

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS LONDRINA
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL**

JAQUELINE RIBEIRO IMBRIANI

**RESÍDUOS DE LODO DE ESGOTO: AVALIAÇÃO DE RISCO
POTENCIAL AMBIENTAL E PARA A SAÚDE**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LONDRINA

2015

JAQUELINE RIBEIRO IMBRIANI

**RESÍDUOS DE LODO DE ESGOTO: AVALIAÇÃO DE RISCO
POTENCIAL AMBIENTAL E PARA A SAÚDE**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2, do Curso Superior de Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, Câmpus Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel.

Orientadora: Prof^a. Luciana Furlaneto Maia

LONDRINA

2015



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do
Paraná



Campus Londrina
Coordenação de Engenharia Ambiental

TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Monografia
RESÍDUOS DE LODO DE ESGOTO: AVALIAÇÃO DE RISCO
POTENCIAL AMBIENTAL E PARA A SAÚDE

por
Jaqueline Ribeiro Imbriani

Monografia apresentada no dia 30 de junho de 2015 ao Curso Superior de Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Londrina. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho _____
(aprovado, aprovado com restrições ou reprovado).

Profa. Dra. Kátia Prates
(UTFPR)

Profa. Dra. Juliana Feijó
(UTFPR)

Profa. Dra. Luciana Maia
(UTFPR)
Orientador

Profa. Dra. Ligia Flávia Antunes Batista
Responsável pelo TCC do Curso de Eng. Ambiental

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me conceder esta oportunidade de estudo e formação ao lado de pessoas tão especiais e capazes, com as quais aprendi muito e jamais irei me esquecer.

À minha família, principalmente meus pais Miguel e Yara, por todo apoio e dedicação para que eu pudesse vencer mais esta etapa de minha vida. Sem eles eu não seria capaz de chegar até aqui, eles são tudo para mim.

À minha orientadora, professora Dra. Luciana F. Maia, por toda paciência e todos os ensinamentos que me passou, aprendi muito neste trabalho de conclusão de curso e sem a sua orientação, jamais obteria êxito nesta pesquisa. Também agradeço as professoras Dras. Katia e Juliana que constituíram a banca examinadora por toda atenção e ajuda dedicadas a este estudo.

Às minhas amigas de trabalho no laboratório Gabriela, Sharise e Bárbara, por sempre estarem presentes na forma de conselhos, amizade e companheirismo, além de sempre ajudarem nos momentos de tensão com experimentos e desenvolvimento do trabalho.

Por fim, agradeço ao meu noivo Lucas, por todo amor, carinho e compreensão neste momento final de minha formação. Aproveito este último parágrafo para também agradecer a todos os amigos que estiveram presentes e sempre que precisei me deram palavras de amor e sabedoria, sempre estiveram orando por mim para que eu não desistisse e que tivesse forças no caminho ao qual escolhi seguir.

RESUMO

IMBRIANI, J. R. Resíduos de lodo de esgoto: avaliação de risco potencial ambiental e para a saúde. 2015. 47 f. Trabalho de conclusão de curso em Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2015.

Atualmente, o esgoto lançado sem tratamento é o principal agente poluidor de água, promovendo assim a degradação do corpo hídrico, bem como a propagação de doenças parasitárias e infecciosas. Portanto, é necessário a passagem desse esgoto coletado em estações de tratamento, as quais irão separar e tratar a parte líquida da parte sólida do efluente, tornando possível seu lançamento em um corpo receptor. Uma consequência desse tratamento é a geração de lodo,. Este trabalho aborda a questão da caracterização físico-química e microbiológica do lodo de esgoto gerado na ETE Norte, na cidade de Londrina – PR. São apresentados conceitos de tratamento deste resíduo, bem como o tratamento a patógenos presentes no sistema de esgotamento sanitário doméstico urbano e a sua resistência a antimicrobianos, o que caracteriza o perfil sanitário da população atendida. Foram isolados dois microrganismos que se enquadram na categoria de coliformes totais, sendo eles *Enterococcus spp.* e *Escherichia coli*, os quais foram submetidos a testes para confirmação de gênero (isolamento nos meios presuntivos-seletivos KEA, mFC e mENDO; teste morfotintorial; teste de catalase e citrato de Simmons), além de avaliar-se a resistência à antibióticos dos mesmos em cinco colônias escolhidas aleatoriamente (sendo testados eritromicina 15 µg, teicoplanina 30 µg, norfloxacin 10 µg, estreptomicina 10 µg, cloranfenicol 30 µg, ampicilina 10 µg, gentamicina 10 µg, vancomicina 30 µg, ciprofloxacina 5 µg e penicilina 10 µg para as amostras de *Enterococcus spp.* e para as amostras de *E. coli* os antimicrobianos testados foram: amicacina 30 µg, amoxicila + ácido clavulânico 30 µg, norfloxacin 10 µg, imipenem 10 µg, cloranfenicol 30 µg, ampicilina 10 µg, gentamicina 10 µg, cefalotina 30 µg e ciprofloxacina 5 µg). Dos 45 isolados, 26,67% foram confirmados para *Enterococcus spp.* e dos 52 isoaldos foram confirmados 57,69% para *E.coli*. Foi observado que houve multirresistência, ou seja, resistência a mais de um antibiótico, para ambos os microrganismos. Verificou-se também os fatores de pH, umidade, condutividade elétrica, sólidos totais e sólidos voláteis totais do lodo estando estes em sua maioria de acordo com os parâmetros encontrados por outros autores, ressalta-se que em alguns pontos de coleta onde os resultados não foram de acordo com o esperado justifica-se pelo tempo de permanência do lodo no leito de secagem na época da coleta, bem como da incidência de radiação solar direta no leito.

Palavras-chave: Estação de tratamento de esgoto. Lodo de esgoto. *Enterococcus spp.* *Escherichia coli*. Antibióticos.

ABSTRACT

IMBRIANI, J.R. Sewage sludge residues: potential environmental risk and to the health assessment. 2015. 47 f. Trabalho de conclusão de curso em Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2015.

Currently, the sewage is released untreated main water polluting agent, thereby facilitating degradation of the water body, as well as the spread of infectious and parasitic diseases. It is therefore necessary to pass this sewage collected in water treatment plants, which will separate and treat the liquid portion of the solid part of the effluent, making it possible to launch into a receiving body. A consequence of this treatment is the sludge generation ,. This paper addresses the issue of physical-chemical and microbiological characteristics of sewage sludge generated in North WWTP in the city of Londrina - PR. Of this waste treatment concepts are presented, as well as treating the pathogens present in the urban domestic sewage system and its resistance to antibiotics, which characterizes the health profile of the population served. They were isolated two microorganisms that fall into the category of total coliforms, namely *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli*, which were tested for gender confirmation (insulation in the presumptive-selective media KEA, MFC and Mendo; morphotypes test, catalase test and Simmons citrate), and to evaluate the resistance to antibiotics of the same in five randomly chosen colonies (being tested erythromycin 15 mcg, 30 mcg teicoplanin, norfloxacin 10 ug, 10 ug streptomycin, chloramphenicol 30 ug, 10 ug ampicillin, gentamicin 10 mcg, 30 mcg vancomycin, ciprofloxacin, penicillin and 5 ug to 10 ug samples . *Enterococcus* spp and for samples of *E. coli* tested antimicrobials were amikacin 30 ug, amoxicila + clavulanic acid 30 mcg, norfloxacin 10 g, 10 g imipenem, 30 mcg chloramphenicol, ampicillin 10 g, 10 g gentamicin, cephalothin 30 ug and 5 ug ciprofloxacin). Of the 45 isolates, 26.67% were confirmed for *Enterococcus* spp. isoaldos 52 and 57.69% were confirmed for *E. coli*. It observed multidrug resistance, ie, resistance to more than one antibiotic, for both organisms. There was also the pH factors, moisture, electrical conductivity, total volatile solids and total solids from sludge and these are mostly in accordance with the parameters found by other authors, it is noteworthy that in some collection points where the results do not They were as expected justified by the sludge residence time in the drying bed at the time of collection, as well as the incidence of direct solar radiation in the bed.

Keywords: Sewage treatment plant. Sewage sludge. *Enterococcus* spp. *Escherichia coli*. Antibiotics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: ETE Norte e Leitões de secagem indicados pela seta.	23
Figura 2: Leito de secagem com quadrículas imaginárias	24
Figura 3: Sistema de filtração com bomba de vácuo.....	26
Figura 4: Colônias escuras indicando presença de <i>Enterococcus spp.</i>	30
Figura 5: (A) Reação característica do teste de catalase: a esquerda reação negativa; à direita reação positiva (bolhas); (B) Coloração de Gram para <i>Enterococcus spp.</i>	31
Figura 6: Teste de discodifusão com antibióticos em <i>Enterococcus spp.</i>	32
Figura 7: (A) <i>E.coli</i> em meio mFC, nota-se crescimento conjunto com outro microrganismo; (B) <i>E.coli</i> no meio m-ENDO. Em ambas as placas houve supercrescimento.	34
Figura 8: (A) Coloração de Gram para <i>E. coli</i> ; (B) Meio de Citrato de Simmons: resultado positivo (azul) e resultado negativo (verde).	34
Figura 9: Placa de meio Muller Hinton Ágar com <i>E. coli</i> e três antibióticos.....	35
Figura 10: Valores encontrados para pH em dois dias de coleta.	37
Figura 11: Comparação de condutividade elétrica entre dois dias de coleta de lodo.	39
Figura 12: Comparação de valores de umidade encontrados nos dois dias de coleta do mês de outubro de 2014.....	40
Figura 13: Porcentagem de sólidos totais presentes no lodo de esgoto.	41
Figura 14: Sólidos voláteis totais na ETE Norte – Londrina, PR.	42

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3 REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 TRATAMENTO DE ESGOTO	14
3.1.1 LODO DE ESGOTO.....	16
3.1.1.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE LODO DE ESGOTO.....	17
3.1.1.2 DISPOSIÇÃO FINAL DO LODO	18
3.2 MICRORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL	19
3.2.1 <i>Enterococcus spp.</i>	19
3.2.2 <i>Escherichia coli</i>	20
3.3 RESISTÊNCIA BACTERIANA A ANTIMICROBIANOS.....	21
4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	23
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO.....	23
4.2 COLETA DO MATERIAL.....	24
4.3 ANÁLISE DOS PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS DO LODO	25
4.3.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	25
4.3.1.1 PREPARO DA AMOSTRA E FILTRAÇÃO.....	25
4.3.2 TESTES DE IDENTIFICAÇÃO FENOTÍPICA	26
4.3.3 DETERMINAÇÃO DA SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS.....	27
4.4 ANÁLISE DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	28
4.4.1 pH E CONDUTIVIDADE ELÉTRICA	28
4.4.2 UMIDADE	28
4.4.3 SÓLIDOS TOTAIS	29
4.4.4 SÓLIDOS VOLÁTEIS TOTAIS	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	30
5.1 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS.....	30
5.1.1 IDENTIFICAÇÃO E TESTE DE SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS....	30
5.1.1.1 <i>Enterococcus spp.</i>	30
5.1.1.2 <i>Escherichia coli</i>	34
5.2 RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS.....	37
5.2.1 pH E CONDUTIVIDADE ELÉTRICA	37
5.2.2 UMIDADE	39
5.2.3 SÓLIDOS TOTAIS	40
5.2.4 SÓLIDOS VOLÁTEIS TOTAIS	41
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	43

REFERÊNCIAS.....	44
------------------	----

1 INTRODUÇÃO

A cidade de Londrina está localizada no norte pioneiro do Estado do Paraná, tendo uma área total de 1.650,809 Km² e segundo censo demográfico realizado em 2010 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o município conta com uma população total de 506.701 habitantes, sendo 493.520 habitantes pertencentes à área urbana e 13.181 habitantes à área rural. De acordo com o Ranking do Saneamento – Instituto Trata Brasil (2013), que avalia os serviços de água e esgoto dos 100 maiores municípios do país, Londrina tem como atendimento total de esgoto uma porcentagem de 97,6% e aproximadamente 86% de esgoto tratado por água consumida.

O crescimento populacional tende a aumentar cada vez mais em centros urbanos, a exemplo Londrina, e muitas vezes este crescimento interfere na infraestrutura no que diz respeito à coleta de esgoto. Atualmente, o esgoto lançado sem tratamento é o principal agente poluidor de água, promovendo assim a degradação do corpo hídrico, bem como a propagação de doenças parasitárias e infecciosas. Portanto, faz-se necessário a passagem desse esgoto coletado em estações de tratamento, as quais irão separar e tratar a parte líquida da parte sólida do efluente, tornando possível seu lançamento em um corpo receptor. Porém, uma consequência desse tratamento é a geração de lodo, sendo conhecido como resíduo muito rico em matéria orgânica, atendendo também pelo nome de biossólido. (GOMES, BERNARDINO, 2013).

Pedroza et al. (2010) afirmam que para gerenciar o lodo produzido em Estações de Tratamento de Esgoto – ETE's é preciso muito comprometimento por parte da empresa responsável pelo tratamento, pois seu gerenciamento exige alto custo e é uma atividade de grande complexidade devido a necessidade de se executar o tratamento perfeitamente bem (caso ocorra algum erro os benefícios ambientais e sanitários esperados do seu reuso ficam comprometidos).

Para que o lodo do esgoto seja utilizado corretamente, é necessário que seja definido o destino final deste, com o objetivo de se ter conhecimento de qual tipo de tratamento será dado. Assim, conforme Gomes e Bernardino (2013), as alternativas mais usuais adotadas para destinação final do lodo são disposição em aterro sanitário, reuso industrial, recuperação de solo em áreas degradadas e de mineração, *landfarming* (que é o tratamento de solo com ou sem vegetação) e o uso

agrícola, na formação de adubo. Conforme trabalho publicado em 2001 pelo Programa de Pesquisa em Saneamento Básico (PROSAB), o que predomina como forma de disposição final do lodo é o chamado uso benéfico, o qual o uso agrícola é adotado em 55,5% nos Estados Unidos, atingindo 61,5% em 2010. Em Londrina, segundo o Plano Municipal de Saneamento Básico (2010), a agricultura é a alternativa escolhida pela empresa responsável pelo tratamento da água e efluentes, Sanepar, uma vez que se tem menos impactos negativos no meio ambiente e pelo favorecimento econômico, já que a região em questão tem sua economia definida pelas atividades da agricultura.

Portanto, com o interesse de isolar e avaliar a resistência do gênero de bactérias *Enterococcus spp.* e *Escherichia coli*, bem como, medir os parâmetros físico-químicos básicos do lodo, foi proposto o seguinte problema de pesquisa: Quais as características físico-químicas e microbiológicas do lodo gerado em Estação de Tratamento de Esgoto doméstico e disposto em leitos de secagem em Londrina, Paraná?

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a presença de *Enterococcus* sp e *Escherichia coli* do lodo gerado em ETE na cidade Londrina, Paraná.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar *Enterococcus spp.* e *Escherichia coli* no lodo;
- Analisar o perfil de sensibilidade a antimicrobiano de uso clínico;
- Analisar parâmetros físico-químicos do lodo.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 TRATAMENTO DE ESGOTO

De acordo com Correia (2009), a principal razão para se tratar o esgoto é a presença de sólidos que podem causar problemas desde estéticos, uma vez que há produção de odores desagradáveis durante a fase de decomposição de matéria orgânica, bem como a propagação de vetores que são transmissores de doenças, a problemas de saúde – que são justificados pelo fato de se ter a presença de elementos tóxicos no esgoto além de agentes patogênicos – e problemas ambientais, causados pela degradação da matéria orgânica (que reduz a presença de oxigênio e gera a morte da vida aquática, causa assoreamento nos leitos de rios, além de que a qualidade da água é diminuída).

Feitosa (2009) afirma que o tratamento do esgoto pode ser dividido em duas fases: a fase líquida, que é composta pelo esgoto doméstico, industrial e pluvial, e a fase sólida, que é composta pelos subprodutos gerados durante o tratamento da fase líquida (no caso, o lodo é um destes subprodutos).

Em Londrina, conforme consta no Plano Municipal de Saneamento Básico (2008), o processo de tratamento de esgoto adotado se baseia em um balanceamento técnico e econômico, onde todas as ETE's possuem os reatores Anaeróbios de Lodo Fluidizado (RALF) – que foram especificamente desenvolvidos pela SANEPAR (concessionária responsável pelo tratamento de esgoto na cidade). Destaca-se como vantagens ao se adotar este tipo de reator a baixa demanda de área, baixos custos, baixa produção de lodo, baixo consumo de energia, satisfatória eficiência de remoção de DBO e DQO, dentre outros. Como desvantagem, cita-se a necessidade de pós-tratamento e possibilidade, em um sistema mal projetado, de gerar maus odores e de apresentar problemas devido à presença de elementos tóxicos ou inibidores, porém ressalta-se que estes fatores podem ser controlados.

O processo de tratamento neste tipo de reator acontece da seguinte forma: a matéria orgânica é estabilizada anaerobicamente, ou seja, por bactérias que não necessitam de oxigênio. São formados gases, principalmente o metano, que pode ser aproveitado para fins energéticos. É conservado um manto de lodo no interior do

reator, sendo o esgoto afluyente forçado a percolar através deste manto e assim, as bactérias que contem este manto de lodo transformam a matéria orgânica suspensa em produtos estáveis como a água, biogás e outros elementos inertes. Para que o efluente clarificado possa sair do reator, existe uma estrutura de coleta de biogás e uma zona de decantação na parte superior do reator.

No plano municipal ainda consta que além da utilização do RALF a cidade também conta com outras unidades de tratamento que acompanham o reator, como filtro biológico e lagoas, que atendem a necessidade de pós-tratamento.

No Relatório de Diagnostico da Situação do Saneamento (2010) consta que a ETE apresenta 26 leitos de secagem. Os leitos de secagem são sistemas naturais de secagem, que são, portanto dependentes do clima. São caixas que tem um sistema de drenagem constituído da seguinte forma: é primeiramente colocada uma camada de brita, seguida de uma camada de areia. Sobre a areia são assentados tijolos perfurados que mantem a estabilidade mecânica do sistema, permitindo a passagem do excesso de água (SANEPAR, 1999).

Nas primeiras 72 horas após o descarregamento do lodo no leito de secagem, o mecanismo responsável pela eliminação da maior parte líquida, é a drenagem. Passado este período de tempo o lodo apresenta um aspecto pastoso e a perda de líquido se dá pela evaporação superficial (PROSAB, 2001).

No Manual de Uso e Manejo do Lodo na Agricultura (1999) consta que os leitos de secagem deságuam e secam o lodo combinando a ação de percolação do excesso de água com evaporação natural. Na ETE onde se deram as coletas o leito de secagem fica ao ar livre, o que facilita na evaporação de umidade e o ciclo de secagem do lodo tem em torno de 25 dias de duração.

De acordo com a norma NB 570/1990 – Projeto de Estações de Tratamento de Esgoto Sanitário, são apresentadas as principais vantagens da utilização dos leitos de secagem como: baixo valor de investimento e baixo consumo de energia elétrica e produto químico. Como algumas desvantagens destacam-se: previa do lodo, a retirada do biossólido do leito requer muita mão-de-obra e risco de contaminação do lençol freático se o fundo do leito e o sistema de drenagem não forem bem executados.

3.1.1 LODO DE ESGOTO

Também conhecido como biossólido, sua obtenção se dá através do tratamento de resíduos líquidos e sólidos urbanos (domésticos, comerciais e industriais) em Estações de Tratamento de Esgoto. Segundo Paez (2011), é constituído por uma massa orgânica que diz respeito aos microrganismos que quebram as moléculas orgânicas que são de fonte de energia para estes desenvolverem. Assim, quando as bactérias e fungos morrem formam esta massa orgânica.

A autora ainda afirma que o termo biossólido é mais utilizado do que lodo de esgoto, pois deste modo é possível diferenciar o produto previamente tratado após transformações microbianas e que feita a sua mineralização, existe um potencial para aplicação em culturas agrícolas e florestais, sendo utilizado como fertilizante.

No tratamento do lodo, Feitosa (2009) alega que se tem como principais etapas: o adensamento, a estabilização, o condicionamento, o desaguamento, a higienização e a disposição final. Porém, nem sempre todas essas etapas são implantadas e o que irá determinar isto serão as características do lodo a ser gerado, bem como o produto final que se deseja obter.

De acordo com a Companhia de Saneamento de Paraná - SANEPAR (1999) existem dois tipos de biossólido: o lodo bruto, que é proveniente do tratamento primário das Estações de Tratamento e é obtido por sedimentação e flotação e possui coloração acinzentada, sendo pegajoso, de forte odor e é facilmente fermentável; e o lodo digerido, que é aquele que passou pelo processo de estabilização biológica obtida por biodigestores anaeróbios e aeróbios, apresentando coloração marrom escura e se bem digeridos, não possuem forte odor.

Andreoli e Pegorini (2000) afirmam que ao se dispor inadequadamente o lodo gerado nas ETE's a eficiência técnica destas estações é reduzida pelo acúmulo do lodo nos leitos de secagem, o que torna uma fonte de contaminação para rios, solo, seres humanos e animais. Outra consequência gerada por essa prática irregular é a degradação dos recursos naturais, uma vez que aumenta-se a produção de chorume e acúmulo de metais pesados, contaminando assim corpos d'água, além de que o perfil sanitário da população pode ser alterado, colaborando na propagação de vetores de doenças parasitárias e infecciosas.

3.1.1.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE LODO DE ESGOTO

O biossólido tem sua origem através do tratamento de resíduos líquidos e sólidos urbanos em ETE's. Este termo deve ser utilizado para diferenciar o produto previamente tratado após transformações microbianas e que feita a sua mineralização, existe um potencial para aplicação em culturas agrícolas e florestais, sendo utilizado como fertilizante (Paez, 2011).

Sua composição média é de 99,9% de água e 0,1% de sólidos, onde 70% destes sólidos são orgânicos (como proteínas, gorduras e carboidratos) e 30% são inorgânicos (como areia, metais e sais) bem como microrganismos (fungos, bactérias, protozoários, dentre outros) (Von Sperling 2005; Paez, 2011).

Além da composição por matéria orgânica (que varia de acordo com a origem do lodo, com o sistema de tratamento do esgoto e do próprio lodo que está dentro das estações de tratamento), o lodo também apresenta macro e micronutrientes, bem como elementos potencialmente tóxicos, como metais pesados (PAEZ, 2011).

Assim, os nutrientes são elementos essenciais no desenvolvimento dos vegetais. Dado que a composição química no lodo de esgoto tem grande importância na recomendação da quantidade a ser aplicada no solo, principalmente no seu potencial de fertilização, a presença de macronutrientes como o nitrogênio, fósforo e potássio no lodo, pode fornecer aos vegetais quantidades consideradas satisfatórias de nutrientes essenciais (CORREA, 2009).

Conforme Correa (2009) apresenta, também se encontra a presença de metais pesados no lodo, isto é, elementos químicos que são caracterizados pela alta densidade se comparados à água e alumínio por exemplo. Como não são degradáveis, podem se acumular no meio ambiente, manifestando riscos à saúde pública e ao meio ambiente (toxicidade) o que prejudica a atividade dos microrganismos vivos. Porém destaca-se que no esgoto doméstico os metais estão presentes em pequenas concentrações.

3.1.1.2 DISPOSIÇÃO FINAL DO LODO

Segundo Sanepar (1999), há várias alternativas possíveis para a disposição final do lodo o qual cita-se: o uso de aterro sanitário exclusivo, onde o lodo é simplesmente confinado em células e recoberto com terra – esta técnica necessita de mais estudos de implementação, uma vez que é de suma importância se ter dispositivos de controle ambiental avançados; a incineração, que utiliza da decomposição térmica via oxidação – porém apresenta alto custo por tonelada tratada e problemas secundários de poluição atmosférica, restando ainda a destinação final das cinzas, é mais adequada em situações onde a qualidade do lodo impede sua reciclagem agrícola; o *landfarming*, o qual uma determinada área recebe doses elevadas de lodo por vários anos, objetivando a utilização do solo como um sistema de tratamento; e o reuso agrícola, que tem baixo custo e impacto ambiental, quando realizado em critérios seguros.

Na área onde este estudo foi realizado, a disposição final dada é o reuso agrícola. Filho (2011) afirma que o lodo é transformado em insumo agrícola, pois contribui no fechamento do ciclo bioquímico dos nutrientes minerais, fornecendo assim matéria orgânica ao solo, onde os monóxidos de carbono são estocados em forma de compostos estáveis sem liberá-los na atmosfera.

A reciclagem agrícola se destaca, pois a pressão de exploração dos recursos naturais é reduzida, bem como a quantidade de resíduos que apresentam restrições ambientais (FEITOSA, 2009), aliando o baixo custo com impacto ambiental positivo.

Muitos autores consideram que esta é a opção mais correta. Portanto, é de grande importância uma regulamentação de uso para que seja feita de maneira segura sem que o processo seja inviabilizado por falta de definições adequadas. Estas regulamentações asseguram proteção à saúde humana e animal, bem como a qualidade da colheita, do solo e do meio ambiente (SANEPAR, 1999).

3.2 MICRORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL

De acordo com Programa de Pesquisa em Saneamento Básico – PROSAB (2001), a contaminação microbiológica do lodo tem como origem o material fecal que se encontra no esgoto e, portanto, depende das características epidemiológicas da população local e dos efluentes lançados na rede coletora. Encontra-se uma gama gigantesca de organismos presentes neste material e, embora em sua maioria estes organismos sejam inofensivos, há alguns grupos de patógenos que são considerados perigosos pelo risco que representam para a saúde do homem e dos animais. Ressalta-se que ao serem lançados no esgoto, os microrganismos não estão em ambiente propício para seu desenvolvimento e tendem a decair e o próprio sistema de tratamento de esgoto também elimina sua presença.

Conforme Von Sperling e Gonçalves (2001) discorrem, a origem destes microrganismos também se dá pela procedência animal uma vez que seus dejetos podem ser lançados na rede, ou também pela presença de vetores como roedores na rede de esgoto.

Portanto, de acordo com Correa (2009), os indicadores de contaminação fecal são microrganismos que coexistem com patógenos nas fezes, uma vez que estes estão presentes no intestino de animais de sangue quente (incluindo o ser humano). Os grupos escolhidos para serem estudados no presente trabalho são considerados bons indicadores de contaminação fecal porque geralmente são lançados na rede de esgoto em grande quantidade, sendo resistentes às condições adversas.

3.2.1 *Enterococcus spp.*

Estas bactérias se apresentam em formato de cocos e são gram positivas, encontradas normalmente dispostas aos pares e em cadeias curtas. Crescem tanto em aerobiose quanto em anaerobiose e em faixa de temperatura que varia entre 10°C a 45°C. São microrganismos que podem crescer na presença de concentrações elevadas de NaCl e de sais biliares, sendo estas características básicas utilizadas para distinguir os enterococos dos outros cocos gram positivos. (MURRAY, 2011).

De acordo com Madigan et al. (2010), o gênero *Enterococcus spp.* é constituinte do grupo de bactérias homofermentativas (que produzem ácido láctico a partir da lactose), suportam variações de pH e se enquadram no grupo de patógenos hospitalares. Há grande necessidade de se pesquisar a ação e desenvolvimento deste microrganismo no ambiente de tratamento de esgoto bem como o seu perfil de resistência a antimicrobianos, dado que este grupo de bactérias dissemina seus genes de resistência no meio ambiente (HENKES, 2010).

Murray (2011) destaca que os enterococos são patógenos importantes, sobretudo para pacientes hospitalares, pois são uma das principais causas de infecções contraídas nos hospitais (chamadas de infecções nosocomiais). As infecções por enterococos são comuns em pacientes que usaram cateteres urinários ou intravasculares e naquelas pessoas que estiveram hospitalizadas por longo período de tempo e foram submetidos a tratamento que envolvia vários antibióticos. Outra doença causada por enterococos é a endocardite, porém esta apresenta taxa elevada de mortalidade, devido ao fato de que o microrganismo em questão se encontra associado a outros microrganismos.

Ressalta-se que as espécies *E. faecium* e *E. faecalis* são as mais encontradas no lodo e que mais apresentam resistência às condições ambientais, podendo ser usadas para se estimar o risco do uso do biossólido na saúde pública. Sua resistência é influenciada devido à presença de agentes antimicrobianos, como vancomicina e eritromicina que, uma vez no esgoto estão associados à mistura de esgoto doméstico com resíduos hospitalares, inserindo assim o gênero *Enterococcus spp.* como indicador apropriado na caracterização do lodo para uso na agricultura (CORREA, 2009).

3.2.2 *Escherichia coli*

É uma bactéria constituinte do grupo coliformes e sua existência é parte normal da microbiota do intestino, sendo apresentada em forma de bacilos comensais, podendo ser aeróbias ou anaeróbias facultativas (Von Sperling, 2005).

O mesmo autor ainda afirma que cada pessoa evacua em média, em suas fezes, um trilhão de bactérias *E. coli* todos os dias, sua pesquisa é algo que deve ser analisado no monitoramento do lodo e viabilidade bacteriana neste resíduo. Nos esgotos brutos e tratados sua presença se dá em proporções maiores que outras

enterobactérias, porém no lodo líquido ou desidratado é encontrada em concentrações semelhantes à enterococos, às bactérias sufíto-redutoras e às salmonelas.

Embora a *E. coli* colonize o intestino do homem e de animais de sangue quente, algumas cepas apresentam potencial patogênico, que surgiram durante o processo evolutivo da espécie, apresentam fatores de virulência e são capazes de causar tanto doenças entéricas como extraintestinais (BÉLANGER et al., 2011).

Murray (2011) afirma que este microrganismo é associado a uma grande quantidade de doenças, principalmente gastroenterite e meningites. É considerado um patógeno pelo fato de ser o bacilo gram negativo isolado mais comumente do intestino das pessoas e é responsável pela causa de muitas infecções hospitalares.

3.3 RESISTENCIA BACTERIANA A ANTIMICROBIANOS

Antibacterianos são as drogas mais indicadas para o tratamento de doenças bacterianas, porém a sua utilização indiscriminada nas últimas décadas resultou na disseminação de resistência, tanto em bactérias presentes nos hospitais como em isolados da comunidade e do ambiente (NEGREANU et al., 2012).

A eliminação de lixo, esgoto e dejetos humanos e de animais domésticos, especialmente animais de criação, cuja utilização de antimicrobianos como profilaxia de doenças e promotores de crescimento é prática comum, podendo levar a contaminação de ambientes naturais por microrganismos patogênicos ou não, resistentes a antimicrobianos (DELSOL et al., 2010).

A utilização do lodo e de fontes de água contaminada pode favorecer a contaminação ambiental, possibilitando maior transmissão de bactérias resistentes (BLANCO et al., 2009). A resistência a antimicrobianos em bactérias isoladas da água e do solo pode aumentar com o impacto antropogênico, uma vez que a pressão seletiva pode auxiliar na seleção de cepas que já apresentam resistência natural, ou ainda, favorecer a ocorrência de transferência da resistência entre as bactérias (DELSOL et al., 2010). Por isso, os ambientes aquáticos e terrestres podem servir como meio de disseminação dessas cepas resistentes e os animais selvagens podem fazer parte desse ciclo (NEGREANU et al., 2012).

De acordo com Depizzol (2006), a classificação dos antibióticos se dá por várias formas, sendo a maneira mais comum de classifica-los pelo seu modo de ação contra o organismo causador da doença bem com pelo espectro de ação (compostos ativos contra bactérias gram negativas e gram positivas). Por exemplo, a eritromicina, cloranfenicol e amicacina interferem na biossíntese proteica, ou seja, no mecanismo de ação do microrganismo.

A autora também afirma que o uso inadequado dos antibióticos acarreta em dois problemas ambientais: contaminação de corpos hídricos e a resistência que os microrganismos presentes neste meio irão criar. Assim, o efeito de fármacos residuais no ambiente pode ocorrer em qualquer nível da hierarquia biológica, ou seja, em células, órgãos, organismo, população e ecossistema.

4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Este estudo se propôs a caracterizar os parâmetros microbiológicos e físico-químicos do lodo gerado na ETE da cidade de Londrina - Pr, se tratando portanto de uma pesquisa qualitativa.

Os trabalhos experimentais foram desenvolvidos nos laboratórios de microbiologia e saneamento da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Londrina.

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

A cidade de Londrina possui 5 Estações de Tratamento de Esgoto (ETE), sendo o local escolhido para o estudo a ETE Norte (Figura 1), que atende a 45,3% da população, é a maior entre as 5 estações e está localizada na sub-bacia do ribeirão Lindóia. Conforme dados coletados através do programa Google Earth, a ETE tem 136.900 m² aproximadamente de área, enquanto que cada leito de secagem apresenta em torno de 22 metros de comprimento e 6 metros de largura, sendo, portanto, 132 m² de área por leito de secagem.

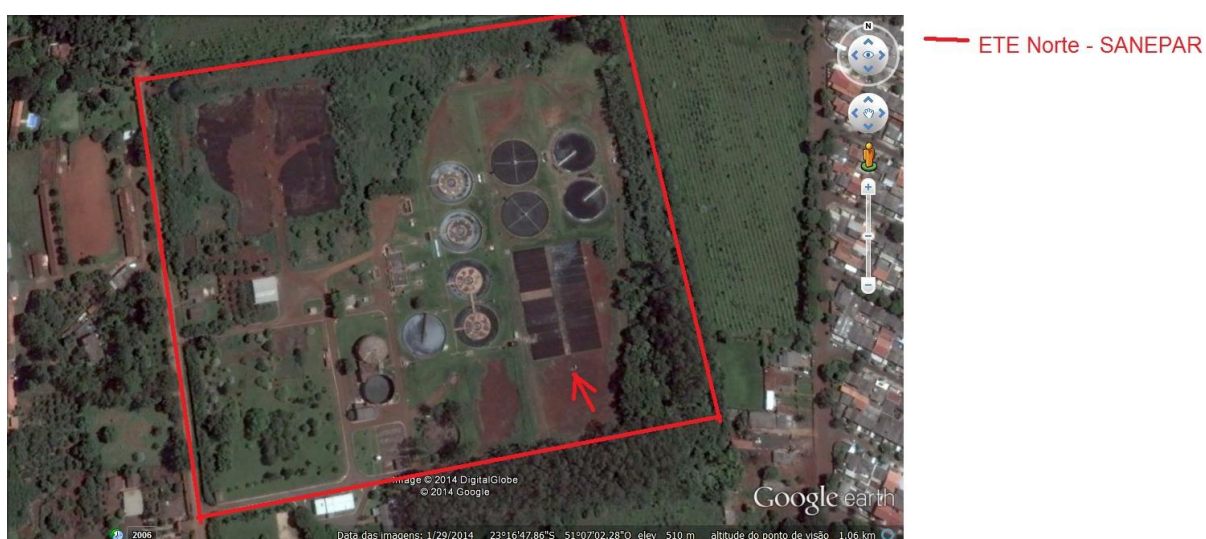


Figura 1: ETE Norte e Leitos de secagem indicados pela seta (Google Earth, 02/11/2014).

Sua operação teve início em 1996 e o tipo de tratamento dado ocorre através da utilização de RALF de tronco cônico com um filtro biológico, isto é, o tratamento é tanto anaeróbio quanto aeróbio, sendo gerado em média 730m³ lodo/mês, tendo a agricultura como destinação final (Plano Municipal de Saneamento Básico, 2010).

4.2 COLETA DO MATERIAL

A coleta do lodo se deu mediante a autorização pela empresa responsável pela coleta e tratamento de esgoto sanitário do estado, Sanepar. Concedida autorização, o leito de secagem foi escolhido aleatoriamente.

A coleta seguiu conforme preconizado pela NBR 10007/1997; para tanto, a área do leito foi dividida em 10 quadrículas imaginárias (Figura 2A), onde cada quadrícula correspondia a um ponto amostral e fez-se o uso de uma pequena pá para coletar o lodo (Figura 2B).

Cada amostra foi coletada em sacos plásticos do tipo *zip bag* com capacidade aproximada de 400 ml, totalizando 4 coletas. As amostras foram transportadas em caixa isotérmica, visando análise no mesmo dia de coleta de acordo com as normas NBR 10007/1997. As coletas ocorreram no período de outubro a novembro de 2014.

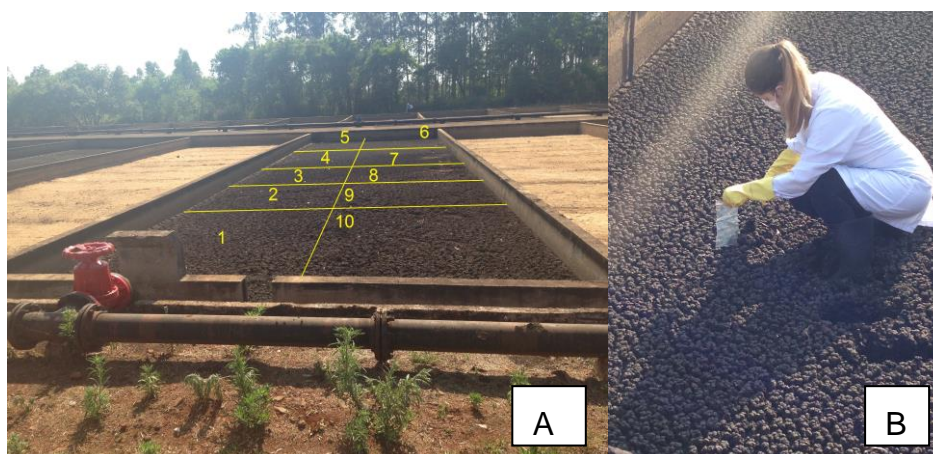


Figura 2: (A) Leito de secagem com quadrículas imaginárias; (B) Coleta sendo realizada no ponto 1.
Fonte: Autoria própria.

4.3 ANÁLISE DOS PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS DO LODO

4.3.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

4.3.1.1 PREPARO DA AMOSTRA E FILTRAÇÃO

De cada amostra coletada foram retirados 25 g e depositadas em erlenmeyer contendo 225 ml de solução salina a 0,8%. Esta solução passou por agitação contínua e então ficou em repouso por 5 minutos. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas.

As diluições selecionadas, foram submetidas a filtração por sistema de bomba de vácuo, com membrana filtrante estéril de porosidade 0,45 μm e diâmetro de 47 mm (Figura 3). As membranas foram depositadas na superfície de meio de cultura seletivo-diferencial para *Enterococcus spp.* (ágar Azida Kanamicina Esculina – KEA), coliformes totais (ágar m-ENDO) e termotolerantes (ágar mFC). Todos os meios de cultura utilizados neste estudo são da marca Himedia.

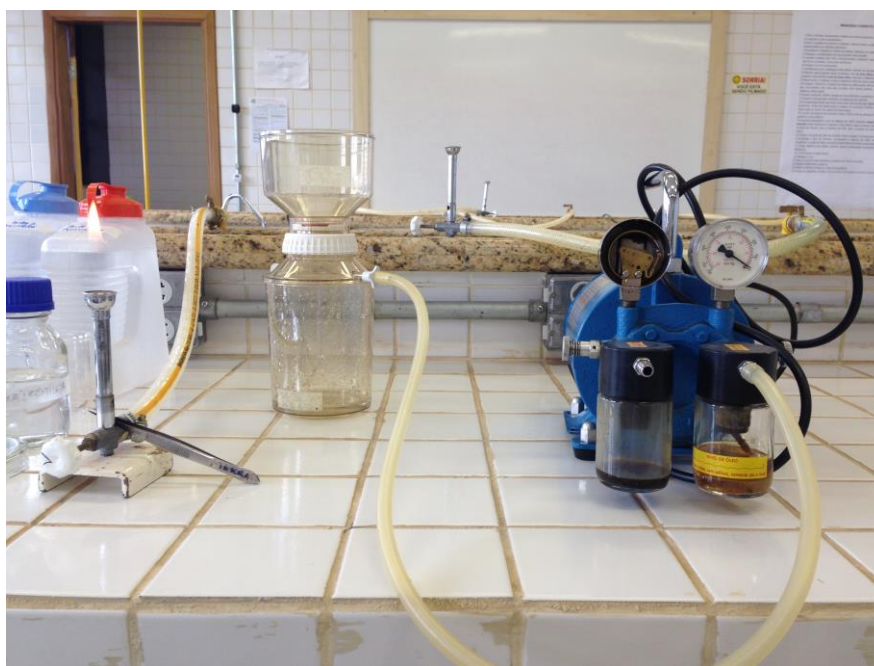


Figura 3: Sistema de filtração com bomba de vácuo.
Fonte: Autoria própria.

4.3.2 TESTES DE IDENTIFICAÇÃO FENOTÍPICA

As colônias com características presuntivas nos meios de cultura foram selecionadas para confirmação do gênero bacteriano, sendo realizados os testes: reação morfotintorial e catalase para *Enterococcus spp.* e reação morfotintorial e citrato de Simmons para *E. coli*, segundo metodologia descrita em *Standard Methods for the Examination of Wast and Wastewater* (2012).

4.3.2.1 CATALASE

Para o teste de catalase, uma porção da colônia suspeita foi depositada sobre lâmina de vidro e pingou-se peróxido de hidrogênio a 10%. A não formação de bolha indica reação negativa, característica necessária para *Enterococcus spp.*

4.3.2.2 CITRATO DE SIMMONS

Para este teste foi preparado o meio ágar citrato de Simmons e depositado 3 mL em tubos de rosca. Estes tubos foram devidamente autoclavados a 121°C a 1 atm por 20 minutos. Para solidificação do meio após o processo de esterilização, inclinou-se os tubos em um ângulo de 45°. Seguiu-se com a inoculação das amostras suspeitas de *E. coli* através de estrias sinuosas sobre o meio para posterior incubação em estufa a 37°C por 24 horas.

Passado o período determinado de incubação, retirou-se os tubos da estufa e foi observado se houve alteração de cor do meio de cultura e descartou-se as amostras em que a mudança de cor foi confirmada pois para este trabalho considerou-se colônias de *E. coli* aquelas em que o teste foi negativo, ou seja, que não houve alteração de cor no meio de cultura.

4.3.2.3 COLORAÇÃO DE GRAM

Assim, seguiu-se com o teste de coloração de Gram para as amostras negativas no teste de catalase (suspeitas de *Enterococcus spp.*) e negativas no teste de citrato de Simmons (suspeitas de *E.coli*).

Para tanto, selecionou-se uma colônia das amostras suspeitas e fez-se o esfregaço com solução de cristal-violeta por 1 minuto em lamina de vidro. Passado este período lavou-se a lamina com água de torneira e o esfregaço foi coberto por solução mordente por 1 minuto. Novamente a lamina foi lavada com água de torneira e após isto, lavou-se com etanol absoluto até não haver mais presença de corante na lamina. Mais uma vez lavou-se com água de torneira e cobriu-se com safranina a amostra por um período entre 10 e 20 segundos, que foi lavado com água de torneira e seco com papel de filtro.

Observou-se ao microscópio a coloração e arranjo celular característicos de *Enterococcus spp.* com coloração roxa (característico de gram-positivo) e formato de cocos e as amostras suspeitas de *E. coli* com coloração rósea (característico de gram-negativo) e formato de bacilos.

4.3.3 DETERMINAÇÃO DA SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS

A avaliação da susceptibilidade aos antimicrobianos foi realizada pela técnica do teste de difusão em ágar, conforme recomendações do Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI, 2011). Os ensaios foram realizados a partir de cultivos recentes dos isolados em ágar BHI, obtidos após incubação a 37° C por 24h. Posteriormente foram preparadas suspensões bacterianas em 3 mL de água destilada esterilizada, com turbidez semelhante à da solução padrão 0,5 de McFarland (aproximadamente 1×10^8 UFC/mL). As suspensões foram semeadas, com ajuda de “swabs” esterilizados sobre a superfície de placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton (MHA). Sobre a superfície dos meios inoculados foram colocados discos de papel de filtro impregnados com os seguintes antimicrobianos: eritromicina 15 µg, teicoplanina 30 µg, norfloxacin 10 µg, estreptomicina 10 µg, cloranfenicol 30 µg, ampicilina 10 µg, gentamicina 10 µg, vancomicina 30 µg, ciprofloxacina 5 µg e penicilina 10 µg para as amostras de *Enterococcus spp.* e para as amostras de *E. coli* os antimicrobianos testados foram: amicacina 30 µg, amoxicila + ácido clavulânico 30 µg, norfloxacin 10 µg, imipenem 10 µg, cloranfenicol 30 µg, ampicilina 10 µg, gentamicina 10 µg, cefalotina 30 µg e ciprofloxacina 5 µg.

As placas foram incubadas por 18h para a maioria dos antibióticos, com exceção da vancomicina, onde se há a necessidade de incubação por 24h, a uma temperatura de 37° C. Os halos de inibição foram mensurados e interpretados segundo preconizado pelo CLSI (2011).

4.4 ANÁLISE DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

A análise físico-química foi compreendida pela determinação do pH – o qual caracteriza o lodo em alcalino ou ácido, da condutividade elétrica, da concentração (em miligramas por quilogramas) dos teores de sólidos totais e sólidos voláteis totais, bem como determinação da umidade do lodo. Para tal, as amostras foram homogeneizadas e os resultados obtidos foram analisados.

4.4.1 pH E CONDUTIVIDADE ELÉTRICA

Para a medição do potencial hidrogeniônico (pH) 10 gramas da amostra foi pesada em balança semi-analítica. Foram adicionados 50 mililitros de água deionizada, sendo agitados em *shaker* por 30 minutos. Após isto, o material ficou em repouso por uma hora, possibilitando a medição dos parâmetros propostos (TEDESCO et al., 1995).

4.4.2 UMIDADE

Conforme protocolo da American Public Health Association – APHA (1998), as amostras foram pesadas em 5 gramas e foram depositadas em cadinhos previamente calcinados em mufla a 580°C por 30 minutos. Feita a pesagem (tanto dos cadinhos vazios, quanto estes com a amostra) e com os devidos valores em mãos, os cadinhos com o material foram colocados em estufa a 105°C por 24 horas. Após este período, as amostras foram colocadas em dessecador para resfriamento e então pesado novamente em balança analítica.

Com estes dados coletados, seguiu-se com o cálculo da porcentagem da umidade, como apresentado na equação (1):

$$Umidade(\%) = \left[\left(\frac{P1 - P2}{P1 - P0} \right) \times 100 \right] \quad (1)$$

Sendo P1 o peso inicial da amostra, P2 o peso da amostra após o processo de secagem e P0 o peso do cadinho vazio.

4.4.3 SÓLIDOS TOTAIS

O procedimento para obtenção dos dados para cálculo dos sólidos totais é o mesmo adotado para umidade. Assim, as amostras foram analisadas sendo acrescentados 5 gramas do material amostrado em cadinhos previamente calcinados, que ficaram em estufa a 105°C por 24 horas. Após este período, as amostras foram colocadas em dessecador para resfriamento e então pesado novamente em balança analítica.

Com estes dados coletados, seguiu-se com o cálculo da porcentagem dos sólidos totais (equação 2):

$$ST(\%) = P1 - Umidade \quad (2)$$

Onde P1 corresponde ao peso inicial da amostra (APHA, 1998).

4.4.4 SÓLIDOS VOLÁTEIS TOTAIS

Segundo protocolo da American Public Health Association – APHA (1998), após a obtenção do peso da amostra depois da secagem (P2), os cadinhos foram levados novamente a mufla com temperatura de 580°C por 2 horas. Passado este período e quando a mufla resfriou, o material foi colocado no dessecador para seu pleno resfriamento, possibilitando então uma nova pesagem (P3). Seguiu-se, portanto com o cálculo (equação 3):

$$SV(\%) = \left[\left(\frac{P2 - P3}{P2 - P0} \right) \times 100 \right] \quad (3)$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

5.1.1 IDENTIFICAÇÃO E TESTE DE SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS.

5.1.1.1 *Enterococcus spp.*

Enterococcus spp. apresentam como colônias características no ágar KEA a coloração escura (Figura 4).

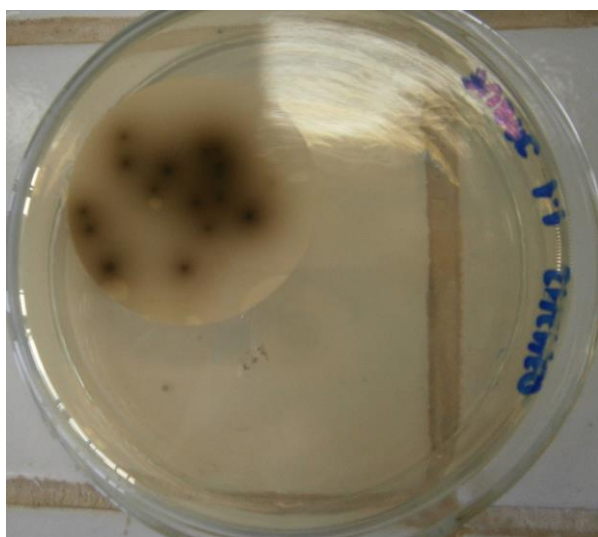


Figura 4: Colônias escuras indicando presença de *Enterococcus spp.*
Fonte: Autoria própria.

Os isolados com crescimento em ágar KEA foram submetidos ao teste de catalase. O gênero apresenta reação negativa para este teste, não formando bolhas

(Figura 4A). Os isolados negativos para este teste foram submetidos ao teste de reação morfotintorial. *Enterococcus spp.* são encontrados como cocos em arranjo de estreptococos e na cor roxa (Gram positiva) (Figura 4B).

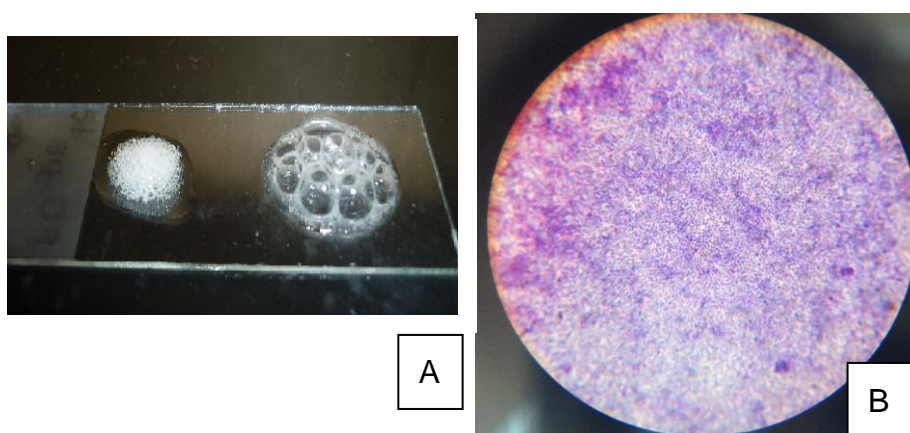


Figura 5: (A) Reação característica do teste de catalase: a esquerda reação negativa; à direita reação positiva (bolhas); (B) Coloração de Gram para *Enterococcus spp.*

Fonte: Autoria própria.

Das 45 colônias analisadas, 26,67% foram classificadas como pertencente ao gênero *Enterococcus spp.*

Não houve presença do microrganismo em questão em todos os pontos de coleta, mas em todos os dias coletados detectou-se que este grupo de bactérias estava presente no lodo do leito de secagem. Ressalta-se que sua presença se deu em menor quantidade do que para a *Escherichia coli*.

Uma justificativa para este fato é de que a incidência de radiação solar nestes locais é menor do que nos outros pontos, o que faz com que hajam mais microrganismos presentes em alguns pontos do que em outros. A Temperatura e umidade não foram determinantes na inativação de *Enterococcus spp.* durante o período em que o lodo esteve no leito de secagem e retirado para análise (entre 10 e 20 dias), além de que a presença deste gênero no lodo é devido à grande concentração de nutrientes presentes tanto no esgoto como no lodo e também devido às relações ambientais com local - maior ou menor incidência de radiação solar e área susceptível a grandes mudanças climáticas como precipitações por exemplo (CORREA, 2009).

Seguiu-se então com o teste de resistência a antibióticos, ou seja de discodifusão (Figura 6). Os resultados coletados nas placas dos testes de difusão em disco de antibiótico foram analisados com auxílio de régua milimétrica para medição dos halos de inibição. Para tanto, foram selecionados aleatoriamente 5 isolados e submetidos ao teste de sensibilidade a antimicrobianos. Os resultados estão descritos na tabela 1.



Figura 6: Teste de discodifusão com antibióticos em *Enterococcus spp.*
Fonte: Autoria própria.

Tabela 1: Teste de sensibilidade a antimicrobianos dos isolados de *Enterococcus spp.*

ISOLADOS/ ANTIBIOTICOS	P631	P811	P1011	P132	P1022
Eritromicina 15µg	Sensível	Resistente	Resistente	Sensível	Sensível
Teicoplanina 30µg	Sensível	Resistente	Resistente	Sensível	Sensível
Norfloxacin 10µg	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Estreptomina 10µg	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Cloranfenicol 30µg	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Resistente
Ampicilina 10µg	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Gentamicina 10µg	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Vancomicina 30 µg	Sensível	Resistente	Resistente	Sensível	Sensível

Ciprofloxacina 5µg	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Penicilina G 10µg	Sensível	Sensível	Resistente	Sensível	Sensível

Quarenta por cento dos microrganismos foram resistentes aos antibióticos eritromicina, teicoplanina e vancomicina. Vinte por cento foram resistentes à penicilina e cloranfenicol. Para os demais antimicrobianos, os isolados apresentaram-se sensíveis. Os pontos que apresentaram mais isolados resistentes foram os pontos 8 e 10, que correspondem a parte final do leito de secagem. Como estes pontos não sofreram radiação solar direta, há a probabilidade da sobrevivência de maior quantidade de bactérias, justificando assim a presença de organismos resistentes.

Vale ressaltar que bactérias resistentes a mais de 2 antibióticos são consideradas multirresistentes, como é o caso daquelas encontradas nos pontos 8 e 10 do leito de secagem. Devido a esta multirresistência, em situações clínicas, a ANVISA, recomenda que os pacientes que contraíram infecção por este microrganismo, sejam tratados com dois medicamentos antimicrobianos, ou seja, um antibiótico que tenha ação na parede celular como a penicilina e a ampicilina, o que faz com que a permeabilidade desta seja alterada, permitindo assim a ação da vancomicina – que atua na síntese de proteínas. Neste estudo observa-se que apesar de haverem vinte por cento de microrganismos resistentes a penicilina, todos foram sensíveis a ampicilina. Caso houvesse um surto de infecção de enterococos na população por contaminação da rede de esgoto sabe-se que um tratamento viável seria o trabalho em conjunto da ampicilina e da vancomicina.

A vancomicina é o bactericida mais indicado para tratamento de microrganismos gram positivos, sendo bacteriostática (que detém o crescimento) para os enterococos e até 1996 não haviam casos registrados de resistência a vancomicina por parte deste microrganismo no Brasil (GUGLIELMO, 2013).

Segundo Furtado, et al. (2005), a resistência a vancomicina por parte do enterococo, torna este um dos principais patógenos causadores das infecções hospitalares, sendo amplamente disseminados em hospitais de grande porte, o que faz com que estes microrganismos também estejam presentes no esgoto hospitalar e também no esgoto doméstico dado que a urina e a corrente sanguínea são sítios

mais envolvidos com a confirmação de resistência da *Enterococcus spp.* a vancomicina (VRE).

5.1.1.2 *Escherichia coli*

Cinquenta e duas colônias características para *E. coli* foram obtidas dos meios ágar mFC e ágar m-ENDO (Figura 7).

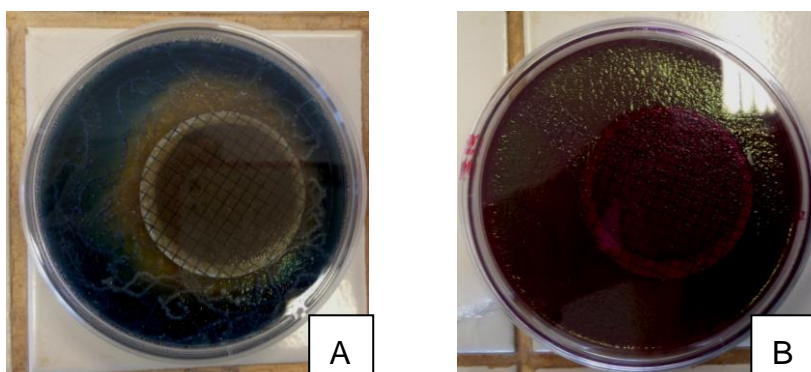


Figura 7: (A) *E.coli* em meio mFC, nota-se crescimento conjunto com outro microrganismo; (B) *E.coli* no meio m-ENDO. Em ambas as placas houve supercrescimento.

Fonte: Autoria própria.

As colônias que apresentaram coloração azul-esverdeada para o meio mFC e verde-metálico para o meio m-ENDO foram selecionadas e foram submetidas aos testes de coloração de Gram e citrato de Simmons e (Figura 8).

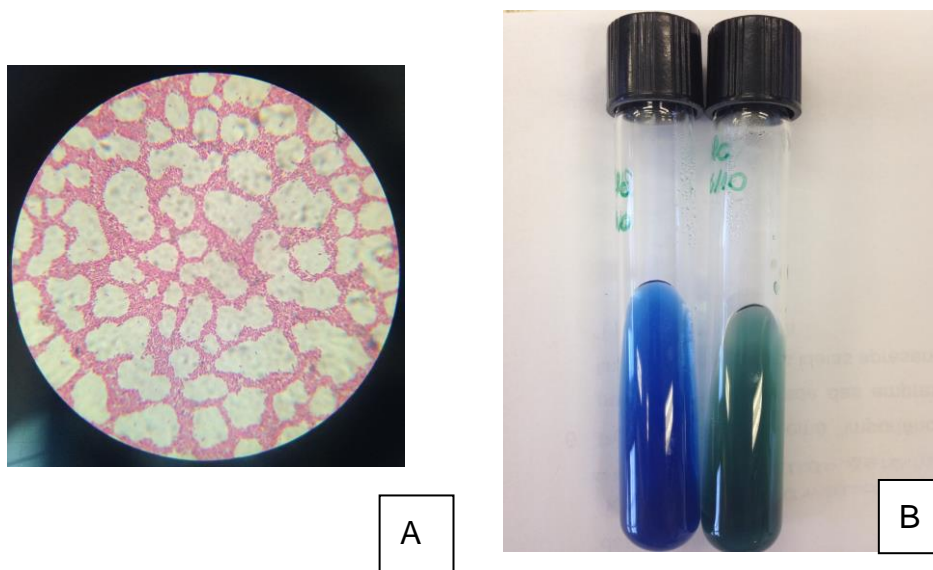


Figura 8: (A) Coloração de Gram para *E. coli*; (B) Meio de Citrato de Simmons: resultado positivo (azul) e resultado negativo (verde).

Fonte: Autoria própria.

Os isolados que tiveram resultado negativo para coloração de Gram foram submetidos ao teste de citrato de Simmons para confirmação de espécie.

Do total de colônias analisadas, 57,69% obtiveram resultado negativo para coloração de Gram e para citrato de Simmons. Portanto, mais da metade das colônias isoladas foram *E. coli*.

Em todos os pontos houve a presença da bactéria em questão em grande quantidade, sendo que foi necessário aumentar as diluições do lodo no processo de filtração para que fosse melhor isolado o microrganismo.

Assim como para *Enterococcus spp.*, prosseguiu-se com o teste de resistência a antibióticos (Figura 9) selecionando-se 5 amostras aleatórias para seguir com os testes em antibióticos. São apresentados na tabela 2 os resultados do teste de sensibilidade.



Figura 9: Placa de meio Muller Hinton Ágar com *E. coli* e três antibióticos.
Fonte: Autoria Própria.

Tabela 2: Teste de sensibilidade a antimicrobianos dos isolados de *E. coli*

ISOLADO/ ANTIBIOGRAMA	P311 MFC	P1011 MFC	P511	P222 MFC	P1032 MFC
Amicacina 30µg	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Amoxicilina + Ac. Clavulânico 30µg	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Resistente
Norfloxacin 10µg	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Resistente
Imipenem 10µg	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente

Cloranfenicol 30µg	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Ampicilina 10µg	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Resistente
Gentamicina 10µg	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Cefalotina 30 µg	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Resistente
Ciprofloxacina 5µg	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Resistente

Pode-se notar que 100% dos microrganismos foram sensíveis à amicacina, ao cloranfenicol e à gentamicina e 100% foram resistentes ao imipenem. Quanto aos outros antibióticos, houve uma resistência em 20% das amostras e, como ocorreu para *Enterococcus spp.*, estas são amostras localizadas em área de pouca incidência de radiação solar bem como o ponto de descarregamento do lodo no leito de secagem (ponto 10) o que provavelmente terá mais microrganismos resistentes do que nos outros pontos amostrais.

Observa-se que no ponto 10 houve multirresistência a quase todos os antibióticos testados, sendo sensível somente à amicacina, ao cloranfenicol e à gentamicina. Melo (2006) afirma que atualmente é comum a detecção de linhagens de *E.coli* resistentes a pelo menos duas classes de antibióticos, principalmente quando isolados de seres humanos e animais, o que gera grandes impactos nas opções de terapia disponíveis. Qualquer origem potencial de microrganismos resistentes ao antibiótico pode se considerar um risco para a saúde e por esta razão há o interesse em testar a susceptibilidade aos antimicrobianos, sobretudo para esta espécie de bactéria uma vez que esta sobrevive em diferentes condições ambientais.

Em trabalho realizado por Depizzol (2006) foi constatado que a prevalência de microrganismos resistentes a antibióticos tanto no esgoto como no lodo de esgoto pode variar, uma vez que isto depende de fatores como o sistema de tratamento do esgoto analisado, do tipo de bactéria a ser estudada e do antibiótico em estudo. A autora verificou em sua pesquisa um aumento significativo de cepas de *E.coli* resistentes a eritromicina após o tratamento final do efluente além de que houve também um aumento de cepas resistentes a ampicilina após o tratamento anaeróbio do esgoto (UASB), fato este próximo ao que foi obtido neste trabalho

onde houve-se uma porcentagem menor de microrganismos resistentes a este antibiotico.

5.2 RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS

Estes resultados foram obtidos nas coletas que ocorreram no mês de outubro. Escolheu-se aleatoriamente duas datas deste mês para que fossem analisados estes parâmetros devido a menor intensidade de chuvas que poderiam vir a ocorrer. Caso fosse escolhido para analisar as amostras coletadas no mês de dezembro, por exemplo, havia-se um risco de não ocorrer coletas por se tratar de uma época mais chuvosa.

5.2.1 pH E CONDUTIVIDADE ELÉTRICA

Os valores de pH do segundo e terceiro dia de coleta estão apresentados na Figura 10. Observou-se que no segundo dia de coleta o pH se encontra baixo, ou seja, em faixa ácida, com pH médio de 5,7, enquanto que no terceiro dia o pH se encontrou relativamente alto, em faixa básica, sendo sua média de 7,6.

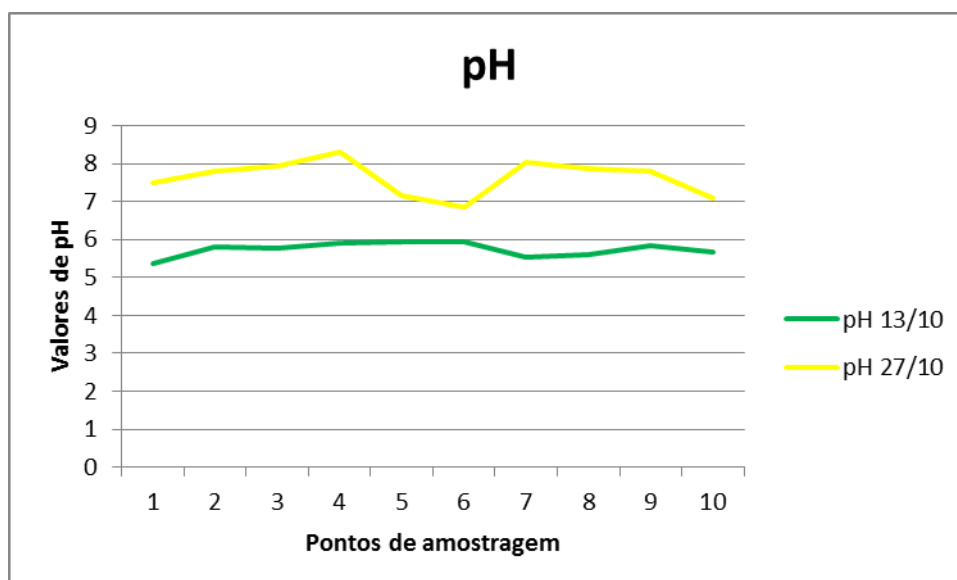


Figura 10: Valores encontrados para pH em dois dias de coleta.

Em trabalho realizado pela PROSAB (2001), encontra-se a afirmativa de que níveis de pH muito baixos ou muito altos podem inibir a atividade microbiana. Geralmente este parâmetro é próximo de 7, como foi encontrado no terceiro dia, o

que propicia num bom desenvolvimento no processo de compostagem do lodo para adubo agrícola.

PROSAB (2003) encontrou valores de pH entre 6,5 e 7,5, considerada pelo autor ótima faixa para crescimento de bactérias metanogênicas. Em estudo de caso realizado no norte do Estado do Espírito Santo, o pH encontrado em amostras compostas do lodo da lagoa anaeróbia foi de 7,5, valor próximo à media obtida para a segunda coleta do mês de outubro.

Já em estudo realizado por Bettioli e Fernandes (2004), os valores de pH ficaram na faixa de 5,2, ressaltando-se que não houveram diferenças entre as épocas de coleta. Os autores afirmam que este valor considerado baixo de pH se deve ao fato de que o lodo oriundo da ETE Barueri (onde foram coletadas as mostras para análise) não utiliza cal durante seu processamento. Por essa razão, pode-se justificar os valores baixos encontradas em Londrina, uma vez que na época em que as coletas foram realizadas, o lodo presente no leito de secagem também não havia passado por tratamento de estabilização com cal.

A tabela 3 apresenta os valores de condutividade elétrica (em $\mu\text{S}/\text{cm}$) encontrados nas coletas do mês de outubro.

Tabela 3: Condutividade elétrica de lodo de esgoto da ETE Norte – Londrina, PR.

Cond. Eletrica 2º dia	Cond. Eletrica 3º dia
2954	1129
1712	1059
945	1146
1756	878
1232	1299
1495	1277
1416	925
1307	1013
1130	1086
1310	1565

Assim, tem-se a Figura 11, para melhor visualização e comparação entre datas, uma vez que em alguns pontos de amostragem os valores obtidos na segunda coleta não foram semelhantes àqueles obtidos na terceira coleta.

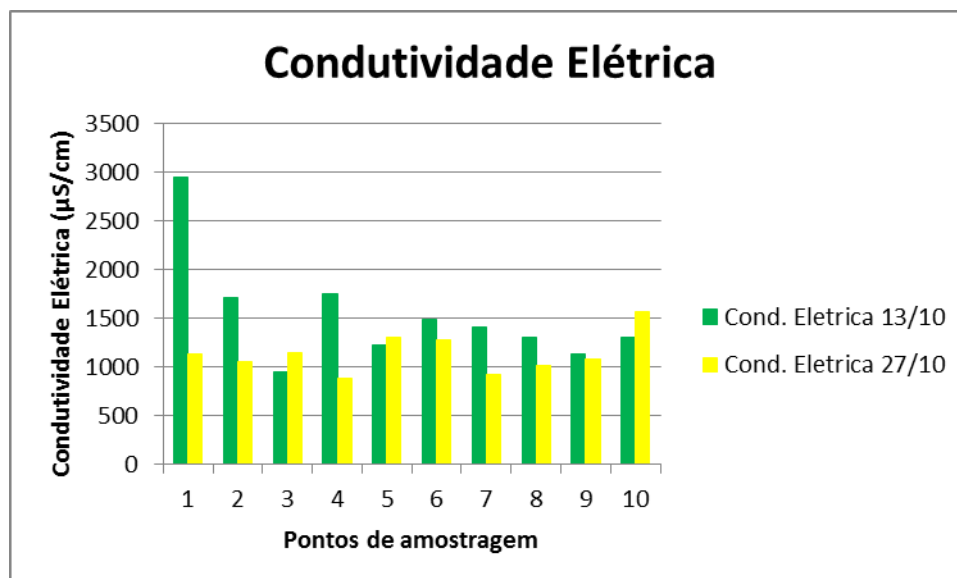


Figura 11: Comparação de condutividade elétrica entre dois dias de coleta de lodo.

No mesmo estudo em que Bettiol e Fernandes (2004) avaliaram o pH do lodo de esgoto, também foi medida a condutividade elétrica nos tratamentos de lodo, que ficou em uma faixa de 1950 $\mu\text{S}/\text{cm}$, valor próximo aos encontrados nos pontos de coleta do leito de secagem para Londrina em ambas as datas de coleta, com exceção do primeiro ponto no segundo dia. De acordo com os autores, valores altos de condutividade elétrica como o encontrado se devem à possível presença de concentrações elevadas de sal presente no lodo, o que leva ao aporte de N-NO_3 (nitrogênio mineral).

5.1.2 UMIDADE

Os valores de umidade estão representados na Figura 12. Observa-se que os valores de umidade do terceiro dia são maiores que os encontrados no segundo. Este fato se deve pelo tempo em que o lodo havia sido descarregado no leito de secagem. No segundo dia o lodo já estava no leito por um período de 20 dias, enquanto que no terceiro dia de coleta do mês de outubro, o lodo estava no leito por um período de tempo menor, em torno de 7 a 10 dias. Nota-se também que em alguns pontos amostrais a umidade é maior do que em outros, o que é justificado pela incidência direta de radiação solar naquelas que obtiveram umidade inferior do que aqueles que a umidade era superior. Ressalta-se que o lodo é removido do leito de secagem após um período de 20 a 25 dias.

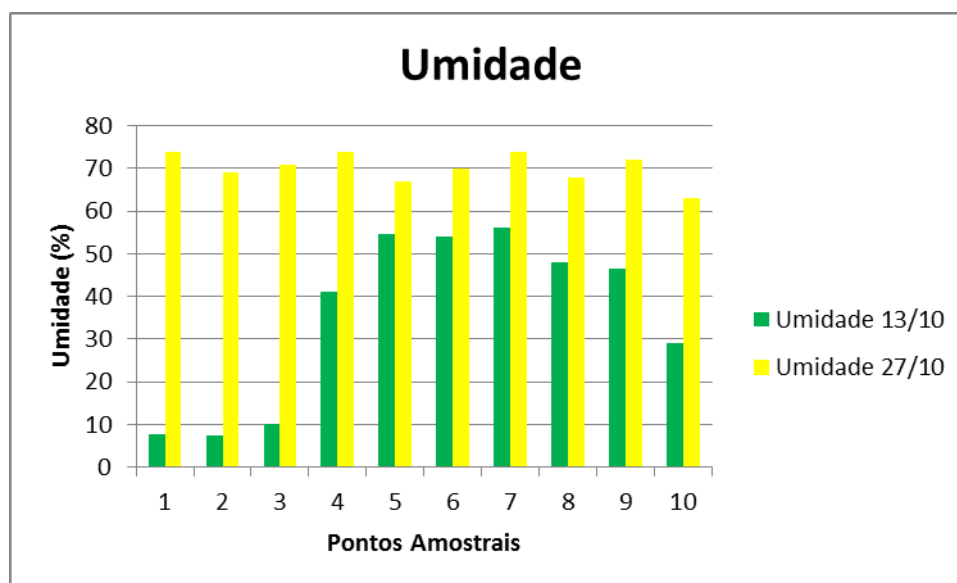


Figura 12: Comparação de valores de umidade encontrados nos dois dias de coleta do mês de outubro de 2014.

Em trabalho realizado por Lee e Santos (2011), em que se analisou as características físico-químicas do lodo de ETE para avaliar seu uso como combustível, a porcentagem de umidade encontrada nos amostras teve uma média de 79%. Este valor é muito próximo ao encontrado no terceiro dia e superior ao encontrado no segundo dia, o que mostra que o teor de umidade do lodo na cidade de Londrina está dentro da faixa esperada.

5.1.3 SÓLIDOS TOTAIS

A Figura 13 mostra os dados coletados para sólidos totais.

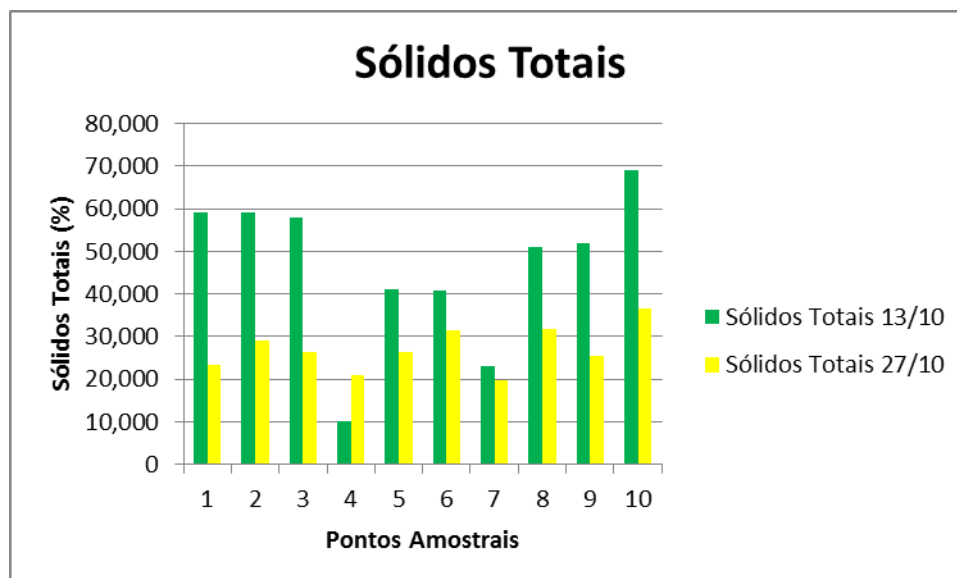


Figura 13: Porcentagem de sólidos totais presentes no lodo de esgoto.

PROSAB (1999) afirma que em geral o lodo apresenta elevados teores de sólidos totais, ficando sempre a cima de 15% essa quantia, o que se confirma com o lodo coletado na ETE Norte de Londrina, o qual em ambos os dias, com exceção do ponto amostral 4, se encontram a cima desta porcentagem. Mais uma vez, a discrepância entre os valores de um dia de coleta e outro se dá pelo tempo de permanencia do lodo no leito de secagem. Em experimento realizado por este autor na ETE Eldorado (ES), encontrou-se valores acima de 22% para sólidos totais.

Já em trabalho realizado por Correa (2009), a porcentagem de sólidos totais encontrada no lodo retirado do leito de secagem foi de 90,3% e de acordo com esta mesma autora esta quantidade presente no lodo faz com que seja reduzida a capacidade de atração de vetores de doenças, como insetos e roedores.

5.1.4 SÓLIDOS VOLÁTEIS TOTAIS

O último parametro físico-químico analisado foi o de sólidos voláteis totais (Figura 14). Diferentemente dos demais parametros analisados, notou-se que neste caso não há grande diferença entre os dias de coleta do mês de outubro.

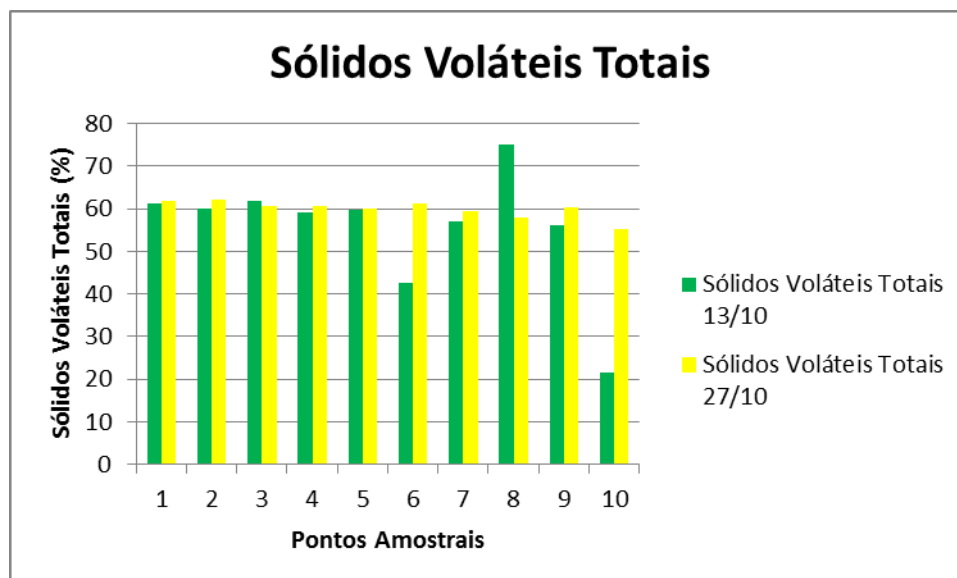


Figura 14: Sólidos voláteis totais na ETE Norte – Londrina, PR.

Em estudo feito por Correa (2009), a porcentagem de sólidos voláteis totais ficou em faixa média de 65%. Assim, 65% do material em suspensão nesta pesquisa era de origem orgânica. O mesmo se aplica na ETE Norte em Londrina, onde a média aritmética encontrada para sólidos voláteis totais foi de 55,45% para o segundo dia de coleta e de 59,96% para o terceiro dia de coleta.

Em trabalho realizado por Silva (2001), onde a autora analisou e comparou os parâmetros físico-químicos na desidratação do lodo em leito de secagem das ETE's Mangueira e Peixinhos, em Recife – PE, os teores de sólidos voláteis totais encontrados variaram de 31,1% a 41,8% (valores ligeiramente inferiores aos que foram encontrados neste estudo) e autora apresenta como possível justificativa para estes valores o fato de que os bairros atendidos por estas estações de tratamento são de classe alta, enquanto que em Londrina os bairros atendidos pela ETE Norte são de classe média, o que demonstra uma certa diferença no perfil sanitário das populações atendidas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o presente estudo foi possível isolar as espécies de bactérias *Enterococcus spp* e *Escherichia coli*, bem como avaliar a resistência destes microrganismos à antibióticos. Também pôde-se analisar parâmetros físico-químicos importantes na qualidade do lodo sendo estes pH, condutividade elétrica, umidade, sólidos totais e sólidos voláteis totais.

Constatou-se que os parâmetros físico-químicos analisados ficaram próximos daqueles encontrados por outros autores. A resistência a antimicrobianos, em geral, foi baixa, ou seja, tanto para *E. coli* quanto para *Enterococcus spp*. em sua maioria os microrganismos foram sensíveis aos 10 antibióticos testados para cada espécie, porém houve-se mais resistência por parte da *Escherichia coli*.

Ressalta-se que este tema é de suma importância para destinação final deste tipo de resíduo gerado nas estações de tratamento de esgoto, devido a quantidade de lodo gerado. Também faz-se necessário mais estudos sobre o tema, para que seja melhor caracterizado o lodo bem como seja melhor definida a sua destinação final. Este foi o primeiro estudo sobre lodo realizado na cidade de Londrina – PR.

Espera-se que a base de dados coletada no estudo possa ser utilizada em outros trabalhos relacionados à caracterização microbiológica e físico-química de lodo de esgoto doméstico.

REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA; AWWA, WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20 ed. Washington: American Public Health Association, 1998. 1193p.

ANDREOLI, C. V.; PEGORINI, E.S. Gestão pública do uso agrícola do lodo de esgoto. In. **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúma, 2000.

ANDREOLI, C. V.VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: DESA; Universidade Federal de Minas Gerais, 2001. 483 p. (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, v.6)

ANVISA - AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Investigação e controle de bactérias multirresistentes**. 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NB 570/1990**: Projeto de Estações de Tratamento de Esgoto Sanitário. Rio de Janeiro, 1990.

BETTIOL, W.; FERNANDES, S.A.P. Efeito do lodo de Esgoto na Comunidade Microbiana e Atributos Químicos do Solo. **Comunicado Técnico**. Jaguariúna, dez. 2004.

BLANCO, G.; LEMUS, J. A.; GRANDE, J. **Microbial pollution in wildlife: linking agricultural manuring and bacterial antibiotic resistance in red-billed choughs**. Environ. Res., v. 109, p. 405-412, 2009.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 375 de 29 de agosto de 2006. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. 2006.

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**.v.32, n.3, jan. 2011.

COMPANHIA DE SANEAMENTO DO PARANÁ – SANEPAR. Programa de Pesquisa em Saneamento Básico. **Uso e Manejo do Lodo de Esgoto na Agricultura**. Curitiba, 1999.

CORREIA, J. E. **Caracterização Físico-Química e Microbiológica do Lodo Gerado na Estação de Tratamento de Esgoto Contorno, Feira de Santana, Ba.** 2009. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Engenharia Civil e Ambiental) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2009.

DELSOL, A. A.; HALFHIDE, D. E.; BAGNALL, M. C.; RANDALL, L. P.; ENNE, B. I.; WOODWARD, M. J.; ROE, J. M. **Persistence of a wild type *Escherichia coli* and its multiple antibiotic-resistant (MAR) derivatives in the abattoir and on chilled pig carcasses.** Int. J. Food Microbiol., v. 140, p. 249-253, 2010.

DEPIZZOL, F. **Avaliação da resistência a antibióticos em isolados de *Escherichia coli* provenientes de esgoto hospitalar e sanitário.** 2006. 144 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2006.

FEITOSA, Maria, C., A. **Lodo de Esgoto: Algumas Aplicações em Engenharia.** 2009. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Católica de Pernambuco, Pernambuco, 2009.

FILHO, Mário, V., P. Compostagem de Lodo de Esgoto para Uso Agrícola. **Revista Agroambiental**, Belo Horizonte, dez. 2011. Disponível em: <<http://joomla3.ifsuldeminas.edu.br/~ojs/index.php/Agrogeoambiental/article/download/364/360>>. Acesso em: 15 jul. 2014.

FURTADO, G., H., C., et al. Revista de Saúde Pública 2005. **Incidência de *Enterococcus* resistente à vancomicina em hospital universitário no Brasil.** São Paulo. 39(1):41-6. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rsp/v39n1/06.pdf>>. Acesso em 27 mai. 2015.

GOMES, I.H.; BERNARDINO, U.B. **Estudo comparativo da produção de lodo das estações d tratamento de esgoto de Mulembá e Vale Encantado e avaliação dos custos com sua disposição.** 2013. 74 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso superior de Engenharia Ambiental. Faculdades Integradas Espírito-santenses, 2013. Disponível em: <<http://www.marcaambiental.com.br/backend/uploads/imagem/06afc01d6f631bfbf28aabded03ba1a3.pdf>>. Acesso em: 31 out. 2014.

GUGLIELMO, B., J. Agentes anti-infecciosos quimioterápicos e antibióticos. **Medicina Interna de Harrison**. 18ª Ed. 2013.

HANDA, R. M.; NOGUEIRA, A. Determinação de pH de amostras de lodo de esgoto. In.: ANDREOLI, C. V.; BONNET, B. R. P. (Coord) **Manual de Métodos para análises Microbiológicas e parasitológicas em reciclagem agrícola de lodo de esgoto**. 2 ed. rev. ampl. Curitiba: Sanepar, 2000. p. 81-82.

HENKES, E., W. **Identificação de *Enterococcus sp* e Resistência a antimicrobianos em amostras de regiões costeiras da lagoa dos patos**. 2010. 60 f. Dissertação (Mestrado em microbiologia agrícola e do meio ambiente) – Instituto de Ciência Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio grande do Sul, 2010.

LEE, E.S.; SANTOS, F.J. Caracterização do lodo proveniente de estação de tratamento de esgoto (ETE) e estudo sobre seu potencial energético. In: II CONGRSSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL. Londrina, 2011.

LIRA, A. C. S. de., et al. Reciclagem de Lodo de Esgoto em Plantação de Eucalipto: Carbono e Nitrogênio. **Engenharia Sanitária Ambiental**. Rio de Janeiro: ABES. 2008, v. 13, n. 2, p. 207-216, abr./jun. 2008.

LONDRINA. Secretaria Municipal de Planejamento, Orçamento e Tecnologia. **Londrina em dados – 2013 – 2 Aspectos demográficos**. Londrina, 2013.

LONDRINA. Plano Municipal de Saneamento Básico. **Relatório de Diagnóstico da Situação do Saneamento**. Londrina, 2010. Disponível em: <http://www1.londrina.pr.gov.br/dados/images/stories/Storage/gabinete/PMSB/esgotamento_sanitario_03_10.pdf>. Acesso em 14 jul. 2014.

MADIGAN, M.,T. et al. **Microbiologia de Brock**, Porto Alegre, 12^aed, 2010.

MELO, S.K. **Caracterização de fatores de virulência em amostras de *Escherichia coli* isoladas de lagoas do Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais**. 2006. 122 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2006.

MURRAY, P. R. et al. **Microbiologia Médica**. Rio de Janeiro, 6^aed, 2011.

NEGREANU, Y.; PASTERNAK, Z.; JURKEVITCH, E.; CYTRUN, E. **Impact of treated wastewater irrigation on antibiotic resistance in agricultural soils**. Environ. Sci. Technol., v. 46, p. 4800-4808, 2012.

PAEZ, Doris, R., M. **Utilização do Lodo de Esgoto na Produção de Mudanças e no Cultivo do Eucalipto (*Eucalyptus spp.*)**. 2011. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso Superior de Engenharia Florestal. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2011.

PEDROZA, M., M., et al. **Produção e tratamento de lodo de esgoto – uma revisão**. Tocantins, 2010. Disponível em: <http://www.liberato.com.br/sites/default/files/arquivos/Revista_SIER/v.%2011,%20n.%2016%20%282010%29/5.%20Produ%E7%E3o%20e%20Tratamento%20de%20Lodo%20de%20Esgoto.pdf>. Acesso em 11 de novembro de 2014.

Programa de Pesquisas em Saneamento Básico – PROSAB. **Gerenciamento do lodo de lagoas de estabilização não mecanizadas**. Vitória, 1999.

Programa de Pesquisas em Saneamento Básico – PROSAB. **Aproveitamento do lodo gerado em estações de tratamento de água e esgotos sanitários, inclusive com a utilização de técnicas consorciadas com resíduos sólidos urbanos**. Curitiba, 2001.

Programa de Pesquisas em Saneamento Básico – PROSAB. **Digestão anaeróbia de resíduos sólidos orgânicos e aproveitamento de biogás**. Vitória, 2003.

SNIS. **Ranking do Saneamento- As 100 maiores cidades do Brasil**. 2013. Disponível em: <<http://www.tratabrasil.org.br/datafiles/estudos/ranking/tabela-100cidades-2015.pdf>>. Acesso em 2 mai. 2015.

SAMBROOK, J., RUSSEL, D.W. (2001), **Molecular Cloning: A Laboratory Manual** New York: Cold Spring Harbour.

SILVA, A., N., R., B. **Caracterização e avaliação do potencial de uso de lodos de estações de tratamento de esgoto doméstico da região metropolitana do Recife**. 2001. 266 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2001.

TEDESCO, M. J., et al. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2 Ed. Porto Alegre: Dpto de solos da UFRGS. 1995, 175 p.

VON SPERLING, M. **Introdução a qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3.ed. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, v. 1, p.252. 2005.

VON SPERLING, M.; GONÇALVES, In.: ANDREOLI, C.; VON SPERLING, M. ; FERNANDES, F. **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 483 p. 2001.