica-se valores médios distintos, -317,65mV para a célula AC05 e -117,08mV para a emergencial. De forma similar, observa-se que os valores médios para a condutividade foram distintos, 17,09ms/cm para a AC05 e 6,81ms/cm para a emergencial.

Os valores médios de pH e temperatura do líquido lixiviado de ambas as células, atendem os padrões de lançamento no corpo receptor e na rede coletora de esgoto, conforme DN COPAM n.10/86 e T.187/00 da COPASA, cujos limites são 6-9 e <40°C; 6-10 e <40°C, respectivamente. Para condutividade e potencial redox não é exigido padrão de lançamento.

### 5.3.2 Teste de postos com sinais de wilcoxon

Com este teste foi possível avaliar se as diferenças observadas entre os valores dos parâmetros pesquisados, da célula ACO5 e emergencial foram significativas ( $p > 0,05$ ) ou não ( $p < 0,05$ ) e ainda aceitar ou rejeitar a hipótese. Foi fixado um nível de significância de 95%. Na tabela 5.3, é apresentado o resumo do resultado do teste de postos de sinais de wilcoxon.

**Tabela 5.3: Teste de postos com sinais de Wilcoxon para os parâmetros físico-químicos da célula AC05 e emergencial**

Parâmetros Físico-Químicos	N	Grupo 1	Grupo 2	P	H <sub>0</sub>	Conclusão
pH	25	AC05	EM	0,925	Aceitar	$\mu_1 = \mu_2$
Temperatura (°C)	25	AC05	EM	0,000	Rejeitar	$\mu_1 \neq \mu_2$
Potencial Redox (mV)	25	AC05	EM	0,000	Rejeitar	$\mu_1 \neq \mu_2$
Condutividade (mS/Cm)	25	AC05	EM	0,000	Rejeitar	$\mu_1 \neq \mu_2$

(H<sub>0</sub>): as medianas dos parâmetros físico-químicos da célula ACO5 e emergencial são iguais

(H<sub>1</sub>): as medianas dos parâmetros físico-químicos da célula ACO5 e emergencial não são iguais

Pela análise de teste de sinais, pode-se inferir que:

- a mediana dos valores de temperatura, potencial redox e condutividade foram significativamente diferentes entre si ( $p < 0,05$ ), para um nível de significância de 95%.

Portanto, a hipótese nula ( $H_0$ ) foi rejeitada e aceitou-se a hipótese alternativa  $H_1$ ,

- para a mediana dos valores de pH não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ), para um nível de significância de 95%. Portanto a hipótese nula ( $H_0$ ) foi aceita e rejeitou-se a hipótese alternativa  $H_1$ .

Este resultado estatístico reforça as diferenças observadas entre os valores de temperatura, condutividade e potencial redox do líquido lixiviado das células AC05 e emergencial, apresentados nas figuras 5.2, 5.3 e 5.4.

Conforme resultado do teste dos sinais, pode-se inferir que para este estudo, durante o período monitorado, os parâmetros temperatura, potencial redox e condutividade do líquido lixiviado foram mais afetados do que o pH e que o tempo de aterramento de resíduos é um dos fatores que supostamente interferiu na variação destes parâmetros, dado as fases diferentes de degradação da matéria orgânica.

Este resultado corrobora com dados da literatura (CASTILHO, 2003) que relata a variação destes parâmetros em relação às fases de degradação da matéria orgânica. Portanto, considerando que as características do líquido lixiviado estão associadas às fases de degradação da matéria orgânica presente nos resíduos, ao tempo de aterramento dos mesmos e à idade do líquido lixivado, pode-se dizer que quanto mais “maturado” (“velho”) um líquido lixiviado, menor seu valor de temperatura, condutividade e maior potencial redox, devido à estabilização da matéria orgânica.

Para os valores de pH não houve diferença significativa, apesar do diferente estágio de aterramento dos resíduos nas células estudadas. Como já mencionado, provavelmente, a célula AC05 estava na fase metanogênica, e o consumo de ácidos voláteis característicos desta fase de degradação da matéria orgânica contribuiu para a mudança do pH de ácido para neutro. Além disso, o uso de entulhos da construção civil como cobertura final desta célula, também pode ter contribuído para mantê-lo na faixa de neutro.

Visando uma melhor discussão desses parâmetros, foi realizada também, uma análise multivariada. O resultado desta análise encontra-se no item 5.6.4, pois os parâmetros físico-químicos e microbiológicos foram avaliados simultaneamente.

## 5.4 Parâmetros microbiológicos da célula AC05 e emergencial

### 5.4.1 Microrganismos indicadores de contaminação

- Coliformes totais e termotolerantes

Nas Figuras 5.5 e 5.6 são apresentados os resultados obtidos para coliformes totais e termotolerantes nas células AC05 e emergencial.

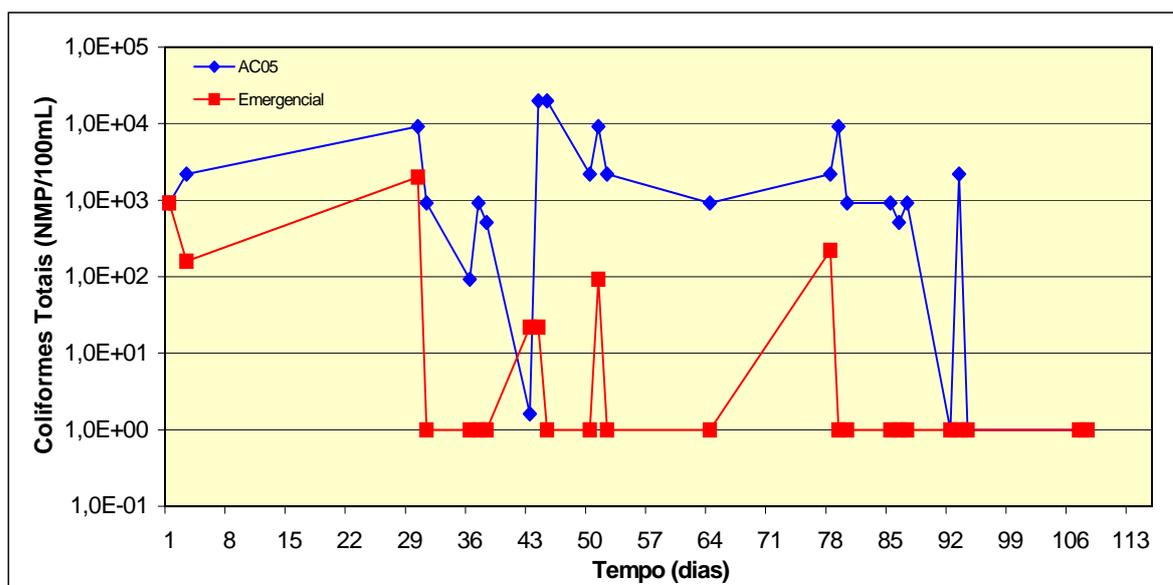


FIGURA 5. 5: Concentração de coliformes totais nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial, em função do tempo

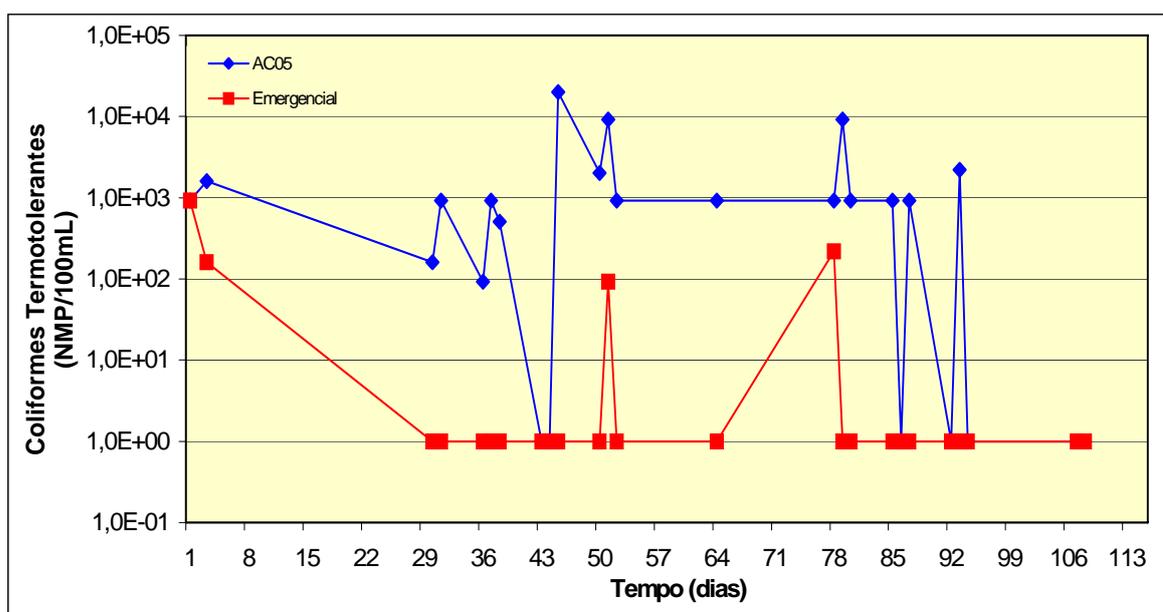


FIGURA 5. 6: Concentração de coliformes termotolerantes nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial, em função do tempo

Conforme visualizado na Figura 5.5, a concentração dos coliformes totais na célula AC05 ficou entre os valores  $9,2 \times 10^1$  a  $2,0 \times 10^4$  NMP/100mL. Para a célula emergencial, percebe-se que na maioria das análises do líquido lixiviado não foram detectados estes microrganismos. Quando detectados sua concentração oscilou entre os valores  $2,2 \times 10^1$  a  $2,2 \times 10^3$  NMP/100mL.

Comparando os resultados das duas células, verifica-se que a concentração dos coliformes totais foi superior na célula AC05, enquanto que na célula emergencial a detecção do grupo foi mínima. Este resultado pode ser explicado pelo possível decaimento bacteriano ao longo do tempo de aterramento dos resíduos, considerando que a operação da célula emergencial foi finalizada em 1997 e que a AC05 ainda estava em operação no período das amostragens do líquido lixiviado, Janeiro a Abril/2003.

Conforme resultados apresentados nas Figuras 5.5 e 5.6, observa-se que tanto na célula AC05 como na emergencial a concentração de termotolerantes seguiu o perfil da concentração dos coliformes totais, sendo que a concentração destes microrganismos variou de  $9,2 \times 10^1$  a  $2,0 \times 10^4$  NMP/100mL na AC05 e na célula emergencial variou de  $9,2 \times 10^1$  a  $9,2 \times 10^2$  NMP/100mL. Provavelmente, a presença de material fecal nos resíduos favoreceu a sua presença no líquido lixiviado.

#### 5.4.2 Grupo *Enterococcus*

Na Figura 5.7 são mostrados os resultados do grupo *Enterococcus* nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial.

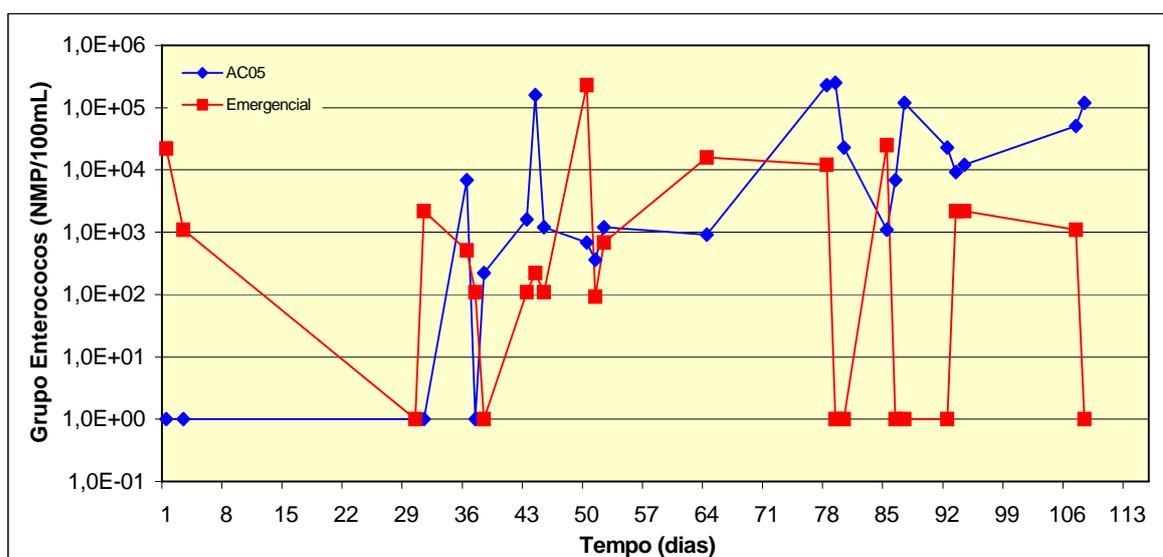


FIGURA 5.7: Concentração do grupo *Enterococcus* nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial, em função do tempo

Conforme demonstrado na Figura 5.7, a concentração do grupo *Enterococcus* da célula AC05 variou de  $2,2 \times 10^2$  a  $2,5 \times 10^5$  NMP/100mL e na célula emergencial de  $9,2 \times 10^1$  a  $2,3 \times 10^5$  NMP/100mL.

A detecção do grupo *Enterococcus* no líquido lixiviado pode ser atribuída à presença de material fecal nos resíduos, oriundos das fraldas, papel higiênico e fezes de animais.

Nas figuras a seguir são apresentadas as sínteses dos resultados obtidos dos indicadores de contaminação (coliformes totais, termotolerantes e grupo *Enterococcus*), nas células AC05 e emergencial.

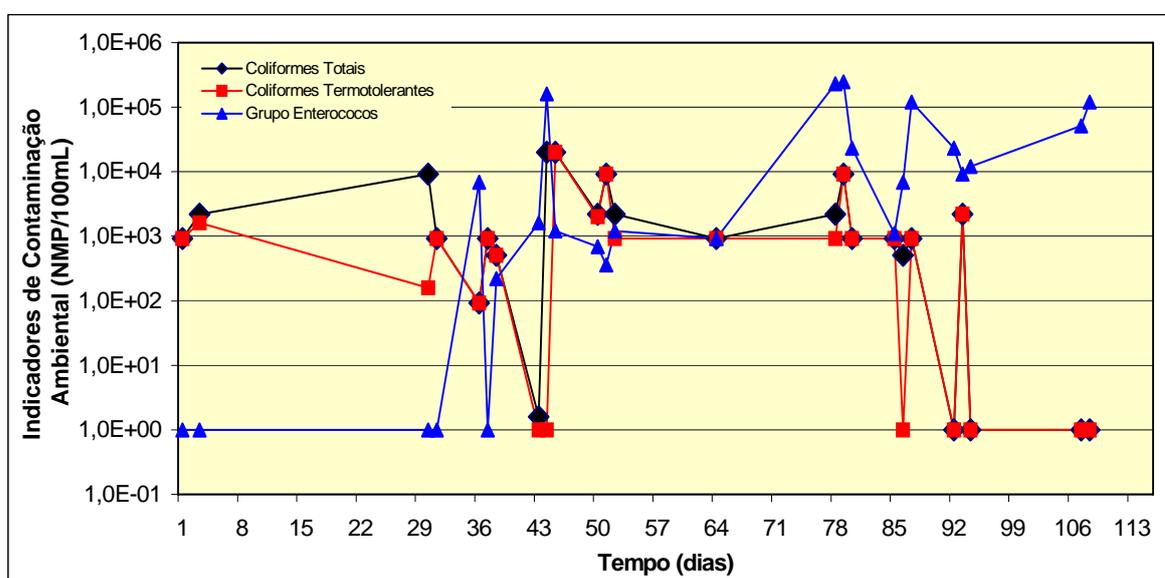


FIGURA 5.8: Concentração dos indicadores de contaminação no líquido lixiviado da célula AC05, em função do tempo

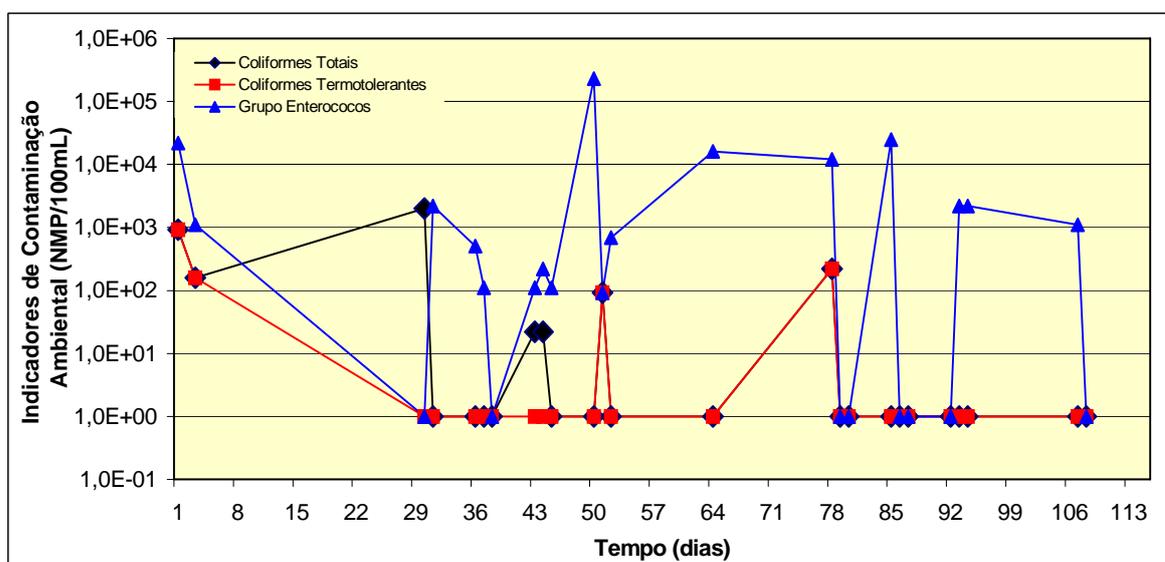


FIGURA 5.9: Concentração dos indicadores de contaminação no líquido lixiviado da célula emergencial, em função do tempo

Conforme pode ser visualizado nas Figuras 5.8 e 5.9, observa-se que na maioria das amostragens, a concentração de termotolerantes e coliformes totais foi similar, tanto na célula AC05 como na emergencial.

Percebe-se também, que a concentração do grupo *Enterococcus* foi superior às concentrações dos coliformes totais e termotolerantes, dando indicativos de uma possível maior resistência às condições ambientais adversas tais como: variação de temperatura, alta concentração de sais, presença de metais pesados, dentre outras.

O fato do grupo *Enterococcus* ser anaeróbio fermentativo e aerotolerante (BROCK, 2003), provavelmente, tenha contribuído para o seu predomínio no líquido lixiviado, em relação aos coliformes totais e termotolerantes.

Os resultados obtidos corroboram com a literatura (CETESB, 1998; ITAL, 2000) em que há relato sobre a maior resistência apresentada pelo grupo *Enterococcus* nos processos de tratamentos de água e esgotos, e às condições ambientais adversas, em comparação com os coliformes totais e termotolerantes.

A detecção do grupo *Enterococcus* no líquido lixiviado foi importante, uma vez que permite uma correlação mais direta com a sobrevivência de vírus (ITAL, 2000).

### 5.4.3 *Clostridium perfringens*

Na Figura 5.10 são mostradas as concentrações dos valores de *Clostridium perfringens* nas células AC05 e emergencial.

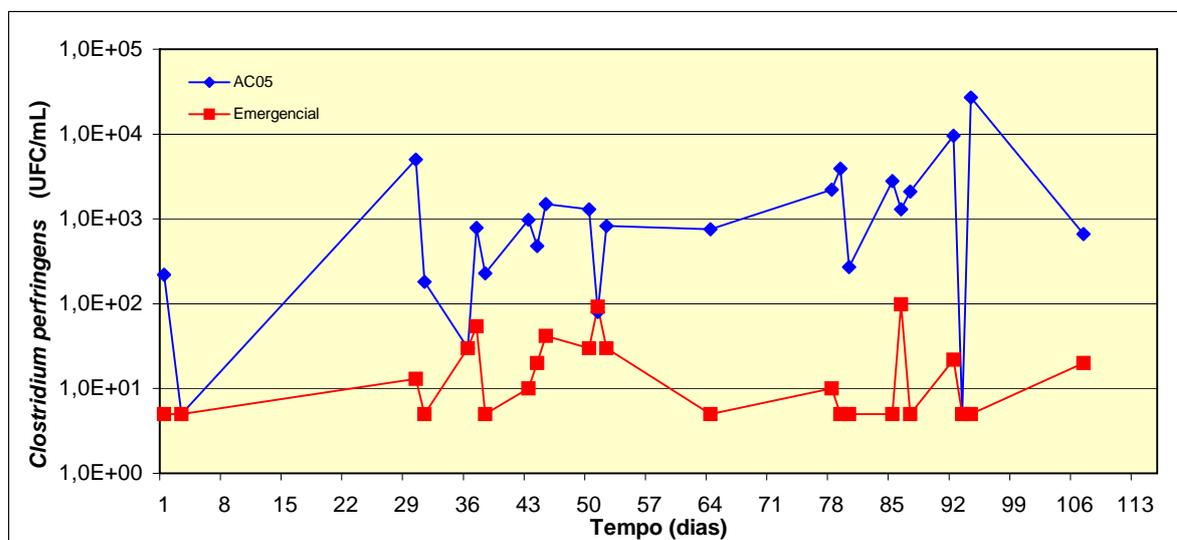


FIGURA 5.10: Concentração de *Clostridium perfringens* nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial, em função do tempo

Analisando a Figura 5.10 observa-se que a concentração de *Clostridium perfringens* na célula AC05 ficou na faixa de  $3,0 \times 10^1$  e  $2,7 \times 10^4$  UFC/mL, enquanto na célula emergencial ficou entre  $1,3 \times 10^1$  a  $9,8 \times 10^1$  UFC/mL, apresentando uma maior concentração na célula AC05.

A detecção de *Clostridium perfringens* pode ser atribuída à sua capacidade de esporular, o que lhe confere maior resistência às condições ambientais desfavoráveis e também ao fato de ser comumente encontrado no solo (SILVA, 1999), podendo ter sido carregado pelo líquido lixiviado.

Desta forma, por ser mais estável no meio que os outros microrganismos e indicar sobre contaminações fecais mais remotas, a sua detecção foi relevante, uma vez que dá indicativos da presença de microrganismos patogênicos de maior persistência no líquido lixiviado.

Adicionalmente, o fato desta bactéria adaptar-se à temperaturas elevadas (45-50°C), variações nutricionais, disponibilidade de água e a capacidade de fermentar açúcares e aminoácidos produzindo ácido butírico, acetato, butirato, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> (BROCK, 2003), favoreceu o seu desenvolvimento no aterro sanitário. Ressalta-se o papel ecológico desempenhado por este microrganismo em um aterro sanitário, participando da biodegradação de compostos no ciclo do carbono e nitrogênio.

Provavelmente, a maior concentração de *Clostridium perfringens* na célula AC05 foi devido à disponibilidade de nutrientes, temperatura mais elevada, condição de anaerobiose, dado que esta célula recebia resíduos diariamente e o *Clostridium perfringens* é uma bactéria anaeróbia e saprófita, que vive em ambientes anaeróbios onde componentes orgânicos estão presentes.

Quanto aos microrganismos indicadores de contaminação (coliformes totais e termotolerantes, grupo *Enterococcus* e *Clostridium perfringens*) os resultados obtidos estão de acordo com SOARES *et al* (2001) e SOUZA (2003), que constataram o decaimento destes microrganismos em relação ao tempo de aterramento dos resíduos, em estudos sobre avaliação microbiológica do lixiviado de resíduos hospitalares e de células com aterramento de RSU e co-disposição de RSU e RSS, respectivamente.

O decaimento dos microrganismos indicadores de contaminação em relação ao tempo de aterramento dos resíduos, pode ser devido à escassez de nutrientes, à competição da microbiota do líquido lixiviado e às condições adversas do aterro como: altas temperaturas nas camadas mais interiores, toxinas de bactérias e presença de metais pesados e outras substâncias inorgânicas possivelmente presentes nos líquidos lixiviados.

Na Figura 5.11 são apresentados os resultados das concentrações de bactérias aeróbias, nas células AC05 e emergencial.

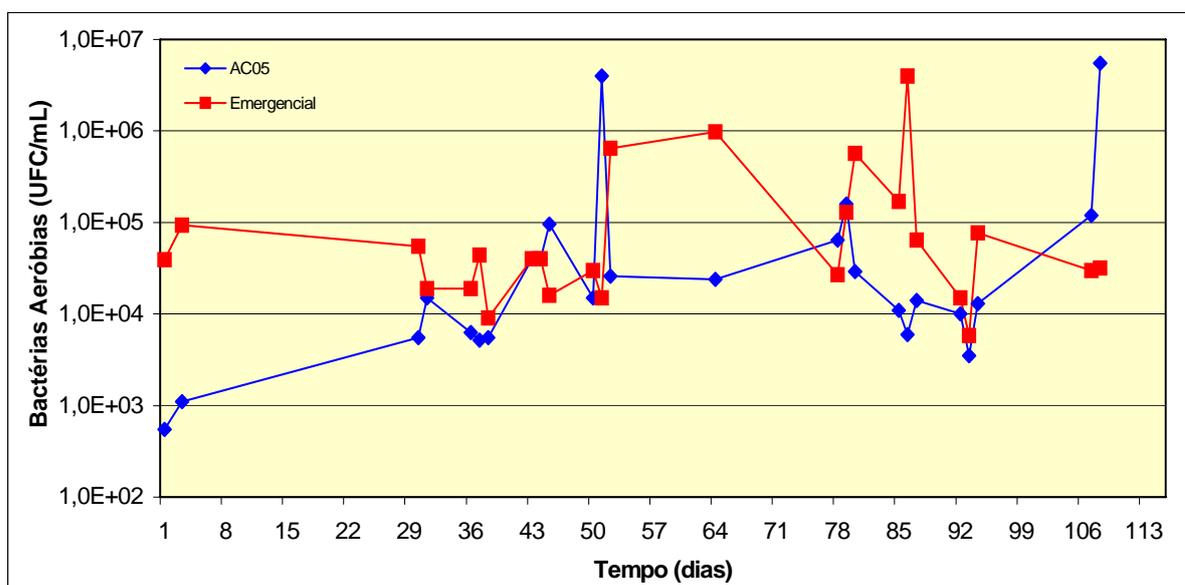


FIGURA 5.11: Concentração de bactérias aeróbias nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial, em função do tempo

Observa-se que a contagem total de bactérias aeróbias na célula AC05 variou de  $5,5 \times 10^2$  a  $5,5 \times 10^6$  UFC/100mL e na célula emergencial de  $5,8 \times 10^3$  a  $4,0 \times 10^6$  UFC/100mL.

A célula emergencial provavelmente apresentava um líquido lixiviado mais estabilizado em função do tempo de aterramento de resíduos e conforme resultados das tabelas 5.1 e 5.2 o valor referente ao potencial redox do líquido lixiviado da célula emergencial (-117,08), foi maior que o da célula AC05 (-317,65), dando indicativos do aparecimento de compostos oxidados na emergencial.

Isto aponta para a possível presença de oxigênio no líquido lixiviado da célula emergencial, o que pode ter acarretado a maior concentração de bactérias aeróbias neste líquido lixiviado.

## 5.5 *Microrganismos de Interesse da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar - CCIH*

### 5.5.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Na Figura 5.12 visualiza-se a concentração de *Pseudomonas aeruginosa* detectada nas células AC05 e emergencial.

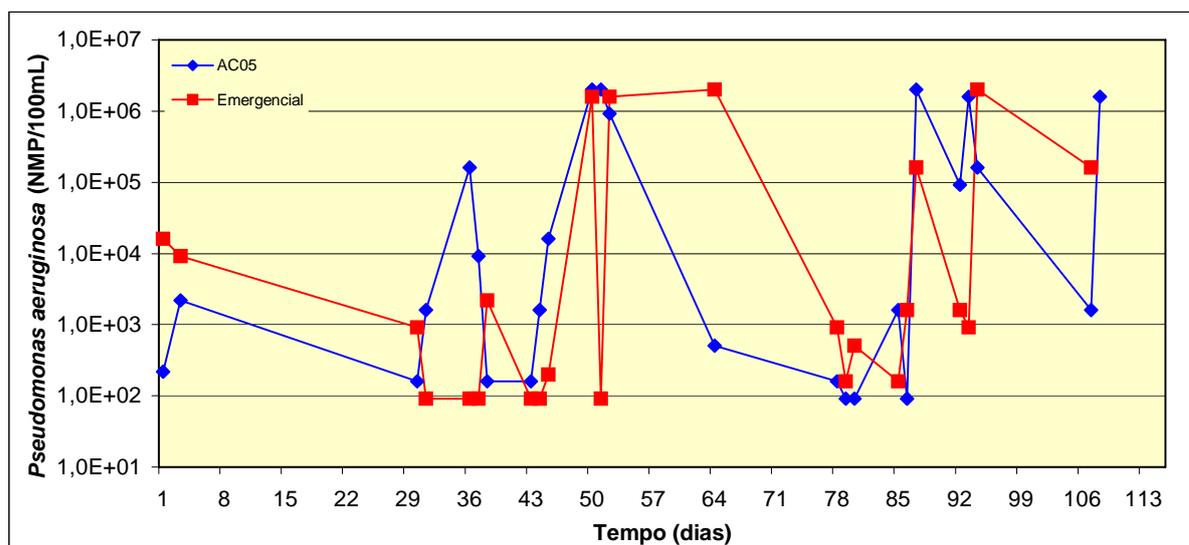


FIGURA 5.12: Concentração de *Pseudomonas aeruginosa* nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial, em função do tempo

Como pode ser visto na Figura 5.12, verifica-se que houve uma tendência de similaridade no perfil da concentração desta bactéria nos líquidos lixiviados de ambas as células estudadas. Os valores mínimo e máximo de ambas as células foram equivalentes ( $9,2 \times 10^1$  e  $2,0 \times 10^6$  UFC/mL).

A adaptação às variações de temperatura, possivelmente contribuiu para o seu desenvolvimento no líquido lixiviado em ambas as células. Esta espécie tem crescimento ótimo em ambientes com pH neutro e temperatura variando de 25 a 37°C, mas cresce em ambientes com temperaturas a 42°C (SILVA, 1999). Assim, os valores médios de pH (próximo do neutro) e valores mínimos e máximos das temperaturas das células AC05 (32,7 a 41,9°C) e emergencial (24,6 a 29,4°C) foram favoráveis ao seu desenvolvimento.

Dentre os microrganismos indicadores de contaminação pesquisados, a *P. aeruginosa* foi a que apresentou a maior concentração ( $2,0 \times 10^6$  NMP/100mL) no líquido lixiviado. Isto pode ser observado nas Figuras 5.13 e 5.14.

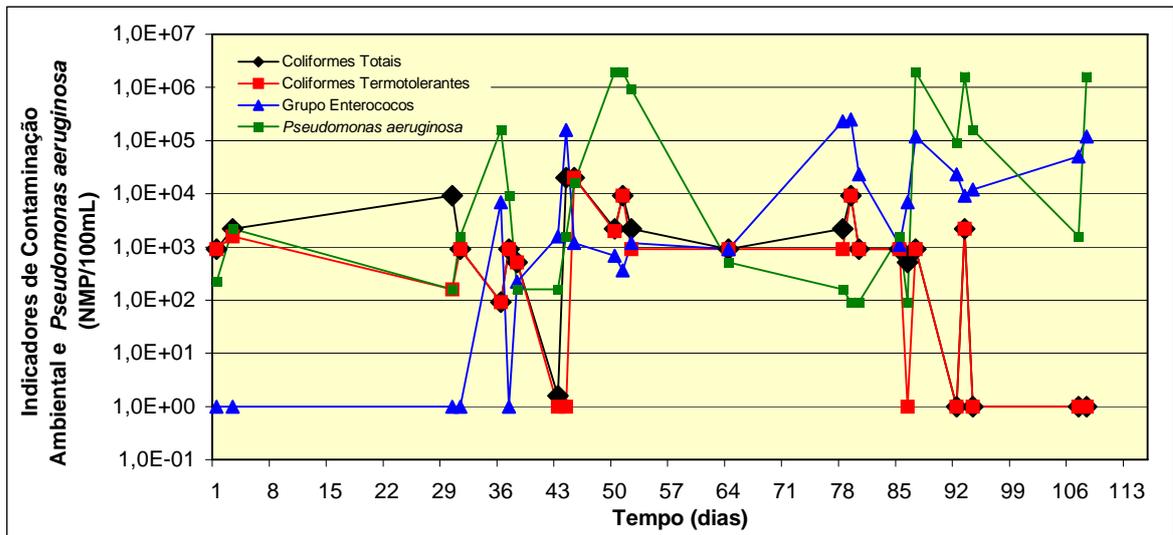


FIGURA 5.13: Indicadores de contaminação e *Pseudomonas aeruginosa* no líquido lixiviado da célula AC05, em função do tempo

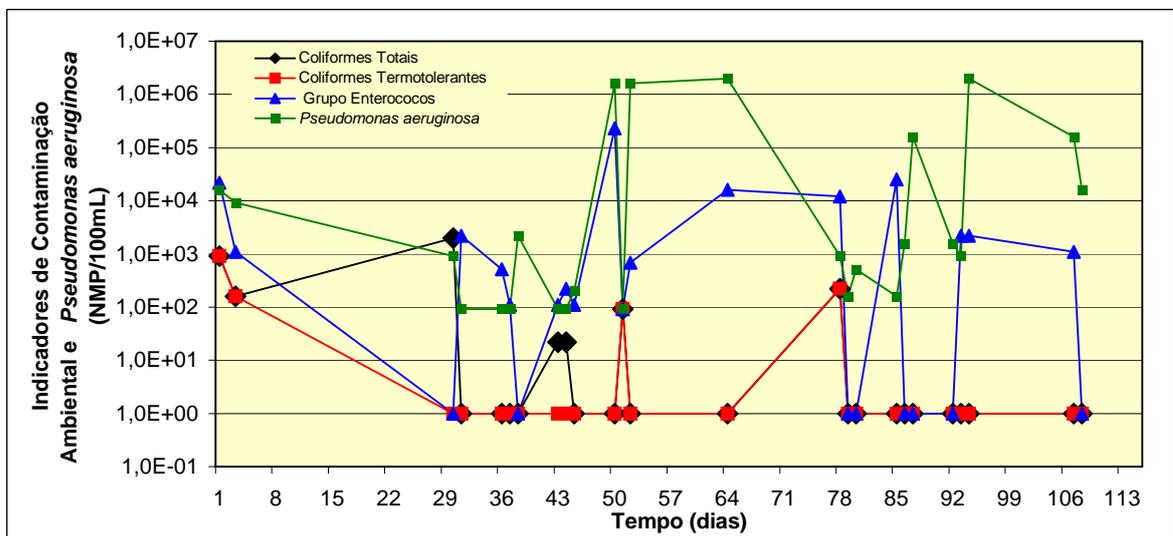


FIGURA 5.14: Indicadores de contaminação e *Pseudomonas aeruginosa* no líquido lixiviado da célula emergencial, em função do tempo

Observa-se, também, que a *P. aeruginosa* foi o único microrganismo, dentre os indicadores pesquisados, que foi detectado em todas as amostragens ao longo da avaliação do líquido lixiviado.

Embora tenha sido encontrada *Pseudomonas aeruginosa* em todas as amostras do líquido lixiviado, supõe-se que as chuvas interferiram na detecção deste microrganismo, pois verificou-se, que em todas as amostras de líquido lixiviado coletadas nos dias chuvosos, somente foi isolada a referida bactéria na série de tubos, cujas amostras estavam mais diluídas (diluição  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$ ). A possível explicação para esta ocorrência deve-se à inibição do crescimento da *P. aeruginosa* pelas substâncias inorgânicas inerentes do aterro sanitário, que foram carregadas pelas águas das chuvas.

São várias as hipóteses para a sua maior ocorrência em relação aos outros microrganismos estudados. Dentre estas, destacam-se: crescimento em temperaturas baixas e altas, versatilidade nutricional, resistência a altas concentrações de sais e capacidade de inibir o desenvolvimento de outras bactérias devido ao seu pigmento piocianina (MURRAY *et al*, 1992). Adicionalmente, o fato de ser uma bactéria cosmopolita, comumente encontrada no solo e em ambientes úmidos, tenha contribuído para sua grande ocorrência.

A forma de obtenção de energia, provavelmente também, tenha contribuído para a sua ocorrência. A *P. aeruginosa* é uma bactéria aeróbia não fermentadora que obtém energia de processos oxidativos do carboidrato. Entretanto, pode crescer em condições anaeróbias utilizando nitrato como aceptor de elétrons e participar da transformação de compostos nitrogenados no ciclo do nitrogênio, na etapa da desnitrificação, reduzindo o nitrato (NO<sub>3</sub>) a nitrogênio gasoso (N<sub>2</sub>), (BROCK, 2003). Desta forma, destaca-se o papel ecológico importante desempenhado pela *P. aeruginosa* na biodegradação de compostos nitrogenados em aterros sanitários.

Referente aos resultados da *Pseudomonas aeruginosa*, os mesmos também corroboram com os obtidos por SOARES *et al* (2001) e SOUZA (2003). Estes autores verificaram que esta bactéria apresentou a maior concentração dentre os microrganismos indicadores de contaminação por eles pesquisados, na avaliação microbiológica do líquido lixiviado em condições estáticas realizadas em escala de laboratório.

### 5.5.2 *Staphylococcus aureus*

Durante o decorrer da parte experimental não foi detectada a espécie *S. aureus* nos líquidos lixiviados das células AC05 e da emergencial. Como consequência foram incluídos os procedimentos de inoculação de cepas padrões de *S. aureus* (ATCC 25923), no líquido lixiviado esterilizado e posterior isolamento destas cepas com o objetivo de avaliar a eficiência da técnica utilizada.

O isolamento das cepas padrões foi realizado conforme técnica descrita no item 4.3.2.5. As cepas de *S. aureus* desenvolveram-se no líquido lixiviado e sobreviveram durante oito dias, dando indicativos que o líquido lixiviado estudado ofereceu condições para o seu desenvolvimento. Contudo, em relação ao metabolismo, o fato do *S. aureus* ser uma espécie exigente nutricional e de vida curta, possa ter contribuído para a sua não ocorrência.

Uma outra hipótese que explica a sua não detecção é a competição da microbiota natural do líquido lixiviado, uma vez, que após a esterilização deste líquido as cepas de *S. aureus* inoculadas cresceram no meio de cultura ágar sangue (ASA) e Baird-Parker (BP). Na Figura 5.15 pode-se observar as cepas de *S. aureus* isoladas em líquido lixiviado esterilizado.

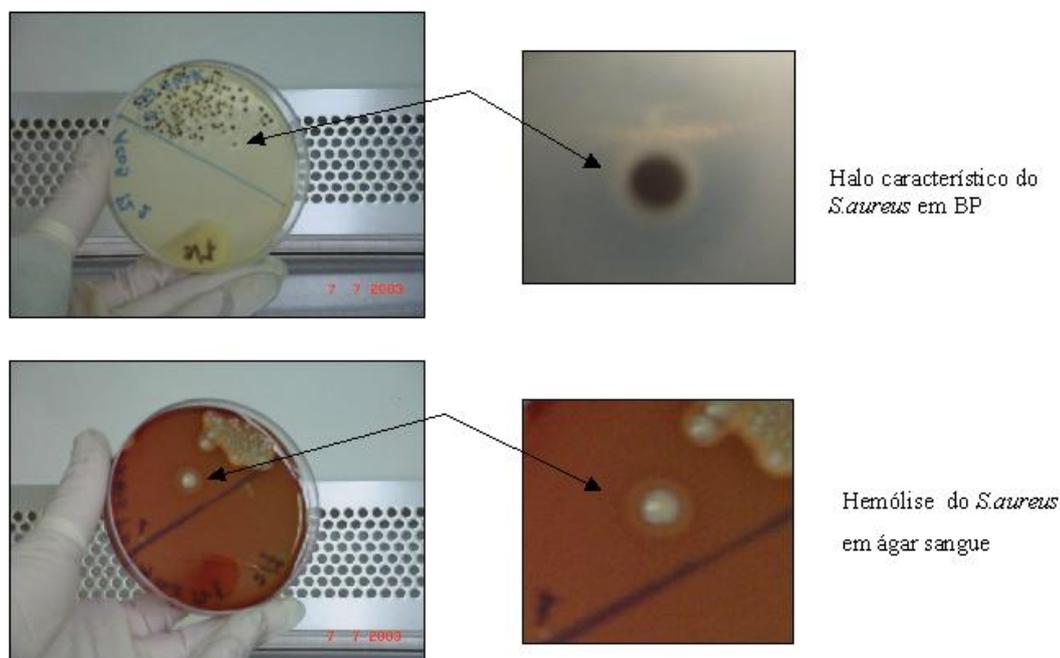


FIGURA 5. 15: Cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas do líquido lixiviado esterilizado em ágar sangue e ágar BP

## 5.6 Tratamento e análise estatística dos dados

Primeiramente são discutidas algumas considerações sobre estatística descritiva de forma resumida e sequencialmente sobre o teste de postos com sinais de wilcoxon e análise fatorial por componentes principais.

### 5.6.1 Estatística descritiva

Nas tabelas 5.4 e 5.5, são apresentados os resultados da estatística descritiva obtidos pelo software Statistica versão 5.0.

**Tabela 5.4: Estatística descritiva para os microrganismos pesquisados no líquido lixiviado da célula AC05**

Microrganismos	Nº de Observações	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Coliformes totais (NMP/100mL)	25	4,18E+02	9,20E+02	1,00E+00	2,00E+04	5,72E+03
Coliformes termotolerantes (NMP/100mL)	25	1,68E+02	9,20E+02	1,00E+00	2,00E+04	4,45E+03
Grupo <i>Enterococcus</i> (NMP/100mL)	25	1,37E+03	1,60E+03	1,00E+00	2,50E+05	7,42E+04
<i>Clostridium perfringens</i> (UFC/ml)	25	5,68E+02	7,80E+02	5,00E+00	2,70E+04	5,52E+03
Bactérias Aeróbias (UFC/ml)	25	2,21E+04	1,50E+04	5,50E+02	5,50E+06	1,33E+06
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (NMP/100mL)	25	7,40E+03	1,60E+03	9,20E+01	2,00E+06	7,52E+05

**Tabela 5.5: Estatística descritiva para os microrganismos pesquisados no líquido lixiviado da célula emergencial**

Microrganismos	Nº de Observações	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Coliformes totais (NMP/100mL)	25	4,15E+00	1,00E+00	1,00E+00	2,00E+03	4,31E+02
Coliformes termotolerantes (NMP/100mL)	25	2,39E+00	1,00E+00	1,00E+00	9,20E+02	1,88E+02
Grupo <i>Enterococcus</i> (NMP/100mL)	25	1,51E+02	2,20E+02	1,00E+00	2,30E+05	4,58E+04
<i>Clostridium perfringens</i> (UFC/100ml)	25	1,22E+01	1,00E+01	5,00E+00	9,80E+01	2,59E+01
Bactérias Aeróbias (UFC/ml)	25	5,79E+04	4,00E+04	5,80E+03	4,00E+06	8,10E+05
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (NMP/100mL)	25	3,20E+03	9,20E+02	9,20E+01	2,00E+06	6,73E+05

A partir da análise dos dados constantes nas Tabelas 5.4 e 5.5, pode-se verificar que dentre os parâmetros microbiológicos pesquisados, as bactérias aeróbias apresentaram maiores valores para a média (2,21E+04), (5,79E+04) e desvio padrão (1,33E+06), (8,10E+05) em ambas as células estudadas. Para esses mesmos parâmetros, os coliformes termotolerantes apresentaram os menores valores para a média (1,68E+02), (2,39E+00), tanto na célula AC05 como na emergencial e menor valor de desvio padrão na AC05 (4,45E+03), enquanto o *Clostridium perfringens* foi o microrganismo que apresentou menor valor de desvio padrão na célula emergencial (2,59E+01).

Comparando os valores médios referentes aos microrganismos pesquisados na célula AC05 e emergencial, pode-se dizer que os referidos valores foram superiores na célula AC05, exceto o valor da média das bactérias aeróbias, que foi superior na célula emergencial.

### 5.6.2 Teste de postos com sinais de wilcoxon

Com a aplicação deste teste foi possível avaliar se as diferenças detectadas entre os valores dos parâmetros microbiológicos pesquisados, na célula ACO5 e emergencial foram significativas ( $p > 0,05$ ) ou não ( $p < 0,05$ ) e ainda aceitar ou rejeitar a hipótese nula ( $H_0$ ). Foi fixado um nível de significância de 95%. Na tabela 5.6, é apresentado o resumo do resultado do teste de postos de sinais de wilcoxon.

**Tabela 5.6: Teste de postos com sinais de Wilcoxon para os parâmetros microbiológicos da célula AC05 e emergencial**

Parâmetros Microbiológicos	N	Grupo 1	Grupo 2	P	H <sub>0</sub>	Conclusão
Coliformes totais (NMP/mL)	25	AC05	EM	0,000	Rejeitar	$\mu_1 \neq \mu_2$
Coliformes termotolerantes (NMP/mL)	25	AC05	EM	0,000	Rejeitar	$\mu_1 \neq \mu_2$
Grupo <i>Enterococcus</i> (NMP/mL)	25	AC05	EM	0,054	Aceitar	$\mu_1 = \mu_2$
<i>Clostridium perfringens</i> (UFC/ml)	25	AC05	EM	0,000	Rejeitar	$\mu_1 \neq \mu_2$
Bactérias Aeróbias (UFC/ml)	25	AC05	EM	0,132	Aceitar	$\mu_1 = \mu_2$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (NMP/mL)	25	AC05	EM	0,501	Aceitar	$\mu_1 = \mu_2$

(H<sub>0</sub>): as medianas dos parâmetros microbiológicos da célula ACO5 e emergencial são iguais

(H<sub>1</sub>): as medianas dos parâmetros microbiológicos da célula ACO5 e emergencial não são iguais

Pela análise de teste de sinais constatou-se que:

- não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as medianas dos valores do Grupo *Enterococcus*, bactérias aeróbias e *Pseudomonas aeruginosa* a um nível de significância a 5%. Portanto, a hipótese nula (H<sub>0</sub>) foi aceita e rejeitou-se a hipótese alternativa (H<sub>1</sub>).
- a mediana dos valores de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Clostridium perfringens* foram significativamente diferentes entre si ( $p < 0,05$ ), para um nível de significância de 95%. Portanto, a hipótese nula (H<sub>0</sub>) foi rejeitada e aceitou-se a hipótese alternativa (H<sub>1</sub>).

Este resultado confirma a tendência de igualdade observada entre os valores detectados para o Grupo *Enterococcus*, bactérias aeróbias e *Pseudomonas aeruginosa* das células ACO5 e emergencial apresentados nas figuras 5.7, 5.11 e 5.12.

Baseando-se nos resultados estatísticos da tabela 5.6, pode-se inferir que para este estudo o tempo de aterramento de resíduos é um fator que pode ter interferido na variação da concentração dos microrganismos indicadores de contaminação. Os microrganismos coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Clostridium perfringens* foram mais afetados em relação ao tempo de aterramento dos resíduos.

Além da estatística descritiva e do teste de sinal de Wilcoxon, foi realizada também, a análise fatorial por componentes principais, visando interrelacionar os parâmetros microbiológicos com os físicos-químicos e com as observações.

Tendo em vista, que são muitas variáveis (12) a serem analisadas, os dados obtidos para os parâmetros estudados são quantitativos, o número de observações é restrito (25 para cada célula), e que não se tem domínio sobre as condições do experimento (camadas interiores do aterro sanitário), verificou-se que a aplicação da análise multivariada por componentes principais é adequada para o presente estudo.

### 5.6.3 Análise fatorial por componentes principais

Inicialmente analisou-se a inércia e as componentes principais do sistema e em um segundo momento a representação gráfica das observações e das variáveis.

#### 5.6.3.1 Análise da inércia do sistema

Conforme Tabela A.15 do anexo, a inércia total do sistema foi de 63,3%. A F1 possui o maior valor de inércia 34,5%, quando comparada ao valor da F2 (15,7%) e da F3 (13,1%). O eixo F1 é o que melhor representa as variações dos pontos observados devido a sua maior inércia (34,5%).

A inércia relaciona-se ao índice de confiabilidade das correlações calculadas. Segundo SAMPAIO (1993), o valor de inércia considerado adequado para a análise multivariada é de 70%. Desta forma, para este estudo, pode-se dizer que com uma inércia total de  $I=63,3\%$ , a maioria das correlações pode ser explicada pela análise da representação gráfica do sistema, dado ao número reduzido de observações (25).

#### 5.6.3.2 Análise das componentes principais do sistema

Na Tabela 5.7 são apresentadas as variáveis e os seus coeficientes de correlação com as componentes principais.

**Tabela 5.7: Variáveis pesquisadas e seus respectivos valores e componentes principais**

Variáveis	Siglas	Valores das variáveis nas componentes principais		
		Eixo F1	Eixo F2	Eixo F3
pH	pH	-0,13	0,6	0,23
Temperatura	TEM	0,95	-0,05	0,2
Potencial redox	RDX	-0,85	0,23	-0,18
Condutividade	CND	0,91	0,1	0,17
Coliformes totais	CT	0,53	0,49	-0,52
Coliformes termotolerantes	TMO	0,44	0,43	-0,59
Grupo <i>Enterococcus</i>	ENT	0,38	-0,07	-0,27
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PSA	0,16	-0,48	-0,38
<i>Clostridium perfringens</i>	PER	0,33	-0,03	0,43
Bactérias aeróbias	ERA	0,13	-0,59	-0,58
Idade do Líquido lixiviado	ILX	-0,93	-0,07	-0,15
Chuva	CHV	-0,15	-0,66	-0,2

A partir da análise dos eixos fatoriais determina-se as variáveis mais importantes de cada eixo, identificadas pelos maiores valores de correlação (próximo de 1) com o eixo alvo. O eixo F1 corresponde à primeira componente principal, o F2 à segunda e o F3 à terceira.

No eixo F1 as variáveis que apresentaram maiores valores de correlação foram a temperatura (0,95), idade do líquido lixiviado (0,93) e condutividade (0,91) seguidos pelo potencial redox (0,85). O eixo F1 foi justificado somente por variáveis físico-químicas, cujos valores de correlação são os maiores do sistema. A variável de maior influência na F1 foi a temperatura, dado seu maior valor quando comparado às demais.

O eixo F2 foi identificado pelas variáveis físico-químicas e microbiológicas. A variável mais importante neste eixo foi a chuva (0,66), seguida pelo pH (0,6), bactérias aeróbias (0,59), coliformes totais (0,49) e *Pseudomonas aeruginosa* (0,48).

Na F3 as variáveis com maiores valores de correlação foram coliformes termotolerantes (0,59) seguido pelas bactérias aeróbias (0,58) e coliformes totais (0,52). Este eixo foi justificado somente pelas variáveis microbiológicas.

As variações observadas no sistema foram justificadas por apenas três eixos, sendo que as variáveis, temperatura, condutividade, idade do líquido lixiviado e potencial redox exerceram maior influência no sistema, dados seus maiores valores de correlação.

Este resultado corrobora com o do teste de sinais, que também mostrou que estas variáveis foram mais afetadas no sistema, ou seja, sofreu maiores variações durante o período de monitoramento do líquido lixiviado.

### **5.6.3.3 Análise da representação gráfica das variáveis e das observações**

A partir da análise da representação do gráfico de nuvem de dispersão de pontos (observações) é possível determinar a localização e associação entre as variáveis pesquisadas, bem como a importância das associações, conforme sua posição nos diferentes quadrantes do gráfico e a distância entre essas variáveis.

Assim, variáveis situadas em quadrantes opostos e pela origem (0) são correlacionadas negativamente e com forte associação, quanto maior for a distância entre elas. Variáveis situadas em um mesmo quadrante são correlacionadas positivamente e com forte associação, quanto menor a distância entre elas. As localizadas em quadrantes adjacentes possuem associação positiva, mas não tão forte como as situadas em um mesmo quadrante.

Na Figura 5.16, estão demonstradas a localização gráfica das variáveis e das observações pela análise fatorial de componentes principais.

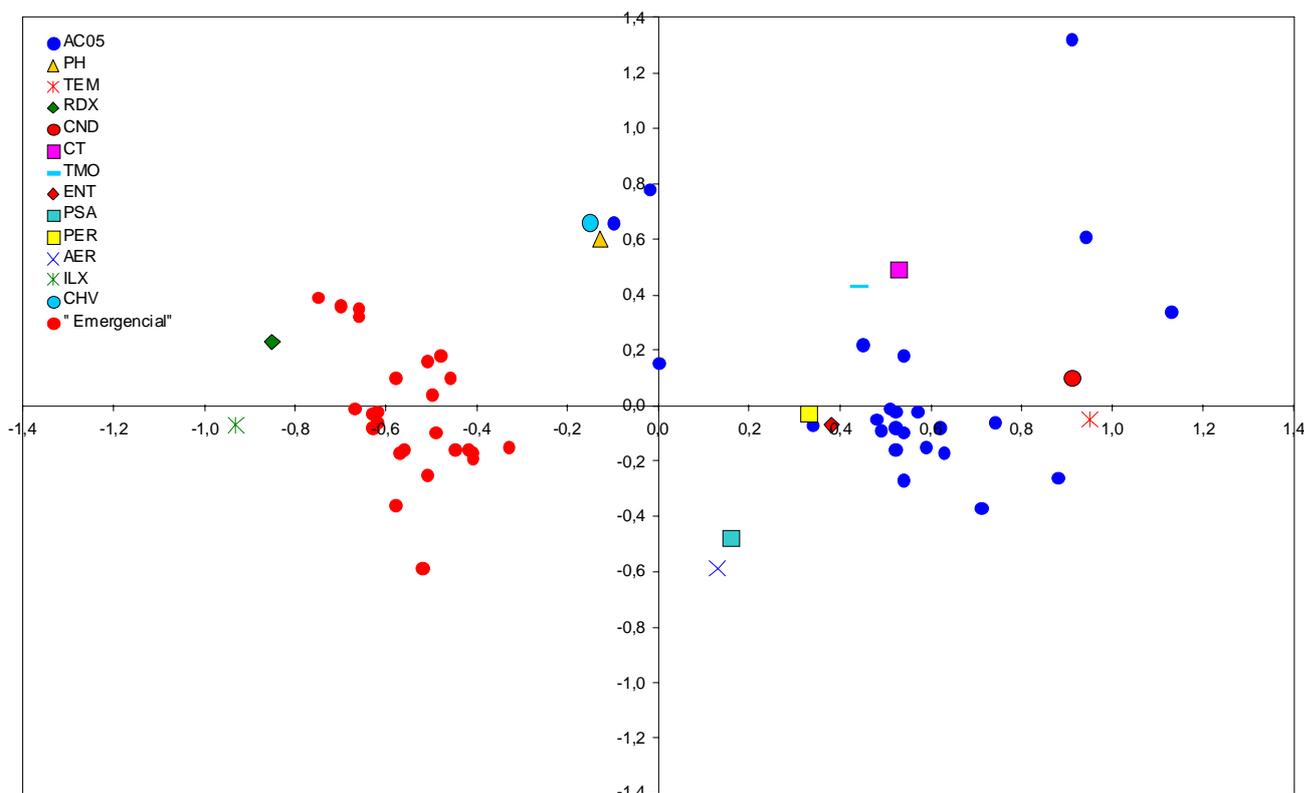


Figura 5. 16: Localização gráfica das observações e das variáveis do líquido lixiviado da célula AC05 e emergencial determinados pela análise fatorial por componentes principais

Segundo critérios citados por SAMPAIO (1993), normalmente a análise da representação gráfica das observações é feita com os três primeiros eixos e de dois a dois (F1x F2, F1x F3 e F2 x F3). Contudo, para este estudo utilizou-se somente dois eixos (F1 x F2), devido a melhor inércia apresentada pelo primeiro e segundo eixo.

Em relação à dispersão das nuvens de pontos e a localização das variáveis nos eixos, pode-se dizer que:

- Há dois agrupamentos distintos: um referente às observações do líquido lixiviado da célula AC05 e outro da célula emergencial. O agrupamento da célula AC05 apresenta-se mais disperso que o da emergencial, indicando menor estabilidade e homogeneidade do líquido lixiviado.
- O líquido lixiviado da célula emergencial, oriundo de resíduos com um maior tempo de aterramento (5 anos) possui maiores valores para potencial redox e menores para condutividade e temperatura. Contrariamente, o líquido lixiviado da célula AC05, provenientes de resíduos com um menor tempo de aterramento (2 anos), apresenta menores valores de potencial redox, maiores para condutividade e temperatura.

- Há indícios que a população dos microrganismos estudados é maior no líquido lixiviado da célula AC05 em relação ao da emergencial, uma vez que todas as variáveis referentes aos parâmetros microbiológicos estão mais próximas do agrupamento das observações referentes à célula AC05. Isto reforça o fato que há o decaimento bacteriano em relação ao tempo de aterramento dos resíduos.
- Potencial redox e pH estão associados positivamente, por estarem localizados no mesmo quadrante. A elevação do pH pode causar o aumento do valor do potencial redox por influenciar as velocidades das reações.
- A chuva está associada positivamente ao pH e ao potencial redox, porém a associação da chuva com o pH é mais forte, devido a proximidade entre eles. Assim, supõe-se que o aumento do volume infiltrado de águas das chuvas pode elevar os valores de pH e também do potencial redox.
- A condutividade e a chuva estão associadas negativamente indicando que quanto maior o volume infiltrado de águas de chuva, menor o valor da condutividade, dada a diluição do líquido lixiviado.
- A associação existente entre a temperatura e a condutividade é positiva, logo, são diretamente proporcionais. Sendo assim, o aumento da temperatura causar o aumento da condutividade, considerando que a elevação da temperatura favorece a solubilização de metais.
- Coliformes totais e coliformes termotolerantes estão fortemente associados, devido à localização no mesmo quadrante e a proximidade entre eles. São os mais exigentes quanto à condutividade e temperatura do meio, o que pode ter contribuído para o seu decaimento em relação à idade do líquido lixiviado.
- *Pseudomonas aeruginosa* e bactérias aeróbias encontram-se fortemente associadas. São menos exigentes quanto à condutividade e temperatura e mais sensíveis às variações ocorridas no pH, potencial redox e águas das chuvas, em relação às demais bactérias pesquisadas. Desta forma, dentre as variáveis físico-químicas analisadas, provavelmente as que mais influenciaram o desenvolvimento da *Pseudomonas aeruginosa* e das bactérias aeróbias foi o potencial redox e o pH.

- *Clostridium perfringens* e grupo *Enterococcus* exigem valores próximos de temperatura e condutividade para se desenvolverem, mas não estão tão associados entre si, pois situam-se em eixos diferentes, quando verificada sua posição no terceiro eixo (F3).

A partir da representação gráfica das observações e das variáveis, há indicativos que tanto o tempo de aterramento dos resíduos como a idade do líquido lixiviado e fatores exógenos como a chuva, podem determinar as variações ocorridas nos parâmetros físico-químicos e microbiológicos. E que entre as variáveis analisadas, as físico-químicas exerceram maior influência no sistema quando comparadas às microbiológicas.

A aplicação da análise multivariada (análise fatorial por componentes principais) na avaliação dos dados obtidos no monitoramento do líquido lixiviado do aterro sanitário de Belo Horizonte permitiu verificar, simultaneamente, importantes associações existentes entre as observações e as variáveis pesquisadas, como variável de maior influência no sistema, associações positivas e negativas, dentre outras.

Corroborando com o parágrafo anterior, em estudo realizado para avaliar a composição do líquido lixiviado do aterro de Askaya/Suécia e otimizar programa de monitoramento deste aterro, KYLEFORS (2003) concluiu que a análise multivariada dos dados pode ser uma ferramenta poderosa para minimizar o número de análises e maximizar as informações no programa de monitoramento de um aterro sanitário, devido ao fato de considerar as interrelações simultâneas entre as variáveis e o aspecto local de cada aterro.

#### **5.6.4 Análise global dos parâmetros microbiológicos**

A partir da análise geral dos resultados obtidos pode-se inferir que a detecção de microrganismos indicadores de contaminação e de interesse da CCIH, tanto nos líquidos lixiviados da célula emergencial (com disposição somente de RSU) como na célula AC05 (com co-disposição de RSU e RSS), assumem a mesma importância, ou seja, ambos possuem agentes que conferem risco biológico ao meio ambiente e à saúde pública, uma vez que foram detectados os mesmos valores mínimo e máximo de *Pseudomonas aeruginosa* nas amostras do líquido lixiviado de ambas as células e não houve .

Ademais, o RSU é composto por uma parcela de RSS, o que lhe confere potencial infectante da mesma forma que o RSS. Além disso, 50% da composição gravimétrica do RSU é matéria orgânica (IBGE, 2002), que pode favorecer a proliferação dos microrganismos estudados,

dada a disponibilidade de nutrientes. Ao contrário os RSS, não possuem tanta matéria orgânica em sua composição, resultando na escassez de nutrientes, que pode ser um fator limitante ao desenvolvimento dos microrganismos pesquisados.

Os resultados obtidos por SOUZA (2003), corroboram com esta suposição. A autora não verificou relação entre a porcentagem de RSU/RSS e a contagem de microrganismos indicadores, o que demonstrou que células que continham somente RSS ou co-disposição de RSU com RSS não apresentaram maior concentração desses microrganismos em relação àquelas que continham somente disposição de RSU.

Conforme resultados obtidos observou-se que a concentração dos microrganismos indicadores de contaminação, coliformes totais, termotolerantes e *Clostridium perfringens*, no líquido lixiviado da célula com co-disposição de RSU e RSS (AC05) foi superior à concentração da célula com disposição somente de RSU (emergencial). Presume-se que esta diferença de concentração foi devido ao tempo de aterramento de resíduos, levando em consideração, que durante o período de amostragem (Janeiro a Abril/2003) a operação da célula emergencial já tinha sido encerrada a aproximadamente 5 anos, enquanto a célula AC05 ainda estava em processo de aterramento de resíduos.

Desta forma, não se pode inferir que a maior concentração destes microrganismos na célula AC05 foi devido ao aterramento de uma parcela (1%) dos RSS. Isto porque em caracterização da composição gravimétrica dos RSU de Belo Horizonte, ROCHA (2003) detectou resíduos com potencial de contaminação biológica, destacando-se: fezes de animais, papel higiênico, fraldas descartáveis, absorventes higiênicos, sangue e fluídos corpóreos, os quais podiam conter estes microrganismos.

Além disso, dado aos diferentes estágios de aterramento de resíduos das duas células, supõe-se que havia maior disponibilidade de nutrientes na célula AC05 e escassez na emergencial, o que provavelmente contribuiu para o desenvolvimento dos microrganismos da AC05.

No que se refere às variações dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos dos líquidos lixiviados, é importante ressaltar que o experimento foi realizado em escala real, e devido ao fato do aterro sanitário ser um ecossistema aberto, por melhor que seja operado não se tem o controle sobre todos os interferentes ambientais, principalmente quanto às variações nas características dos líquidos lixiviados e na dinâmica dos microrganismos.

## 5.7 Avaliação da susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas nos líquidos lixiviados das Células AC05 e emergencial

A avaliação da susceptibilidade aos antimicrobianos estava prevista para os microrganismos de interesse médico no controle de infecções hospitalares, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Entretanto, foi realizado somente para *Pseudomonas aeruginosa*, pois não foi detectado *Staphylococcus aureus* no líquido lixiviado das células estudadas.

Foram isoladas 192 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* nas amostras dos líquidos lixiviados, cujos resultados são apresentados em forma de figuras e planilhas A11 e A12 anexas. Será realizada uma análise geral da susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas isoladas em cada célula e, em seqüência uma análise mais detalhada referente à frequência das cepas sensíveis, resistentes e intermediárias a cada antibiótico testado, bem como análise estatística dos dados obtidos.

Na Figura 5.17 é apresentado o resultado geral da susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas no líquido lixiviado da célula AC05.

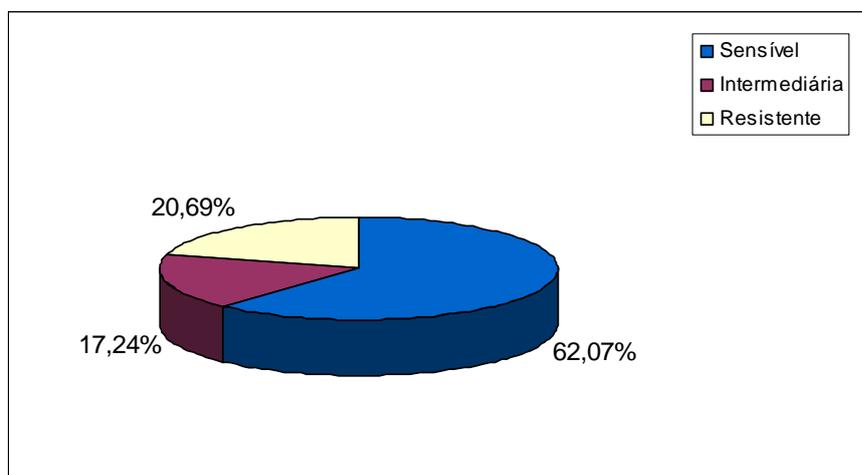


FIGURA 5.17: Susceptibilidade aos antimicrobianos das 87 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas do líquido lixiviado da célula AC05

Verificou-se que a maioria das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* da célula AC05 apresentou sensibilidade aos antimicrobianos testados. Do total das 87 cepas isoladas nesta célula, 62,7% foram sensíveis, 17,24% intermediárias e 20,69% resistentes aos antimicrobianos.

A seguir apresentar-se-á a frequência das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas da célula AC05 sensíveis, resistentes e intermediárias a cada antibiótico testado.

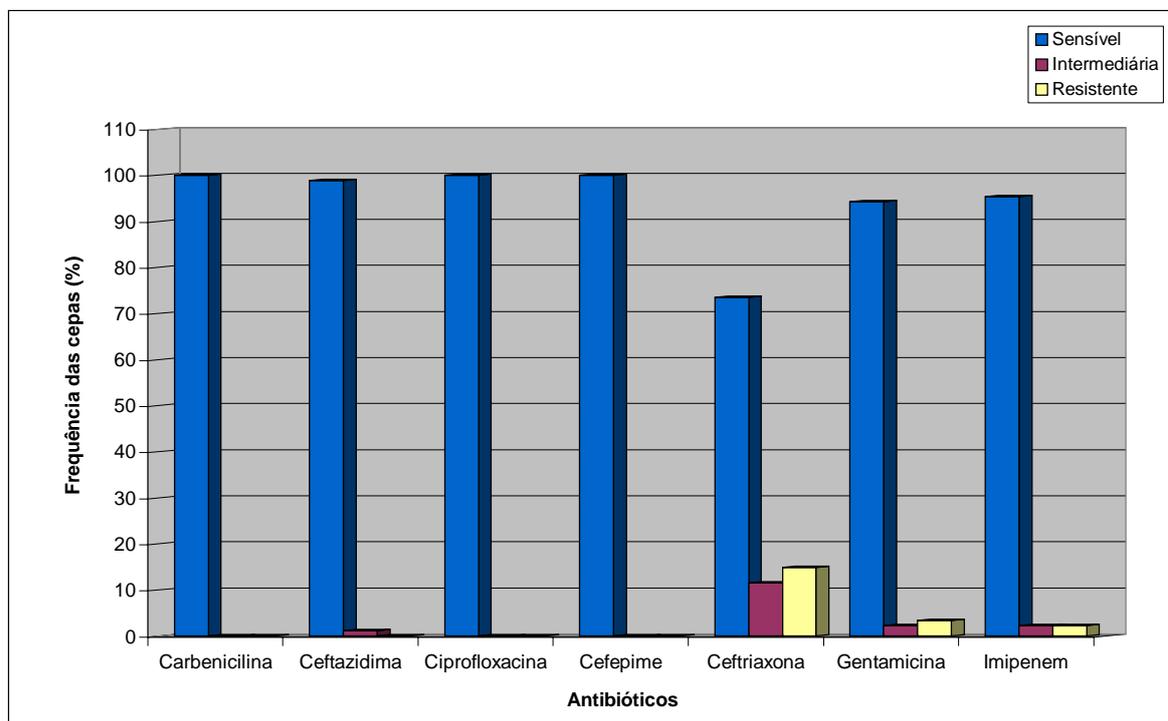


FIGURA 5.18: Frequência das 87 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas do líquido lixiviado da célula AC05, sensíveis, resistentes e intermediárias aos antibióticos testados

Verificou-se na Figura 5.18 que as 87 cepas da célula AC05 não apresentaram resistência à carbenicilina, ciprofloxacina e cefepime. Detectou-se resistência de 14,49% a ceftriaxona, 3,45% à gentamicina e 2,30% ao imipenem. Portanto, as cepas apresentaram maior resistência em relação à ceftriaxona e menor ao imipenem. Além da resistência apresentada a estes antibióticos por algumas cepas, supõe-se que outras já estão desenvolvendo resistência aos mesmos, pois foram consideradas intermediárias, conforme a zona de inibição dos halos, tabela A13 do anexo.

Com relação ao antimicrobiano ceftazidima uma frequência de 98,85% das cepas foi sensível e 1,15% foi considerada intermediária.

Ressalta-se a relevância da detecção de cepas resistentes ao imipenem, antibiótico de 4<sup>a</sup> geração pertencente ao grupo dos carbapenêmicos, que é na atualidade, o mais eficaz no tratamento de infecções hospitalares causadas por *Pseudomonas aeruginosa* (NCCLS, 2002).

Na Figura 5.19 é apresentado o resultado geral da susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas no líquido lixiviado da célula emergencial.

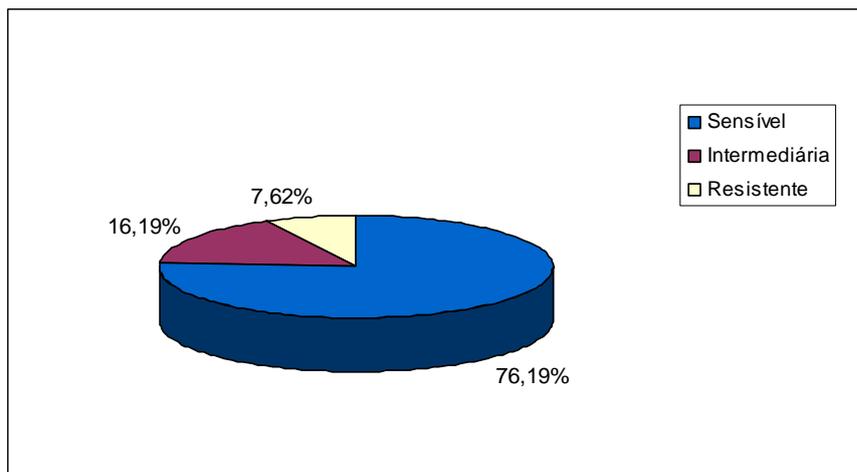


FIGURA 5.19: Susceptibilidade aos antimicrobianos das 105 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas do líquido lixiviado da célula emergencial

Observa-se que 76,19% das 105 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* da célula emergencial, apresentaram sensibilidade, quando expostas aos antibióticos testados, 16,19% foram consideradas intermediárias e apenas 7,62% apresentaram resistência aos mesmos.

A seguir apresentar-se-á a frequência das 105 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* da célula emergencial sensíveis, resistentes e intermediárias a cada antibiótico testado.

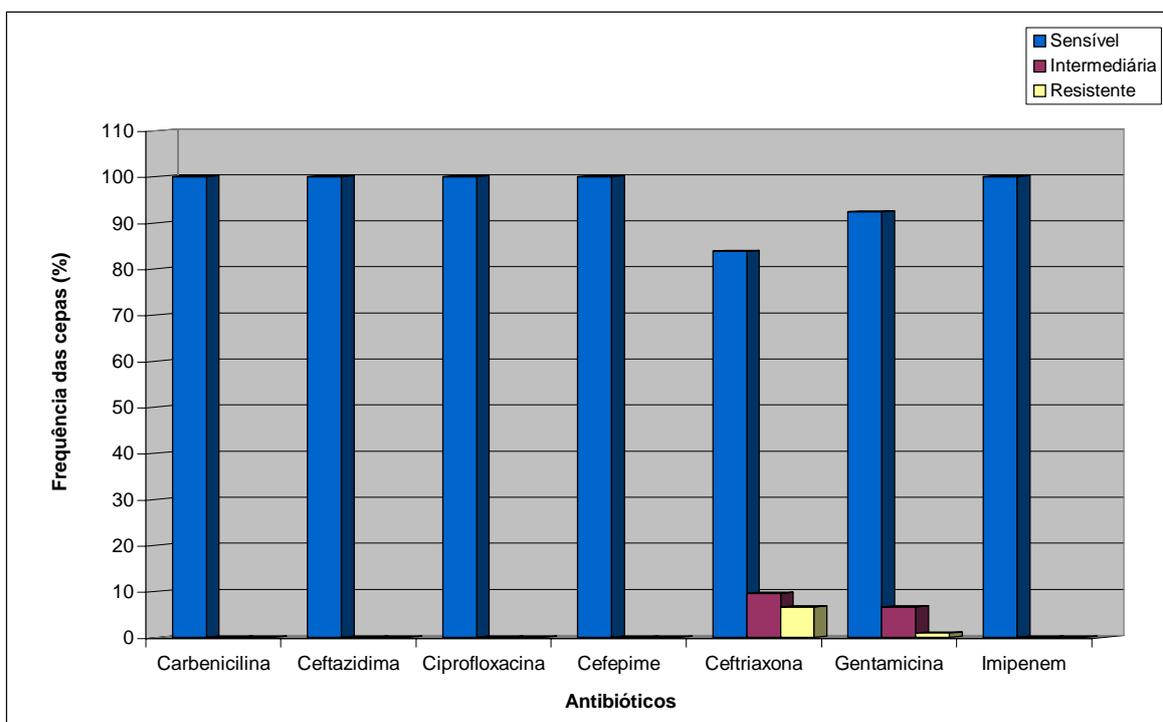


FIGURA 5. 20: Frequência das 105 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas do líquido lixiviado da célula emergencial, resistentes e intermediárias aos antibióticos testados

Verifica-se na Figura 5.20 que as 105 cepas da célula emergencial não apresentaram resistência à carbenicilina, ceftazidima, ciprofloxacina, cefepime e ao imipenem.

Detectou-se uma frequência pequena de cepas resistentes à ceftriaxona e à gentamicina, 6,67% e 0,95%, respectivamente. Uma frequência de 9,52% foi considerada intermediária à ceftriaxona e 6,67% à gentamicina.

Comparando os resultados gerais da susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas isoladas do líquido lixiviado da célula AC05 e emergencial (Figuras 5.17 e 5.19), pode-se afirmar que a frequência de cepas sensíveis foi superior na célula emergencial (76,19%). A célula AC05 apresentou maior frequência de cepas resistentes (20,69%). Já para as cepas intermediárias os valores obtidos estão próximos, sendo 17,24% para a célula AC05 e 16,19% para a célula emergencial. Contudo, tanto na célula AC05 como na emergencial foram isoladas cepas multiresistentes e intermediárias à ceftriaxona e gentamicina.

As maiores frequências de resistência foram obtidas para ceftriaxona (14,94%) e a menor para gentamicina (0,95%). Somente na célula AC05, com co-disposição de RSU e RSS, foram detectadas cepas resistentes e intermediárias ao imipenem, antibiótico mais eficaz no tratamento das infecções causadas por *Pseudomonas aeruginosa*.

De modo geral, as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas das amostras dos líquidos lixiviados do aterro sanitário de Belo Horizonte foram resistentes, simultaneamente, aos antibióticos ceftriaxona, gentamicina e imipenem. Este resultado enfatiza a preocupação dos profissionais tanto da área médica como da ambiental, com este agente patogênico oportunista e evidencia sua resistência crescente a diversos antibióticos, comumente utilizados na prevenção de infecções hospitalares, principalmente os betalactâmicos. Entretanto, comparados à literatura, as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* apresentaram níveis baixos de multiresistência às principais drogas empregadas na terapêutica de infecção causada pelas mesmas.

Os resultados deste estudo têm uma importância epidemiológica e destaca o papel do líquido lixiviado, como meio de circulação de microrganismos resistentes a antibióticos no ambiente.

A presença de *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente no líquido lixiviado representa preocupação para a saúde pública devido a possibilidade de disseminação dos genes de resistência a outras bactérias do ambiente, uma vez que a maioria dos casos de resistência está relacionada com genes que residem em plasmídeos ou em transposons e que, desta forma, podem ser rapidamente disseminados entre diferentes gêneros de bactérias (ANDREOTTI,

2003). Desta forma, considerando que a transferência de genes de uma bactéria para outra ocorre naturalmente no meio ambiente, a circulação de genes de resistência no líquido lixiviado representa um fator de risco biológico ao meio ambiente e ao homem, caso os líquidos lixiviados sejam lançados em corpos d'água sem nenhum tratamento, podendo vir a atingir os usuários por meio do consumo da água e alimentos contaminados.

Além de representar risco potencial para a saúde pública, a detecção destas cepas pode dificultar o tratamento de doenças humanas e de animais, agravando o quadro de infecções potencialmente curáveis, pois segundo LIVERMORE (2000), o aumento emergente da resistência antimicrobiana e sua disseminação entre bactérias reduzem a eficiência e o sucesso do tratamento da maioria dos antibióticos.

Estes resultados refletem a importância da pesquisa do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos e a relevância na detecção dos principais determinantes de resistência para monitorar a disseminação desses genes no ambiente.

## **5.8 Tratamento e análise estatística dos dados**

Os resultados referentes à susceptibilidade bacteriana das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* foram submetidos ao teste estatístico do  $X^2$ .

### **5.8.1 Teste do $X^2$**

Primeiramente avaliou-se o resultado geral da susceptibilidade aos antimicrobianos apresentada pelas cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. Em um segundo momento, para cada antibiótico testado e finalmente para as combinações de categorias da susceptibilidade apresentadas pelas referidas cepas.

Com a aplicação do  $X^2$  foi possível avaliar a associação entre a origem das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e a susceptibilidade aos antimicrobianos apresentada por elas (teste de independência), bem como avaliar se os valores das categorias da susceptibilidade aos antimicrobianos apresentada pelas cepas eram os mesmos para cada célula estudada (teste de homogeneidade). Foi estabelecido um nível de significância de 97,5% ( $p= 0,025$ ) para ambos os testes.

Para o teste de independência foi elaborada uma tabela de contingência 3x2, cujo resumo do resultado é apresentado na tabela 5.8.

**Tabela 5.8: Resultado do teste de independência para a susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas no líquido lixiviado das Célula AC05 e EM**

Antibiograma	N	Grupo 1	Grupo 2	X <sup>2</sup> calculado	H <sub>0</sub>	Conclusão
S, I, R	192	AC05	EM	7,40	Rejeitar	X <sup>2</sup> crítico < X <sup>2</sup> calculado

Valor do X<sup>2</sup> crítico para 2 graus de liberdade a um nível de significância de 97,5% = 7,37

(H<sub>0</sub>): não há dependência entre a susceptibilidade aos antibióticos apresentada pelas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e sua origem.

(H<sub>1</sub>): há dependência entre a susceptibilidade aos antibióticos apresentada pelas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e sua origem.

Pela análise do teste do X<sup>2</sup> pode-se inferir que:

- há dependência entre a origem das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e a susceptibilidade aos antibióticos testados (X<sup>2</sup> crítico < X<sup>2</sup> calculado), para um nível de significância de 97,5% (0,025). Portanto, a hipótese nula (H<sub>0</sub>) foi rejeitada e a hipótese alternativa (H<sub>1</sub>) foi aceita.

O resultado aponta que há dependência (associação) entre a susceptibilidade aos antibióticos testados e a origem das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas do líquido lixiviado do aterro sanitário.

Após esta análise foi realizado o teste de homogeneidade para cada antibiótico, visando detectar qual deles era responsável pela diferença entre os dados obtidos para a célula AC05 e emergencial. Entretanto, como os valores das frequências esperadas foram menores que 5, aplicou-se novamente o teste de homogeneidade, combinando-se as categorias da susceptibilidade aos antibióticos apresentadas pelas referidas cepas.

Para o teste de homogeneidade, elaborou-se uma tabela de contingência de dupla entrada (2x2), cujo resumo do resultado é apresentado na tabela 5.9.

**Tabela 5.9: Teste do X<sup>2</sup> para categorias de susceptibilidade aos antibióticos das Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas no líquido lixiviado das Célula AC05 e EM**

Antibiograma Categorias	N	Grupo 1	Grupo 2	X <sup>2</sup> calculado	H <sub>0</sub>	Conclusão
S, I + R	192	AC05	EM	4,50	Rejeitar	X <sup>2</sup> crítico < X <sup>2</sup> calculado
S + I, R	192	AC05	EM	6,94	Aceitar	X <sup>2</sup> crítico > X <sup>2</sup> calculado
S + R, I	192	AC05	EM	0,04	Rejeitar	X <sup>2</sup> crítico < X <sup>2</sup> calculado

Valor do X<sup>2</sup> crítico para 1 grau de liberdade a um nível de significância de 97,5% = 5,02

(H<sub>0</sub>): os valores das categorias de susceptibilidade aos antibióticos não são os mesmos para as cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, isoladas do líquido lixiviado da célula AC05 e da emergencial.

(H<sub>1</sub>): os valores das categorias de susceptibilidade aos antibióticos são os mesmos para as cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, isoladas do líquido lixiviado da célula AC05 e da emergencial.

Conforme resultado da tabela 5.9 pode-se afirmar que:

- os valores das categorias de susceptibilidade aos antibióticos S, I+R e S+R, I são os mesmos para as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas, tanto do líquido lixiviado da célula AC05 como da emergencial ( $X^2$  crítico <  $X^2$  calculado), para um nível de significância de 97,5% (0,025). Portanto, a hipótese nula (H<sub>0</sub>) foi rejeitada e aceitou-se a hipótese alternativa (H<sub>1</sub>).
- os valores das categorias de susceptibilidade aos antibióticos S+I e R não são os mesmos para as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas do líquido lixiviado da célula AC05 e da emergencial ( $X^2$  crítico <  $X^2$  calculado), para um nível de significância de 97,5% (0,025). Portanto, a hipótese nula (H<sub>0</sub>) foi aceita e rejeitou-se a hipótese alternativa (H<sub>1</sub>).

Assim, o resultado indica que houve diferença estatisticamente significativa entre os valores das categorias S+I e R para as cepas das células AC05 e emergencial. Para as categorias S, I+R e S+R e I de ambas as células não houve diferença significativa.

## 6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos na presente pesquisa pode-se concluir que:

- Existe uma carência de metodologias específicas para análise microbiológica de líquidos lixiviados e quando existentes, as dificuldades encontradas não são relatadas claramente e as adaptações não são bem definidas. Assim, além da divulgação dos resultados de uma pesquisa, a divulgação destes fatores limitantes em muito contribuirá para trabalhos futuros.
- A variação da composição dos líquidos lixiviados em relação ao tempo de aterramento dos resíduos, dificulta o estabelecimento de metodologias específicas para a caracterização dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos.
- As técnicas de tubos múltiplos, plaqueamento em superfície e em profundidade adaptadas para detecção dos microrganismos pesquisados proporcionou resultados satisfatórios.
- O substrato cromogênico/colilert não foi um bom meio de cultura para detecção de coliformes totais e *E. coli*, devido a turbidez do líquido lixiviado que interferiu na visualização da mudança de cor da amostra e da fluorescência, mesmo após sua diluição.
- Os meios de cultura Readycult coliformes, Readycult *Enterococcus* e Chromocult *Enterococcus* utilizados para detecção de coliformes totais, *E. coli* e *Enterococcus* possibilitaram a detecção destes microrganismos em um período mais rápido de incubação das amostras (24h), demonstraram resultados mais satisfatórios quando comparados aos meios convencionais e ao colilert.
- O pH não sofreu grandes variações durante o monitoramento do líquido lixiviado. Os valores médios de ambas as células foram próximos (7,48 na AC05 e 7,52 na emergencial). Não houve diferença significativa entre os valores obtidos nas duas células.
- Os valores mínimos, máximos e médios da condutividade e da temperatura foram mais elevados no líquido lixiviado da célula AC05. A condutividade variou de 14 a 22mS/cm na AC05 e de 4 a 10mS/cm na emergencial e os valores médios 17,09 mS/cm para a AC05 e 6, 81mS/cm para a emergencial. A temperatura variou de 32 a 42°C na AC05 e de 24 a 30°C na emergencial e os valores médios 39°C para a AC05 e 27°C para a emergencial. Houve diferença estaticamente significativa entre os valores da condutividade e da temperatura das células AC05 e emergencial.

- O potencial redox foi superior no líquido da célula emergencial e detectou-se diferença estaticamente significativa entre os valores de ambas as células. Na emergencial predominou a condição -200 a -50mV e na AC05 -400 a -300mV e os valores médios foram -117mV e -317mV, respectivamente.
- Os valores da temperatura e condutividade decaíram e do potencial redox aumentou, no líquido lixiviado da célula emergencial que tem maior tempo de aterramento dos resíduos (5 anos).
- Com relação à avaliação dos indicadores de contaminação, os valores médios para a concentração de coliformes totais e termotolerantes foi  $4,18 \times 10^2$  NMP/100mL e  $1,68 \times 10^2$  NMP/100mL na AC05 e  $4,15 \times 10^0$  NMP/100mL e  $2,39 \times 10^0$  NMP/100mL na emergencial. Para o Grupo *Enterococcus* e *Clostridium perfringens* os valores médios obtidos foram  $1,37 \times 10^3$  NMP/100mL e  $5,68 \times 10^2$  UFC/mL para a célula AC05 e  $1,51 \times 10^2$  NMP/100mL e  $1,22 \times 10^1$  UFC/mL para a célula emergencial.
- Os valores médios dos indicadores de contaminação foram superiores na célula AC05. Entretanto, após a análise do teste de sinais, não houve diferença significativa entre os valores do Grupo *Enterococcus*. Para os valores dos demais indicadores de contaminação houve diferença estatisticamente significativa.
- O resultado atesta o predomínio dos coliformes totais, termotolerantes e *Clostridium perfringens* no líquido lixiviado da célula AC05 (co-disposição de Rsu e RSS), onde o aterramento de resíduos estava em operação durante o período de amostragem, conseqüentemente devido à disponibilidade de nutrientes e presença de material fecal.
- O valor médio da concentração de bactérias aeróbias foi  $5,79 \times 10^4$  UFC/mL na célula emergencial e  $2,21 \times 10^4$  UFC/mL na AC05. Não houve diferença significativa entre estes valores.
- No estudo referente aos microrganismos de interesse da CCIH não foi detectado *S. aureus*. A *Pseudomonas aeruginosa* apresentou a maior concentração dentre os microrganismos pesquisados e os valores mínimos ( $9,2 \times 10^1$  NMP/100mL) e máximos ( $2,0 \times 10^6$  NMP/100mL) foram similares para a célula AC05 e emergencial. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores detectados na célula AC05 e emergencial.
- O resultado da análise estatística evidencia a igualdade da célula AC05 e emergencial em relação à concentração de *Pseudomonas aeruginosa*. Desta forma, referente à presença dos microrganismos de interesse da CCIH, o líquido lixiviado oriundo da célula com aterramento de RSU e RSS representa o mesmo risco biológico.

- A análise fatorial por componentes principais, demonstrou que:
  - O agrupamento das observações da célula AC05 apresenta-se mais disperso que o da emergencial, indicando menor estabilidade e homogeneidade do líquido lixiviado.
  - O líquido lixiviado da célula emergencial, oriundo de resíduos com um maior tempo de aterramento (5 anos) possui maiores valores para potencial redox e menores para condutividade e temperatura.
  - A população dos microrganismos estudados é maior no líquido lixiviado da célula AC05.
  - Dentre as variáveis analisadas, as físico-químicas exerceram maior influência no sistema.
  - O tempo de aterramento dos resíduos e fatores exógenos como a chuva, podem determinar as variações ocorridas nos parâmetros físico-químicos e microbiológicos.
- As cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas dos líquidos lixiviados da célula AC05 apresentaram maior percentual de resistência (20,69%) aos antibióticos do que as da célula emergencial (7,6%).
- As cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de ambas as células apresentaram resistência múltipla aos betalactâmicos comumente utilizados no tratamento de infecções humanas.
- Ressalva deve ser feita à resistência apresentada por algumas cepas da célula AC05 ao imipenem, carbapenêmico de quarta geração e mais eficaz no tratamento de infecções causadas pela *P. aeruginosa*.
- A detecção de cepas resistentes, ainda que em percentual baixo, é um fator relevante, pois podem representar risco à saúde pública, uma vez que as mesmas estão disponíveis no líquido lixiviado, podendo conseqüentemente estar presente no meio ambiente e serem disseminadas, sobretudo nos corpos d'água e vir a atingir o homem via ingestão da água ou alimentos contaminados por estas cepas.
- Os resultados obtidos evidenciam a multiresistência crescente da *Pseudomonas aeruginosa* aos betalactâmicos, indicando assim o risco potencial não somente a nível hospitalar como também no ambiente.
- Pelo teste do  $X^2$ , há associação entre a origem das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (célula com disposição, somente de RSU e célula com co-disposição de RSU e RSS) e a susceptibilidade aos antibióticos testados.

- O resultado do teste de homogeneidade indica que houve diferença estatisticamente significativa entre os valores das categorias S+I e R para as cepas das células AC05 e emergencial. Para as categorias S, I+R e S+R e I de ambas as células não houve diferença significativa.
- Para este estudo referente a avaliação microbiológica do líquido lixiviado do aterro sanitário de Belo Horizonte há indícios que os RSS podem representar maior risco potencial à saúde pública e ao meio ambiente. Entretanto, esta afirmação não é conclusiva, dada a diferença das condições de operação das células pesquisadas: diferentes idades de aterramento dos resíduos, somente a emergencial passou por processo de biorremediação. Ademais, para este estudo não avaliou-se a microbiota do solo do aterro, dos resíduos aterrados e das diversas camadas de cobertura, para averiguar se as bactérias isoladas foram oriundas dos resíduos aterrados.
- Os parâmetros microbiológicos pesquisados na avaliação do líquido lixiviado do aterro sanitário de Belo Horizonte foram bons indicadores:
  - A presença de coliformes totais, termotolerantes e Grupo *Enterococcus* atestaram a poluição de origem fecal e a sobrevivência destes microrganismos no líquido lixiviado, uma vez que fezes de animais, fraldas descartáveis e papel higiênico são geralmente encontrados nos RSU e RSS;
  - A detecção de indicadores de contaminação fecal e de interesse da CCIH nos líquidos lixiviados de ambas as células alertou para a possibilidade da presença de outros microrganismos patogênicos advindos dos RSU e RSS;
  - A presença de *Clostridium perfringens* e *Pseudomonas aeruginosa* ressaltou a importância ecológica destas espécies na biodegradação de compostos orgânicos presentes no líquido lixiviado do aterro sanitário.

## 7 RECOMENDAÇÕES

As principais recomendações decorrentes desta pesquisa são:

- Para uma melhor avaliação da presença de bactérias patogênicas no líquido lixiviado, seria interessante incluir análises dos nutrientes, carbono, nitrogênio e fósforo.
- Pesquisar a presença de vírus, leveduras e fungos patogênicos no líquido lixiviado, pois há uma escassez de dados na literatura sobre este tema.
- Realizar caracterização genotípica das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas dos líquidos lixiviados que apresentaram resistência aos antibióticos testados, visando identificar seus mecanismos de resistência e compará-las com outras cepas originárias dos RSU e RSS, com o emprego de métodos moleculares.
- Pesquisar os mesmos parâmetros físico-químicos e microbiológicos nos líquidos lixiviados das células AC05 e emergencial em período seco (Julho a Setembro) para comparar com os resultados do presente trabalho, obtidos em épocas das chuvas (Janeiro a Abril).
- Realizar novos estudos para os mesmos parâmetros físico-químicos e microbiológicos em escala piloto, com condições iguais para células com aterramento de RSU, RSS e codisposição de RSU e RSS, a fim de respaldar e fundamentar a questão da co-disposição dos RSU e RSS.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASM/AMERICAN SOCIETY MICROBIOLOGY. Report of the ASM task force on antibiotic resistance. **Antimicrob Agents Chemother**, v.39, n.1, p.1-23, 1999.

ANDRADE, J.B.L. Determinação da composição gravimétrica dos resíduos de serviços de saúde de diferentes tipos de estabelecimentos geradores. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 20, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES, 1999. p.1666 –1672. 1 CD-ROM.

ANDREOTTI, R. Uso de antimicrobianos e resistência em gado de corte. In: SIMPÓSIO DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS, 2, 2003. Rio de Janeiro. **Conferência**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2003, 1 CD-ROM.

APHA. AWWA. WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20.ed. Washington, 1998.

APHA. **Compendium for the microbiological methods of food**. 4.ed. Washington, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10004**: resíduos sólidos - classificação. Rio de Janeiro: ABNT, 1987.

\_\_\_\_\_. **NBR 10005**: lixiviação de resíduos - procedimentos. Rio de Janeiro: ABNT, 1987.

\_\_\_\_\_. **NBR 10006**: solubilização de resíduos - procedimentos. Rio de Janeiro: ABNT, 1987.

\_\_\_\_\_. **NBR 10007**: amostragem de resíduos - procedimentos. Rio de Janeiro: ABNT, 1987.

\_\_\_\_\_. **NBR 12807**: resíduos de serviços de saúde - terminologia. Rio de Janeiro: ABNT, 1993.

\_\_\_\_\_. **NBR 12808**: resíduos de serviços de saúde - classificação. Rio de Janeiro: ABNT, 1993.

\_\_\_\_\_. **NBR 8419**: apresentação de projetos de aterros sanitários de resíduos sólidos urbanos. Rio de Janeiro: ABNT, 1984.

BARROS, R.T.V.; CHERNICHARO, C.A.L.; HELLER, L.; SPERLING, M.V. **Manual de saneamento e proteção ambiental para os municípios**: saneamento. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 1996. 221p. 2v.

BASTOS, R.K.X.; BALILACQUA, P.D.; NASCIMENTO, L.E.; CARVALHO, G.R.M.; SILVA, C.V. Coliformes como indicadores da qualidade da água: alcance e limitações. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 27, 2000. Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: ABES, 2000, p. 1-12. 1 CD-ROM.

BIDONE, F.R.A. (Coord.). **Resíduos sólidos provenientes de coletas especiais**: reciclagem e disposição final. Rio de Janeiro: Rima, Abes. 2001. 240p. Projeto PROSAB.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº2616, de 12 de maio de 1998. Dispõe sobre a obrigatoriedade da manutenção pelos hospitais do país, de programa de controle de infecções hospitalares. DOU. 13/05/1998. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº33, de 25 de fevereiro de 2003. Dispõe sobre o regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. DOU. 05/03/2003.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente e da Amazônia Legal. Resolução CONAMA nº5, de 05 de agosto de 1993. Dispõe sobre os procedimentos mínimos para o gerenciamento de resíduos sólidos com vistas a preservar a saúde e a qualidade do meio ambiente, revoga os itens I, V, VI, e VIII da Portaria MINTER nº 13, de Primeiro de março de 1979. **LEX**, v.57, p.1981-1984, jul./set. 1994.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente e da Amazônia Legal. Resolução CONAMA nº283, de 10 de julho de 2001. Dispõe sobre tratamento e destinação final dos resíduos de serviços de saúde. DOU. 01/10/2001.

BRITO, M.A.V.P. Uso de antibacterianos na pecuária leiteira e risco de resistência para o homem. In: SIMPÓSIO DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS, 2, 2003. Rio de Janeiro. **Conferência**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2003, 1 CD-ROM.

BROCK, **Biology of Microorganisms**. 10.ed. Rio de Janeiro: Prentice Hall, 2003. p.159-205.

CASTILHOS JR, A.B.; MEDEIROS, P.A.; FIRTA, I.N.; LUPATINI, G; SILVA, J.D. Principais Processos de Degradação de Resíduos Sólidos Urbanos. In: CASTILHOS JR, A.B. (Org.). Resíduos Sólidos Urbanos: Aterro Sustentável para Municípios de Pequeno Porte. Rio de Janeiro: Rima ABES, 294p., 2003.

CATAPRETA, C.A.A.; HELLER L. **The association between solid waste disposal in urban areas and health indicators- The case of Belo Horizonte, Brazil**. In: Kocasoy G.; Atabarutt. Nuhoglu I. (Ed.) Appropriate environmental and solid waste management and technologies for developing countries. Istanbul: Bogaziçi Üniversitesi, 2002. v.1, p. 617-624.

CERQUEIRA, D.A.; SÁ HORTA, M.C. Coliformes fecais não existem. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 20, 1999, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES, 1999, p. 1239-1244.

CETESB. Norma técnica L 220: *Pseudomonas aeruginosa* – Determinação em amostras de água técnica de membrana filtrante. São Paulo: 1993. 30p.

CETESB. Norma técnica L5.202: Coliformes totais e fecais – Determinação do número mais provável pela técnica de tubos múltiplos. São Paulo: 1998. 39p.

CHARRIERE, G.D.A.; MOSSEL, B.; LECLERC, H. Assessment of the marker value of various components of the coli-aerogenes group of Enterobacteriaceae and of a selection of Enterococcus spp. for the official monitoring of drinking water supplies. **Journal of Applied Bacteriology**, p. 336- 344, 1994.

CLARETO, C.R. **Tratamento biológico de líquidos percolados gerados em aterros sanitários utilizando reator anaeróbico compartimentado**, São Carlos. Dissertação (Mestrado), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 1997.

COLLINS, C.H.; KENNEDY, D.A. The microbiological hazards of municipal and clinical wastes. **Journal of Applied Bacteriology**, v.1, n.13, p.1-6,1992.

COMPANHIA DE ÁGUA E SANEAMENTO DE MINAS GERAIS. **Estabelece critérios para o lançamento de efluentes líquidos da indústria na rede pública coletora de esgoto**. Belo Horizonte, (Nota técnica T-187/0).

- COOPER, R.C.; POTTER, J.L.; LEONG, C. Virus survival in solid waste leachates. **Water Research**, v.9, p.733-739, 1975.
- COUTO, R.C.; PEDROSA, T.M.G; NOGUEIRA, J.M. **Infecção hospitalar**: epidemiologia e controle. 2.ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1999. p.159-205.
- CUSSIOL, N.A.M.; LANGE, L.C.; FERREIRA, J.A. Resíduos de serviços de saúde. In: COUTO, R.C.; PEDROSA, T.M.G; NOGUEIRA, J.M. **Infecção hospitalar e outras complicações não-infecciosas da doença: epidemiologia, controle e tratamento**. 3.ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2003. Cap. 17, p. 369-428.
- DONNELLY, J.A.; SCARPINNO P.V. Isolation, characterization, and identification of microorganisms from laboratory and full-scale landfills. EPA-600/2-84-119. U.S. **Environmental Protection Agency**, Cincinnati, OH. 1983.
- DUTKA, B.J.; KAMEL, M. Incidence of coliphage in potable water supplies. **Applied and Environmental Microbiology**. v.54, n.3, p.1632-1633, 1988.
- ENGELBRECHT, R.; AMIHOR, P. **Inactivation of enteric bacteria and viruses in sanitary landfill leachate**. Springfield: National Technical Information Service, 1975. (NTIS PBO 973/As) apud COLLINS, C.H.; KENEDDY, D.A. The microbiological hazards of municipal and clinical wastes. **Journal of Applied Bacteriology**, v.1, n.13, p.1-6, 1992.
- FERNANDES, A.T. Antibióticos vencendo a resistência microbiana. **Revista Meio de Cultura**, ano III 3, n.13, p.18-19, set./dez. 2000.
- FERNANDES, A.T.; FERNANDES, M.O.V; RIBEIRO FILHO, N. **Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde**. São Paulo: Atheneu. 2000. v.1, 1116p.
- FERREIRA, J.A. **Lixo hospitalar e domiciliar**: semelhanças e diferenças. Estudo de caso no município do Rio de Janeiro. 1997. 218p. Tese (Doutorado em Ciências) - Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 1997.
- FERREIRA, J.A.; ANJOS, L.A. Aspectos de saúde coletiva e ocupacional associados à gestão dos resíduos sólidos municipais. **Cadernos de Saúde Pública**. v.17, n.13, p.1-13, 2001.
- FORRATINI, O.P. **Aspectos epidemiológicos ligados ao lixo em resíduos sólidos de limpeza urbana**. Faculdade de Saúde Pública, Deptº Saúde Ambiental, USP, 1973. p. 3-14.
- FUSCONI, R.; GODINHO, M.J.L. Bacteria and protozoa populations in groundwater in a landfill area in São Carlos, SP. **Revista de Microbiologia**, v.30, n.3, p.196- 202, 1999.
- HUBER, M.S.; GERBA C.P.; ABBASZADEGAN M.; ROBINSON J.A.; BRADFORD S.M. Study of persistence of enteric viruses in landfilled disposable diapers. **Environmental Science Technology**, v. 28 p.1767-1772, 1994.
- IBGE/ INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa Nacional de Saneamento Básico, 2000. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/população/condição> de vida/pnsb/livro > Acesso em: 23 de Julho/ 2003.
- IPT/INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS. **Lixo municipal**: manual de gerenciamento integrado. 2.ed. São Paulo:IPT/CEMPRE, 2000. 390p. (IPT - 2622).

ITAL/INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Manual de métodos de análise microbiológica de água**. Campinas: ITAL, Núcleo de Microbiologia, 2000.99p.

KINMAN, R.; RICKABAUGH J.; DONNELLY J.; NUTINI J.; LAMBERT M. Evaluations and disposal of waste materials within 19 test lysimeters at Center Hoill. EPA-600/2-86-035. **U.S. Environmental Protection Agency**, Cincinnati, OH, 1986.

KYLEFORS, K. Evaluation of leachate composition by multivariate data analysis (MVDA). **Journal of Environmental Management**, v.68, p.367-376, 2003.

LIBÂNIO, P.A.C. **Avaliação da eficiência e aplicabilidade de um sistema integrado de tratamento de resíduos sólidos urbanos e de chorume**. 2002. 156 p. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

LICHTVEL, D.; RODENBECK, S.G.; LYBARGER, J.A. **The public health implication of medical waste**: a report to Congress. Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 1990. (PB 91-100 271).

LIMA, L.M.Q. **Biorremediação de lixões**: aplicações da biotecnologia. 2002. 274p.

LIVERMORE, D.M. Antibiotic resistance in staphylococci. **Internacional Journal of Antimicrobial Agents**, v.16, p.3-10, 2000.

MACEDO, J.A.B. **Introdução à química ambiental**: Química e Meio Ambiente e Sociedade. Juiz de Fora. 2002.

MAGALHÃES, T. Lixo hospitalar: Quem cuida? Quem sustenta? **Revista Brasileira de Saneamento e Meio Ambiente BIO**, anoXI, n. 16, p.66-68, out./dez. 2000.

MARTINS, M.A. (coord.). **Manual de infecção hospitalar**: epidemiologia, prevenção, controle. 2.ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001.763p.

MCDERMONTT, P.F.; ZHAO, S.; WAGNER, D.D.; SIMJEE, S.; WALKER, R.D.; WHITE, D.G. The food safety perspective of antibiotic resistance. **Animal Biotechnology**, v.13, n.1, p.71-84, 2002.

MENDES, C.; OPLUSTIL, C.; SINTO, S. Sensibilidade aos antimicrobianos de amostras de *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp: dados do programa de vigilância RESISTNET Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia**. Rio de Janeiro, v. 37, n. 1, p. 11-16, 2001.

MINAS GERAIS. Deliberação normativa COPAM n.10, de 16 de dezembro de 1986. Estabelece normas e padrões para a qualidade das águas, lançamento de efluentes nas coleções de águas, e dá outras providências. Diário do Executivo, Minas Gerais. 10/01/87.

MINAS GERAIS. Deliberação normativa COPAM n.46, de 09 de agosto de 2001. Estabelece alteração no limite de eficiência de remoção em termos de Demanda Bioquímica de Oxigênio e Demanda Química de Oxigênio para os sistemas de tratamento de esgotos domésticos e de percolado de aterros sanitários municipais e dá outras providências. Diário do Executivo, Minas Gerais. 10/08/01.

MOTA, S. Saneamento IN: ROUQUAYROL, M.Z.; ALMEIDA FILHO, N. **Epidemiologia e Saúde**. 5.ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1999, p.405-430.

- MURRAY, P.; DREW, W.L.; KOBAYASHI, G.S.; THOMPSON, J.H. **Microbiologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992.
- NCCLS, 2002, Methods for antimicrobial susceptibility testing of aerobic bacteria, **Approved STANDARD M-100-S2**. NCCLS.
- OLIVEIRA, A.C.; ALBUQUERQUE, C.P.; ROCHA, L.C.M. **Infecções hospitalares: abordagem, prevenção e controle**, Rio de Janeiro: MEDSI, 1998. 416p.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Guia para la calidad del agua potable**. Genebra: OMS, 1995. 2 v. V. 1: Recomendaciones.
- ORTOLAN, M.G.S.; CARDOSO, M.R.I.; AYUB, M.A.Z. Perfil microbiológico de bactérias mesófilas do efluente do hospital das clínicas de Porto Alegre. In XXVII CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 27, 2000, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: ABES, 2000. p.1-4. 1CD-ROM.
- PALMISANO, A.C.; BARLAZ, M.A. **Microbiology of solid waste**. Edited by Anna C. Palmisano and Morton A. Barlaz, New York: CRC press, 1996. 224p.
- PELCZAR, J.R.; CHAN, M.J.; KRIEG, E.C.E. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2.ed, São Paulo: MAKRON BOOKS, 1996. 2 v.
- POHLAND, F.G.; HARPER, S.R. **Critical review and summary of leachate and gas production from landfill**. Tech. Project. nE20G01. dec.1985.
- PILLAI, S.P.; PILLAI, P.A.P.; SHANKEL, B.M.; MIPFCHER, L.A. Hability of certain antimutagenic agents to present development of antibiotics resistance. **Mutation Research**. v.496, n.2, p.61-63, 2001.
- QASIM, S.R.; CHIANG, W. **Sanitary landfill leachate: generation, control and treatment**. Lancaster: Technomic, 1994. 339p.
- REGO, R.C.F; BARRETO, M.L.; KILLINGER, C.L. O que é lixo afinal? Como pensam mulheres residentes na periferia de um grande centro urbano. **Cadernos de Saúde Pública**. v.18. n.6 p.1-17, 2002.
- ROCHA, A.A. Aspectos epidemiológicos e poluidores, vetores, sumeiros, percolados. **Revista DAE**, São Paulo, v. 128, n. 42, p. 63-68, 1982.
- ROCHA, A.A; NEDER, L.T.C. Agravos sanitários e ambientais decorrentes do tratamento e/ou disposição de resíduos sólidos nas áreas de proteção de mananciais – RMSP. **Revista de Limpeza Pública** n. 46, p.7-14, nov.1997.
- ROCHA, G.H.T. **Identificação e avaliação de resíduos potencialmente perigosos no resíduo sólido urbano**. 2003. 135p. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.
- RUTALA, W.A., MAYHALL, C.G. Medical waste. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v.13, n.1, p.38-48. 1992.
- SAMPAIO, I.B.M. Relatório de Atividade de Pós-doutorado, Belo Horizonte: Escola de Veterinária, 1993, 1v.

- SAMPAIO, I.B.M. Estatística aplicada à experimentação animal. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998, 221p.
- SANCHES, P. S. **Sorotipos de Salmonella em águas de esgoto e perfil de resistência aos antimicrobianos**. 1988.140p. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1988.
- SCHAECHTER, M.; ENGLEBERG, N.C.; EISENTEIN, B.I.; MEDOFF, G. Microbiologia: mecanismos de doenças infecciosas. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- SCHIO, R. **Caracterização toxicológica de produtos domésticos perigosos que geram resíduos sólidos perigos e sua destinação no município de Campo Grande**. 2001. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Ambientais) - Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2001.
- SEGATO, L.M.; SILVA, C.L. Caracterização do chorume do aterro sanitário de Bauru . In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 27, 2002, Cancun. **Anais...** Cancun: ABES, 2002. p.1-9. 1CD-ROM.
- SCHNEIDER, V.N.; REGO, R.C.E.; CALDART, V.; ORLANDINI, S.M. Manual de gerenciamento de resíduos sólidos de serviços de saúde. São Paulo: CTR Balieiro, 2001. 173p.
- SILVA, C.H.P.M. **Bacteriologia**: um texto ilustrado. Rio de Janeiro: Eventos, 1999, 531p.
- SIMPÓSIO DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS, 2, 2003, Rio de Janeiro.
- SISINNO, C.L.S. (org.). **Resíduos sólidos, ambiente saúde**: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz. 2000. 142p.
- SOARES, S.R.; BENETTI, L.B.; OLIVEIRA, C.; BARRELLA, K.M.; ALVES, K.C.G. Avaliação microbiológica do percolado nos resíduos hospitalares infecciosos In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 21, 2001. João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: ABES, 2001. p.1-10. 1 CD-ROM.
- SOARES, S.R.; CASTILHO JÚNIOR, A.B.C.; MACEDO, M.C. Diagnóstico da produção de resíduos de serviços de saúde. Estudo de Caso: Hospital Universitário. Florianópolis, In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 19, 1997. Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu:ABES, 1997. p.1-7. 1 CD-ROM.
- SOBSEY, M.D. Field survey of enteric viruses in solid waste landfill leachates. **American Journal of Public Health**, v.68, n.9, p.858-864, 1978.
- SOUZA, L.F. **Composição de resíduos sólidos de serviços de saúde com resíduos urbanos**. 2003. 169 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental) - Instituto de Pesquisas Hidráulicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.
- SPERLING, M.V. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**: introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgoto. 2.ed. rev. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 1996. 243 p. 1v.
- SUFLITA, J.M.; GERBA, C.P.; HAM, R.K.; PALMISANO, AC.; RATHJE, W.L.; ROBINSON, J.A. The world's largest landfill: a multidisciplinary investigation. **Environmental Science Technology**, v 26, p.1486-1495, 1992.

- TAVARES W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos**. 3.ed. São Paulo: Atheneu. 2001. 1216p.2v.
- TCHOBANOGLIOUS, G.; THEISEN, H.; VIGIL, S. **Integrated solid waste management: engineering principles and management issues**. New York: MacGraw-Hill, 1993, 978p.
- TORRES, P.; BARBA, L.E.; RIASCOS, J.; VIDAL J.C. Tratabilidade biológica de chorume produzido em aterro não controlado. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v.2 , n.2, p. 55-62, abr./jun. 1997.
- TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE. C.L. **Microbiologia**. 6.ed. Tradução. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000. 543 p.
- TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia**. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 2002. cap. 11, p. 105-121.
- TRIEU-COUT, P.; ARTHUR, M.; COURVALIN, P. Origin, evolution and dissemination of antibiotic resistance genes. **Microbiological Sciences**, v. 4. n 9, 1987.
- TRIOLA, M.F. **Introdução à estatística**. 7.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2003. 410 p.
- VIEIRA, R.H.S.F. Susceptibilidade antimicrobiana de *E. coli* de origem humana, alimentar e ambiental. In: SIMPÓSIO DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS, 2, 2003. Rio de Janeiro. **Conferência**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2003, 1 CD-ROM.
- ZANON, U. Epidemiologia dos resíduos sólidos hospitalares. **Arquivo Brasileiro de Medicina**, v.65, n.5a, p.89S-92S, 1991.
- ZANON, U. Riscos infecciosos imputados ao lixo hospitalar: realidade epidemiológica ou ficção sanitária? **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.23, n.3, p.163-170, 1990.
- ZANON, U.; EIGENHEER, E. O que fazer com os resíduos hospitalares: proposta para classificação, embalagem, coleta e destinação final. **Arquivo Brasileiro de Medicina**, v.65, n.3, p.233-237, 1991.