

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

**RAFAELA MAYUMI KAWATA**

**BACTÉRIAS POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS EM TRECHO DO  
RIBEIRÃO JACUTINGA – PR, APÓS DESPEJO DE ESGOTO  
SANITÁRIO TRATADO**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**LONDRINA  
2014**

**RAFAELA MAYUMI KAWATA**

**BACTÉRIAS POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS EM TRECHO DO  
RIBEIRÃO JACUTINGA – PR, APÓS DESPEJO DE ESGOTO  
SANITÁRIO TRATADO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Londrina.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Kátia Valéria Marques Cardoso Prates

**LONDRINA**

**2014**



Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Campus Londrina  
Departamento de Engenharia Ambiental



## TERMO DE APROVAÇÃO

### BACTÉRIAS POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS EM TRECHO DO RIBEIRÃO JACUTINGA – PR, APÓS DESPEJO DE ESGOTO TRATADO

por

RAFAELA MAYUMI KAWATA

Monografia apresentada no dia 17 de dezembro de 2014 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).

\_\_\_\_\_  
Prof. MsC. Bruno de Oliveira Freitas  
(UTFPR)

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Edson Fontes de Oliveira  
(UTFPR)

\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Kátia Valéria Marques Cardoso Prates  
(UTFPR)  
Orientador

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

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.

## AGRADECIMENTOS

Certamente estes parágrafos não conseguirão abranger todas as pessoas que fizeram parte dessa importante fase de minha vida. Assim, peço desculpas caso algum nome não seja mencionado, mas dedico meu sincero agradecimento a todos aqueles que me auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho.

Primeiramente, agradeço a Deus pelo seu amor infinito e por ter me dado força para continuar nos momentos mais difíceis. Agradeço também à minha mãe, Odete Ytumi Kawata, uma mulher forte que sempre me incentivou nos estudos e torce pelo meu sucesso profissional e pessoal, minha irmã Renata Yuri Kawata, que me aguenta nos momentos de stress e que sempre me apoia quando preciso.

Ao meu avô, Kunimatsu Kawaziri que muito mais do que um avô foi uma figura paterna maravilhosa, um amigo para todas as horas, exemplo de companheirismo e honestidade. E às minhas tias Neuza Tiemi Kawaziri e Almerina Hitomi Nishikawa.

A todos os professores, sem os quais, eu não poderia ter chego até aqui. Aos meus amigos, Cristian Marcucci, Lucas Maroubo, Monica Rivaroli, Paula Wessling, Thais Borini de Melo e Tiyoko Hashimoto, pela parceria e cumplicidade e por terem tornado o ambiente acadêmico mais alegre e inesquecível.

Agradeço também o João Cairo Ferreira, Laura Lahr e Michel Iuri que me ajudaram na parte laboratorial do trabalho.

Ao Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), pelo fornecimento dos dados pluviométricos necessário para a análise dos resultados.

À SAMAE – Serviço Autônomo Municipal de Água e Esgoto da cidade de Ibiporã, por ter permitido o acesso e a coleta do esgoto tratado utilizado nesse trabalho.

Em especial gostaria de agradecer e demonstrar a minha admiração pela minha orientadora Dr<sup>a</sup>. Kátia Valéria Marques Cardoso Prates. Muito Obrigada pela oportunidade de participar em iniciações científicas e por ter concedido toda a experiência adquirida durante a minha formação acadêmica.

Enfim, a todos que fizeram deste sonho uma realidade, o meu muito obrigada!

## RESUMO

KAWATA, Rafaela Mayumi. Bactérias potencialmente patogênicas em trecho do Ribeirão Jacutinga – PR, após despejo de esgoto sanitário tratado. 2014. 79 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia Ambiental) – Curso de Engenharia Ambiental. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2014.

A contaminação microbiológica, física ou química a partir de efluentes em corpos d'água podem ocasionar sérios danos ao equilíbrio ecológico e, principalmente, à saúde pública. O Ribeirão Jacutinga, classificado como água doce classe 2, é corpo receptor de efluentes, inclusive da estação de tratamento de esgoto do município de Ibiporã. A ETE mencionada possui em sua composição além dos efluentes doméstico e industrial, o efluente hospitalar, acarretando assim, em maior contribuição de bactérias potencialmente patogênicas, como por exemplo, a *Acinetobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Desse modo, o presente trabalho teve como objetivo isolar e quantificar essas possíveis bactérias patogênicas e analisar sua resistência/sensibilidade a antibióticos e desinfetantes. Para a realização das análises foram coletadas amostras em 4 pontos: saída da ETE (P1); 11 metros a montante do despejo da ETE (P2); 7 metros a jusante do despejo (P3) e 63 metros a jusante do despejo (P4). Medições dos parâmetros físico-químico (turbidez, temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade) foram realizadas no rio (P2, P3, P4) e para a quantificação, isolamento e identificação das bactérias foram utilizados o meio seletivo Difco CHOMagar Orientation, meio MacConkey, meio Cetrimide e Manitol, teste morfotintorial e testes bioquímicos. Quanto à avaliação da resistência das bactérias aos antibióticos realizou-se o teste de antibiograma – difusão em disco Kirby-bauer. Para o desinfetante utilizou-se o hipoclorito de sódio, cloreto de benzalcônico e o peróxido de hidrogênio/ácido peracético, no qual foi verificado a sensibilidade para o tempo de 15", 30", 60", 5', 10', 20' e 30'. Para as bactérias testadas ao antibiótico eritromicina, verificou-se para várias bactérias 100% de resistência ao mesmo. Para todos os desinfetantes o tempo mínimo de inativação para a maioria das bactérias foi em torno de 10 minutos de contato. As bactérias com maior abundância e maior frequência foram a *Acinetobacter spp.* ( $1,35 \times 10^5$  UFC.mL<sup>-1</sup>) e a *Staphylococcus aureus* ( $6,56 \times 10^4$  UFC.mL<sup>-1</sup>) no ponto 1. Já a *Pseudomonas aeruginosa* foi a bactéria com menor incidência. As bactérias consideradas dentro do grupo coliformes obtiveram valores relativamente baixos quando comparado com as demais. O valor máximo de unidades formadoras de colônia (UFC) da *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* foi de  $3,0 \times 10^3$  UFC.mL<sup>-1</sup> e  $8,0 \times 10^3$  UFC.mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Assim, a utilização apenas das bactérias do grupo coliformes como indicadores de qualidade da água não se mostra eficiente quando se trata de correlacionar com a presença de bactérias potencialmente patogênicas.

**Palavras chave:** Bactérias potencialmente patogênicas. Qualidade da água. Antibióticos. Desinfetantes.

## ABSTRACT

KAWATA, Rafaela Mayumi. Potentially pathogenic bacteria in excerpt from the Ribeirao Jacutinga – PR, after treated sewage dump. 2014. 79 f. Course Conclusion Work (Bachelorship) – Environmental Engineering Course. Federal Technological University of Paraná, Londrina, 2014.

Microbiological contamination, physical or chemical from effluent into bodies of water can cause serious damage to the ecological balance and mainly to public health. The Ribeirao Jacutinga, classified as Class 2 sweet water, is receiving body of waste, including sewage treatment plant in the city of Ibiporã. The sewage treatment plant mentioned has in its composition than those domestic and industrial wastewater, but also hospital effluent, thus leading to a greater contribution of potentially pathogenic bacteria such as *Acinetobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. Thus, this study aimed to isolate and quantify these potential pathogenic bacteria and analyze their resistance and sensibility to disinfectant and antibiotics. To do the analysis, samples were collected in four points: Output ETE (P1); 11 meters upriver from sewage dump (P2); 7 meters downstream of the dump (P3) and 63 meters downstream of the dump (P4). Measurements of physical-chemical parameters such as turbidity, temperature, dissolved oxygen, pH and conductivity, was performed on river (P2, P3, P4) and for the identification, isolation and quantification of bacteria was used Difco CHOMagar Orientation selective medium, MacConkey agar medium, medium Cetrimide, morphotypes tests and biochemical tests. The assessment of bacteria resistance to antibiotics, susceptibility testing was performed the test - diffusion Kirby-Bauer disk. For the disinfectant it was used the sodium hypochlorite, benzalkonium chloride and hydrogen peroxide/peracetic acid, in which the sensitivity was found for the time 15", 30", 60", 5', 10', 20' and 30'. For bacteria tested for erythromycin antibiotic, there was 100% of resistance. And For all disinfectants the minimum time of inactivation was around 10 minutes of contact. Bacteria with greater frequency and abundance were *Acinetobacter spp.* ( $1,35 \times 10^5$  CFC.mL<sup>-1</sup>) and *Staphylococcus aureus* ( $6,56 \times 10^4$  UFC.mL<sup>-1</sup>), both in point 1. *Pseudomonas aeruginosa* was the bacteria with lower incidence. The bacteria considered within the coliform group had relatively low values when compared with the others. The maximum value of colony forming units of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* was  $3,0 \times 10^3$  CFC.mL<sup>-1</sup> and  $8,0 \times 10^3$  CFC.mL<sup>-1</sup>. Thus, the use of only coliform bacteria as indicators of water quality is inefficient when it comes to correlate with the presence of potentially pathogenic bacteria.

**Keywords:** Potentially pathogenic bacteria. Water quality. Antibiotics. Disinfectant.

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Antibióticos usados em hospitais do brasil e suas características.....	34
Quadro 2 - Aspecto e coloração das bactérias em meio difco chromagar orientation .....	41
Quadro 3 - Morfologia e coloração de gram das bactérias estudadas. ....	44
Quadro 4 - Citrato de simmons .....	46
Quadro 5 - Resultado do teste de tsi para as bactérias em estudo. ....	47
Quadro 6 - Antibióticos a serem utilizados para cada bactéria.....	53

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Comparação entre as taxas de decaimento de coliformes e de bactérias patogênicas. ....	20
Figura 2 - Locais de coleta de amostras. (a) ponto 1; (b) ponto 2; (c) ponto 3; (d) ponto 4. As setas nas figuras c e d indicam a localização da tubulação de despejo do efluente tratado. ....	37
Figura 3 – Localização dos pontos de coleta com suas respectivas coordenadas geográficas. ....	38
Figura 4 – Esquema com a localização dos pontos de coleta das amostras. ....	38
Figura 5 – Diluição em série das amostras coletadas. ....	40
Figura 6 – Inoculação em difco chromagar orientation.....	41
Figura 7 – Isolamento das bactérias em meio macconkey.....	42
Figura 8 – Coloração de gram.....	43
Figura 9 – Passos para realizar a coloração de gram.....	44
Figura 10 – Procedimento do teste de citrato de simmons. ....	46
Figura 11 – Procedimento do teste tsi (triple sugar iron) e os possíveis resultados do teste.....	48
Figura 12 – Inoculação em meio manitol.....	49
Figura 13 – Inoculação em meio cetrimide.....	49
Figura 14 - Etapas pra a realização do teste de desinfetante. ....	51
Figura 15 - Etapas para a realização do antibiograma.....	52
Figura 16 - Quantidade (ufc.ml <sup>-1</sup> ) de cada bactéria nos quatro pontos de análise para os meses de maio, junho, julho e agosto. (a) ponto 1; (b) ponto 2; (c) ponto 3 e (d) ponto 4. ....	55
Figura 17 - Quantidade (ufc.ml <sup>-1</sup> ) de cada bactéria nos quatro pontos de análise para os meses de maio, junho, julho e agosto. (a) <i>acinetobacter spp.</i> ; (b) <i>escherichia coli</i> ; (c) <i>klebsiella pneumoniae</i> ; (d) <i>pseudomonas aeruginosa</i> e (e) <i>staphylococcus aureus</i> . ....	58
Figura 18 – Valores de turbidez medidos nos pontos 2, 3 e 4 nos meses de maio a agosto.....	59
Figura 19 - Valores de condutividade medidos nos pontos 2, 3 e 4 nos meses de maio a julho. ....	60
Figura 20 – Valores de temperatura medidos nos pontos 2, 3 e 4 nos meses de maio a agosto.....	61
Figura 21 - Valores de pH medidos nos pontos 2, 3 e 4 nos meses de maio a agosto.....	61
Figura 22 - Avaliação da sensibilidade das bactérias ao desinfetante Hipoclorito de sódio. (A) <i>Acinetobacter spp.</i> ; (B) <i>Escherichia coli</i> ; (C) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; (D) <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; (E) <i>Staphylococcus aureus</i> .....	63
Figura 23 - Avaliação da sensibilidade das bactérias ao desinfetante Peróxido de hidrogênio/ácido paracético. (A) <i>Acinetobacter spp.</i> ; (B) <i>Escherichia coli</i> ; (C)	



<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; (D) <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; (E) <i>Staphylococcus aureus</i> .....	64
Figura 24 - Avaliação da sensibilidade das bactérias ao desinfetante cloreto de benzalcônico. (A) <i>Acinetobacter spp.</i> ; (B) <i>Escherichia coli</i> ; (C) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; (D) <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; (E) <i>Staphylococcus aureus</i> .....	65
Figura 25 - Sensibilidade da <i>Escherichia coli</i> aos antibióticos.....	67
Figura 26 – Sensibilidade da <i>Klebsiella pneumoniae</i> aos antibióticos. ....	68
Figura 27 - Sensibilidade da <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aos antibióticos.....	69
Figura 28 – Sensibilidade da <i>Staphylococcus aureus</i> aos antibióticos. ....	70
Figura 29 – Sensibilidade da <i>Acinetobacter spp.</i> aos antibióticos.....	71

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>14</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	14
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>15</b>
3.1 IMPORTÂNCIA DA QUALIDADE DA ÁGUA.....	15
3.2 CARACTERIZAÇÃO DO ESGOTO SANITÁRIO .....	16
3.3 LEGISLAÇÃO.....	17
3.4 INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DA QUALIDADE DA ÁGUA .....	18
3.5 CARACTERIZAÇÃO DAS BACTÉRIAS POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS	20
3.5.1 <i>Acinetobacter spp.</i> .....	20
3.5.2 <i>Escherichia coli</i> .....	21
3.5.3 <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	22
3.5.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	23
3.5.5 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	24
3.6 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS .....	25
3.6.1 Turbidez .....	26
3.6.2 Temperatura.....	26
3.6.3 Oxigênio dissolvido.....	27
3.6.4 pH.....	28
3.6.5 Condutividade .....	29
3.7 DESINFETANTES.....	30
3.7.1 Hipoclorito de sódio .....	31
3.7.2 Cloreto de benzalcônico .....	31
3.7.3 Peróxido de hidrogênio/Ácido peracético .....	32
3.8 ANTIBIÓTICOS .....	32
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>36</b>
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO .....	36
4.2 COLETA DAS AMOSTRAS.....	39
4.3 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS .....	39
4.4 QUANTIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DAS BACTÉRIAS.....	40
4.5 IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS .....	42
4.5.1 Coloração de Gram .....	42
4.5.2 Testes bioquímicos.....	45
4.5.2.1 Catalase .....	45
4.5.2.2 Citrato de Simmons .....	45
4.5.2.3 Triple Sugar Iron (TSI).....	47
4.6 SENSIBILIDADE DAS BACTÉRIAS ÀS SOLUÇÕES DESINFETANTES.....	49
4.7 SENSIBILIDADE DAS BACTÉRIAS A ANTIBIÓTICOS .....	51

<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>54</b>
5.1 MICRORGANISMOS ISOLADOS .....	54
5.2 MONITORAMENTO FÍSICO-QUÍMICO .....	59
5.4 SENSIBILIDADE AOS DESINFETANTES .....	62
5.3 SENSIBILIDADE AOS ANTIBIÓTICOS.....	67
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	<b>72</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>73</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A preservação da qualidade das águas, particularmente os mananciais e águas de consumo humano, é uma necessidade universal que exige atenção tanto por parte da população quanto pelas autoridades. Considerando o grau de impacto que os corpos hídricos vêm sofrendo, é de extrema relevância o desenvolvimento de pesquisas no sentido de avanços no conhecimento científico das interações naturais existentes no ecossistema, pois permitem o desenvolvimento de ações de preservação, prevenção e recuperação dos corpos aquáticos.

Efluentes sanitários podem ser perigosos para o equilíbrio ecológico e à saúde pública quando lançados no corpo receptor diretamente ou quando o sistema de tratamento não é eficiente na remoção de poluentes. Sendo o efluente potencialmente patológico, radioativo, infeccioso, possuidor de resíduos químicos farmacêuticos, se não tratados, pode levar a surtos de doenças e contaminações de mananciais, seja superficial ou subterrâneo.

Os desinfetantes têm presença fundamental nos ambientes domésticos e hospitalares, são eles os responsáveis pela higienização e desinfecção dos ambientes. Geralmente o resíduo do desinfetante após a sua utilização é descartado nos sistemas de coleta de esgoto ou pluvial. Resquícios de desinfetantes podem ser lançados em corpos d'água, mesmo depois do tratamento pela Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) e pelas redes pluviais.

No que tange a contaminação por antibióticos, o carreamento de antimicrobianos para os corpos hídricos pode ter origem em grande parte tanto de pacientes de hospitais (caso o hospital não possua sistema de tratamento), quanto de pessoas em tratamento domiciliar de doenças que utilizam tais recursos.

Assim, a presença desses desinfetantes e antibióticos no corpo hídrico receptor de esgoto tratado pode possibilitar a elevação da seleção e proliferação de bactérias resistentes. Mutações genéticas (aquisição de virulência ou multirresistência) podem vir a ocorrer tanto das bactérias nativas para as do despejo ou das bactérias presentes no despejo para as nativas.

As bactérias multirresistentes a antimicrobianos deveriam ser levados em conta no que diz respeito à preocupação com a saúde, afinal, tais microrganismos uma vez atingindo o sistema de abastecimento podem disseminar diversas doenças

à população. Tais doenças podem ser de difícil tratamento pode ser difícil justamente pela possibilidade de contaminação por microrganismos multirresistentes.

A Resolução CONAMA nº 357 de 2005 recomenda que qualquer efluente deva ser lançado direta ou indiretamente nos corpos d'água após tratamento prévio, de acordo com a norma regulamentar. Como complemento e alteração de alguns requisitos da CONAMA nº 357, tem-se ainda a Resolução CONAMA nº 430 de 2011, que dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes.

O Ribeirão Jacutinga é utilizado como corpo receptor de esgoto tratado e como fonte de abastecimento urbano. Embora a captação da água para o abastecimento seja a muitos quilômetros de distância, possibilitando a autodepuração do rio e o decaimento bacteriano, vê-se a necessidade de verificar a presença de bactérias potencialmente patogênicas e avaliar sua sensibilidade a antibióticos e desinfetantes.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a ocorrência de bactérias potencialmente patogênicas presentes em esgoto sanitário tratado e em um trecho do Ribeirão Jacutinga no Município de Ibiporã - PR.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar, isolar e identificar as bactérias *Acinetobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Staphylococcus aureus* presente no esgoto sanitário após o tratamento e no corpo receptor;
- Verificar se os parâmetros físico-químicos (oxigênio, pH, turbidez, temperatura e condutividade) em três pontos existentes no corpo receptor atendem a CONAMA nº 357 de 2005;
- Caracterizar as bactérias quanto ao perfil de resistência e sensibilidade a antibióticos e desinfetantes de uso hospitalar.

### **3 REFERENCIAL TEÓRICO**

#### **3.1 IMPORTÂNCIA DA QUALIDADE DA ÁGUA**

A água é um recurso natural de extrema importância para o ser humano. Sem ela, seria impossível a vida do homem, dos animais e das plantas. A água pode ser utilizada de várias formas, como no abastecimento humano e animal, na geração de energia elétrica, no abastecimento industrial, na diluição de esgotos, na irrigação, navegação, pesca e lazer.

Apesar de sua importância, os corpos de água estão sendo contaminados sistematicamente por diversas fontes, tais como: o lixo industrial e doméstico e os esgotos que são lançados sem o devido tratamento. Conforme Lima e Garcia (2008, p. 2), os rios brasileiros recebem um volume de substâncias poluentes quatro vezes maior que sua capacidade natural de depuração.

A coleta e o tratamento prévio de esgotos sanitários e industriais são imprescindíveis para o controle da poluição e conservação de recursos hídricos em padrões de qualidade compatíveis com a sua utilização. A contaminação cumulativa dos recursos hídricos causa sérios riscos ao homem, fauna e flora, quando não tratados e lançados nos mananciais aquáticos e no solo, repercutindo na qualidade de vida das populações que utilizam desses recursos (LIMA e GARCIA, 2008, p. 3).

Todos os sistemas continentais aquáticos estão submetidos a um conjunto de impactos resultantes das atividades humanas na bacia hidrográfica e dos usos múltiplos da água. Drenagens urbana e rural, bem como o despejo de efluentes em lagos, represas e rios modificam sensivelmente as características químicas e físicas das águas, produzindo inúmeras alterações que as tornam impróprias para consumo humano e para outros usos (TUNDISI e TUNDISI, 2008, p. 544).

### 3.2 CARACTERIZAÇÃO DO ESGOTO SANITÁRIO

Conforme a NBR 9648 (ABNT, 1986, p. 1), esgoto sanitário é o despejo líquido constituído de esgoto doméstico e industrial, água de infiltração e a contribuição pluvial parasitária. O esgoto doméstico é o despejo resultante do uso da água para higiene e necessidades fisiológicas humanas. O esgoto industrial é o efluente resultante dos processos industriais, respeitados os padrões de lançamento estabelecidos. Água de infiltração é toda água proveniente do subsolo, indesejável ao sistema separador e que penetra nas canalizações. E a contribuição parasitária é a parcela de deflúvio superficial inevitavelmente absorvida pela rede coletora de esgoto sanitário.

O efluente doméstico ou efluente bruto possui aproximadamente 99,9% de água, sendo que a fração restante inclui sólidos orgânicos e inorgânicos, suspensos e dissolvidos bem como microrganismos (VON SPERLING, 2005, p. 84). O autor ainda relata que as características dos esgotos é função dos usos à qual a água foi submetida. Dependendo da localidade o esgoto sanitário também pode ser composto por efluentes hospitalares, pois geralmente tais efluentes não recebem tratamento adequado, sendo descartados em corpos d'água ou nos sistemas públicos de esgoto.

Os efluentes hospitalares caracterizam-se como prováveis veículos de disseminação de vários microrganismos patogênicos (VECCHIA et al., 2009, p. 65), bem como os efluentes domésticos que também possuem em sua composição microrganismos patogênicos uma vez que os moradores das residências podem estar doentes e realizando o tratamento em casa.

Vecchia et al. (2009, p. 65) confirma ainda que o volume dos efluentes hospitalares tem aumentado com a demanda populacional nos grandes centros brasileiros, que em sua maioria são lançados in natura no ambiente ou na rede de esgoto, contribuindo para o risco de doenças, tais como, febre tifóide, hepatite, cólera e muitas verminoses. O autor também relata a possibilidade desses efluentes levarem ao aparecimento de microrganismos resistentes que podem provocar doenças mais severas e de difícil tratamento.



### 3.3 LEGISLAÇÃO

No contexto da legislação, a Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005, dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como as condições e padrões de lançamento de efluentes, estipulando que devam ser lançados direta ou indiretamente nos corpos d'água após tratamento prévio de acordo com a norma regulamentar.

Como complemento e algumas alterações à Resolução CONAMA nº 357, tem-se a Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011, que também dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes. Em seu Capítulo II, seção I, Artigo 12 o mesmo diz que “O lançamento de efluentes em corpos de água, com exceção daqueles enquadrados na classe especial, não poderá exceder as condições e padrões de qualidade de água estabelecidos para as respectivas classes, nas condições da vazão de referência ou volume disponível, além de atender outras exigências aplicáveis”.

Como citado no item 3.2 deste trabalho, o esgoto sanitário pode conter efluente hospitalar, acarretando conseqüentemente em alterações dos seus parâmetros físicos e químicos. Assim sendo, o tratamento deverá fazer com que o efluente final tratado se enquadre nos padrões de qualidade do corpo receptor. Visto que nesse estudo a estação de tratamento recebe efluente hospitalar, vê-se a relevância de mencionar algumas resoluções, como as mencionadas a seguir.

O despejo direto de efluentes hospitalares na rede coletora de esgoto sem tratamento prévio no Brasil foi confirmado pela substituição recente da GM/MS 1884 de 1994 pela Resolução ANVISA – RDC nº 050/02, que estabelece: “Caso a região onde o Estabelecimento Assistencial de Saúde (EAS) estiver localizado tenha rede pública de coleta e tratamento de esgoto, todo o esgoto resultante desse pode ser lançado nessa rede sem qualquer tratamento.” Não havendo rede de coleta e tratamento, todo esgoto terá que receber tratamento antes de ser lançado em rios, lagos.

Outro ponto abordado pela mesma resolução relata que: “O lançamento de efluentes hospitalares na rede de esgoto ou em corpos hídricos não deve afetar o equilíbrio ecológico aquático necessário para atender as necessidades da

comunidade, devendo ser previamente tratado antes de sua disposição final para não causar impacto no corpo receptor”.

Especificamente no Estado do Rio Grande do Sul, entrou em vigor a Resolução CONSEMA nº 276 de 13 de maio de 2013, que dispõe sobre a excepcionalidade nos sistemas de esgoto sanitário, no que diz respeito aos padrões e condições para a emissão de efluentes líquidos domésticos em águas superficiais do Estado do Rio Grande do Sul. Na mesma, em seu artigo 3º, fica evidenciado que os sistemas de esgotos sanitários aos quais se aplicam esta resolução não poderão receber cargas externas, incluído efluentes hospitalares.

### **3.4 INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DA QUALIDADE DA ÁGUA**

Aspecto de grande relevância relativo à qualidade biológica da água é a possibilidade da transmissão de doenças. Os microrganismos encontrados nos esgotos podem ser parasitas, ou seja, de categoria patogênica capaz de causar doenças no homem e em animais. A origem destes agentes patogênicos nos esgotos é predominantemente humana, refletindo diretamente o nível de saúde populacional e as condições de saneamento básico de cada região (VON SPERLING, 2005, p. 102).

A quantidade de patógenos presentes no esgoto de uma determinada localidade é bastante variável e depende das condições sócio-econômicas da população, condições sanitárias, região geográfica, presença de indústrias agro-alimentares e tipo de tratamento a que o esgoto e o lodo são submetidos, no caso de esgotos tratados (VON SPERLING, 2005, p. 102).

Em esgotos, a *Escherichia coli* é o organismo predominante no grupo de coliformes termotolerantes, grupo predominante dentro dos coliformes totais. Na interpretação dos testes dos indicadores de contaminação fecal em corpos d'água, é bastante importante uma inspeção sanitária da bacia, para se estabelecer a origem da contaminação fecal, ou seja, a possível presença de lançamento de esgotos domésticos ou despejos da criação de animais (VON SPERLING, 2005, p. 108).

Conforme Wanjugi e Harwood (2013, p. 517), o papel das bactérias indicadoras de contaminação fecal na avaliação da qualidade da água é de alertar

acerca do aumento do risco da presença de patógenos. Assim, a presença das bactérias indicadoras de contaminação fecal são utilizadas em muitas aplicações desde o monitoramento da qualidade da água de praias até a avaliação da eficácia do tratamento de águas residuais.

Conforme Beda (2011, p. 15), uma vez os microrganismos submetidos às diversas condições no corpo d'água, eles muitas vezes tendem a decrescer em número, caracterizando então o que é chamado de decaimento. O decaimento bacteriano pode ser atribuído a diversos fatores. Pode-se citar como exemplo de fatores que afetam a mortalidade bacteriana a sedimentação, radiação solar, predação, utilização de nutrientes, toxicidade das algas e de outras bactérias, entre outros.

Conforme Von Sperling (2005, p. 206), as bactérias patogênicas tendem a morrer com mais rapidez do que as bactérias do grupo coliformes, o que confirma uma certa segurança na utilização dos coliformes como indicadores de adequação sanitária de uma água. A Figura 1 mostra esquematicamente essa diferenciação de decaimento das bactérias e também mostra os seguintes aspectos:

- A concentração de bactérias patogênicas é usualmente menor do que a concentração de coliformes, uma vez que apenas uma parcela da população excreta patógenos e toda a população excreta coliformes;
- A taxa de mortalidade das bactérias patogênicas (evidenciada pela inclinação da reta do gráfico em escala logarítmica) é maior do que a de coliformes;
- A partir de uma determinada concentração de coliformes pode-se ter concentrações baixas ou próximas de zero de bactérias patogênicas, possibilitando o indicativo de que a água é de uso sanitariamente segura.

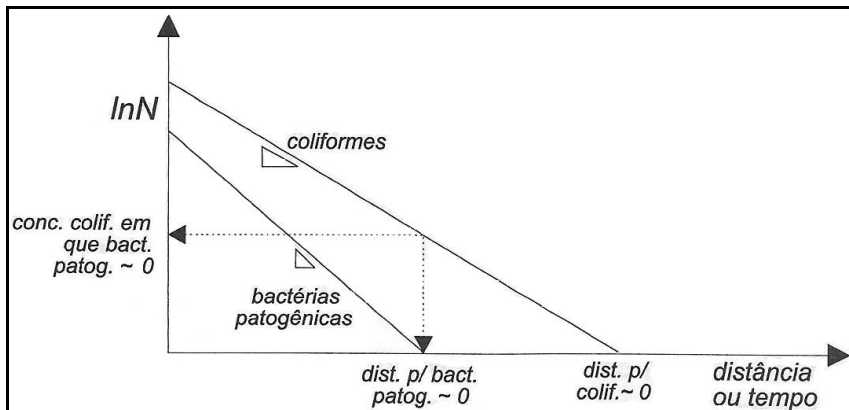


Figura 1 – Comparação entre as taxas de decaimento de coliformes e de bactérias patogênicas.

Fonte: Von Sperling (2005, p.206).

Importante ressaltar que essa dedução representa uma situação geral, sendo que a generalização do comportamento das diversas bactérias patogênicas é difícil, pois o nível de resistência é variável.

Nos últimos anos a utilização de *Escherichia coli* como o melhor indicador de contaminação fecal tem sido questionada. Estudos realizados por vários pesquisadores e reportados em documentos da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2002) têm apresentado falhas quanto ao uso do grupo coliforme fecal, podendo citar a baixa sobrevivência fora do trato intestinal, particularmente em ambientes marinhos e baixa relação com a presença de bactérias patogênicas e vírus.

### 3.5 CARACTERIZAÇÃO DAS BACTÉRIAS POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS

#### 3.5.1 *Acinetobacter spp.*

O gênero *Acinetobacter* é gram-negativo, bacilo, estritamente aeróbio, não fermentador, resistentes à penicilina e possuem oxidase negativa. Crescem bem entre temperaturas de 33 a 35°C. Algumas de suas linhagens apresentam a interessante propriedade de motilidade pulsante, expressa em curtos movimentos de translocação ou “saltos”, cobrindo a distância de aproximadamente 1-5  $\mu\text{m}$ . As

bactérias pulsantes possuem pili especiais geradores de força que facilitam sua movimentação (MADIGAN, 2010, p. 418).

As espécies desse gênero apresentam o teste catalase positiva e crescem em meios definidos contendo uma única fonte de carbono e podem utilizar sais de amônio e nitrato como fonte de nitrogênio. As suas diferentes espécies não necessitam de fatores de crescimento (BROVE, 1984 apud RESENDE, 2009, p. 22).

*Acinetobacter spp.* podem ser encontrados no solo, na água e em esgotos, alimentos e flora normal de animais, onde representam cerca de 50% dos microrganismos isolados (RESENDE, 2009, p. 23; LAHIRI; MANI; PURAI, 2004, p. 7). Em comparação com outros gêneros de bacilos gram-negativos, eles sobrevivem melhor em superfícies ambientais secas, provavelmente contribuindo para a sua propensão para causar surtos prolongados de infecção nosocomial (ROSENBERG e MACHER, 2002, p. 1695).

Tem se destacado desde o início dos anos setenta, como um patógeno oportunista emergente, causando graves infecções nosocomiais e infecções na comunidade. Apesar de sua baixa virulência, o mesmo impõe um sério problema terapêutico devido ao aumento e disseminação de amostras multirresistentes no Brasil e no mundo (Sader *et al.*, 1999; Karlowsky *et al.*, 2003 apud RESENDE, 2009, p. 23).

### **3.5.2 *Escherichia coli***

Pela coloração de Gram, são visualizadas como bacilos gram-negativos isolados, aos pares ou em cadeias curtas. São bactérias encapsuladas, não esporuladas. Caracterizam-se também por não utilizarem o citrato como fonte única de carbono e por fermentarem a glicose, sendo por isso denominadas fermentadoras (Shigei, 1992; Koneman, 2001; Farmer, 2003 apud RESENDE, 2009, p. 27).

Possuem crescimento em ambientes aeróbio (O<sub>2</sub> a 21%), oxidase negativa e motilidade por flagelo (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012, p. 296). A *Escherichia coli* é abundante em fezes humanas e de animais, são encontradas em esgoto, águas

naturais e solos que tenham recebido contaminação fecal recentemente (BRASIL, 2001).

As temperaturas cardiais da *Escherichia coli*, um mesófilo (com ponto ótimo, em temperaturas medianas) típico, possui temperatura ótima de 39°C, a máxima de 48°C e a mínima de 8°C. São potencialmente resistentes a múltiplos fármacos (MADIGAN et al., 2010, p. 159 e 946).

*Escherichia coli* não é um patógeno comum, contudo pode ser a causa de infecções do trato urinário. Algumas produzem toxinas que causam a diarreia do viajante ocasionando doenças de origem alimentar grave (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012, p. 310). Duarte (2011, p. 15) expõe que embora a maioria das linhagens *Escherichia coli* sejam bactérias comensais inofensivas, algumas linhagens podem causar doenças aos humanos, como a *Escherichia coli* O157:H7, que está entre os sorotipos mais reconhecidos por causar grande surto por meio dos alimentos e pela água.

Segundo Tortora, Funke e Case (2012, p.20) essa linhagem tem sido tratada como problema de saúde pública. Atualmente, é uma das principais causas de diarreia no mundo. Em 1996, cerca de 9000 pessoas no Japão ficaram doentes e sete morreram como resultado de uma infecção por *Escherichia coli* O157:H7.

### **3.5.3 *Klebsiella pneumoniae***

*Klebsiella pneumoniae* possui formato de bastonete, é gram-negativo, aeróbio facultativo, mas com melhor crescimento em condições aeróbias (SCARPATE; COSSATIS, 2009, p. 3). Bactéria não exclusivamente fecal e considerada como uma das bactérias do grupo coliforme termotolerantes (MARQUEZI, 2010, p.9).

O gênero *Klebsiella* possui características bioquímicas que viabiliza sua caracterização. Possui reação de oxidase negativa, fermenta glicose, reduz nitrato, citrato e indol negativos, tríplice açúcar ferro (TSI) positivo com produção de gás, utiliza o citrato como fonte de carbono e também hidrolisa a uréia, formando gás ou não (KONEMAN, et al., 2001 apud SCARPATE; COSSATIS, 2009, p. 3).

A maioria das linhagens de *Klebsiella* também é capaz de fixar N<sub>2</sub>, uma propriedade não observada em outras bactérias entéricas (MADIGAN et al., 2010, p. 423). Segundo Resende (2009, p.30), a *Klebsiella* pode ser encontrada em quase todos os ambientes naturais como solo, água e plantas. *K. pneumoniae* pode ser isolada da cavidade oral de indivíduos com ou sem doença e em orofaringe de portadores assintomáticos. As infecções causadas por este patógeno ocorrem em pessoas com sistema imunitário deprimido sendo responsável por alta taxa de mortalidade. Dentre as síndromes clínicas mais frequentes estão: pneumonia, infecções do trato urinário, trato gastrointestinal e de feridas, bacteremia, rinite crônica atrófica, artrites, enterites, meningites em crianças e septicemia.

A resistência apresentada por essa bactéria a antimicrobianos nos últimos anos se tornou um problema de saúde pública e preocupação em todos os campos da saúde. Notícias sobre mortes provocadas pela bactéria *Klebsiella pneumoniae*, produtora da enzima carbapenemase (KPC), provocaram alarde em várias partes do Brasil. Segundo dados do Ministério da Saúde, no Distrito Federal foram feitas 187 notificações de infecção no ano de 2010, sendo registrados 18 óbitos. Em São Paulo, o Hospital das Clínicas registrou 70 casos desde 2008 (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2010, p. 176).

#### **3.5.4 *Pseudomonas aeruginosa***

Taxonomicamente, dentro da família *Pseudomonadaceae*, é uma bactéria definida como um bacilo gram-negativo reto, não esporulado, móvel por um simples flagelo polar. Fisiologicamente, é classificada como aeróbia. A obtenção de energia a partir de carboidratos implica um metabolismo oxidativo (dependente de O<sub>2</sub>), o que o inclui no grupo dos microrganismos não fermentadores (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005, p. 359). Podem ser observados como células isoladas, aos pares, ou em cadeias curtas (POLLACK, 1995 apud NOVAES, 2009, p. 7).

*Pseudomonas aeruginosa*, é um dos microrganismos mais ubiqüitários, pelo fato de ser encontrado no solo, na água, nos vegetais, nos animais, nos alimentos e nos mais diversos ambientes hospitalares. O mesmo é considerado o protótipo de patógeno oportunista, afinal ele é um dos mais importantes agentes de infecção

hospitalar (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005, p. 359). Isolados de *Pseudomonas aeruginosa* oriundos de infecções hospitalares são naturalmente resistentes a múltiplos antibióticos, dificultando o tratamento (MADIGAN et al., 2010, p. 946).

A importância clínica da *Pseudomonas aeruginosa* baseia-se na resistência natural e adquirida aos diversos antibacterianos de uso habitual. A produção de uma  $\beta$ -lactamase cromossomial, a impermeabilidade da membrana, a capacidade de colonizar superfícies em forma de biofilme, fazem com que poucos antibióticos sejam efetivos. No Brasil, já tem sido reportados casos esporádicos (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005, p. 363). Como exemplo, pode-se citar estudos como o de Cezário (2008), com sua tese de Pós-graduação intitulada: “Surto por *Pseudomonas aeruginosa* resistente ao imipenem nas Unidades de Terapia Intensiva / Adulto de dois hospitais de Uberlândia – MG”, e Pizani et al. (2000), com o trabalho: “Surto de bacteriemia por *Pseudomonas aeruginosa* na unidade de hemodiálise de um hospital de Campinas, São Paulo, Brasil”.

### 3.5.5 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* é uma bactéria esférica, do grupo dos cocos gram-positivos, aeróbios, catalase positiva, possuem ácido teóico na parede celular e produzem ácido a partir da glicose (MADIGAN et al., 2010, p. 78 e 446). Essa bactéria pode apresentar-se em diversas formas, que vão desde isolados, aos pares, em cadeias curtas, ou agrupados irregularmente (com aspecto semelhante a um cacho de uvas), devido à sua divisão celular que ocorre em três planos perpendiculares. *Staphylococcus aureus* tem aproximadamente 0,5 – 1,5  $\mu\text{m}$  de diâmetro, são imóveis, podem ser aeróbios ou anaeróbios facultativos, crescem sob condições pressão osmótica elevada e baixa umidade (SANTOS, 2007, p. 414).

*Staphylococcus aureus* produz toxinas que contribuem para a patogenicidade da bactéria, aumentando sua capacidade de invadir o corpo e danificar os tecidos. Uma dessas toxinas é responsável pela síndrome do choque tóxico, infecção grave caracterizada por febre alta, vômitos e algumas vezes morte. Essa bactéria também produz uma enterotoxina que causa vômitos e náusea, uma das causas mais comuns de intoxicação alimentar (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012, p. 318).



Os problemas enfrentados com bactérias com expressão de resistência a múltiplos antimicrobianos são antigos. No âmbito hospitalar, a primeira bactéria multirresistente relatada foi o *Staphylococcus aureus*, apresentando-se resistente a oxacilina, seguido por enterobactérias produtoras de uma enzima com capacidade de promover a digestão de diversos antimicrobianos. Mais recentemente, houve relatos de *Staphylococcus aureus* resistentes à vancomicina e diversas bactérias gram-negativas produtoras de uma enzima com propriedade de digerir antibióticos carbapenêmicos (DEL PELOSO et al., 2010 apud MOREIRA e FREIRE, 2013, p. 3).

Diversas pesquisas têm sido realizadas no mundo, verificando o perfil de sensibilidade antimicrobiana, e tem demonstrado que é muito variável entre as diferentes regiões geográficas, e entre as cepas isoladas de comunidades ou hospitalares. Certas cepas resistentes a determinados fármacos já estão distribuídas em todo o planeta, com destaque ao *S. aureus* resistente às penicilinas (Holzman, 1998, apud CRUVINEL, 2011, p. 3).

### **3.6 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS**

Segundo Noble et al. (2004, p. 464), a sobrevivência das bactérias indicadoras de contaminação fecal e patógenos nos sistemas aquáticos são influenciados pela variedade dos fatores abióticos e bióticos. Como exemplo de abiótico tem-se a temperatura, salinidade, pH, radiação solar, níveis de nutrientes, turbidez, concentrações de oxigênio (BARCINA et al., 1997, p. 03; NOBLE et al., 2004, p. 465). Já os fatores bióticos pode-se citar como exemplo a predação, e competição com espécies nativas (BARCINA et al., 1997, p. 2; RHODES e KATOR, 1988, p. 2906). Assim sendo, tais fatores contribuem no processo de decaimento ou aumento das bactérias patogênicas ao longo do gradiente longitudinal.

Em termos de avaliação da qualidade da água, os microrganismos assumem um papel de grande importância dentre os seres vivos, devido à sua grande predominância em determinados ambientes, à sua atuação nos processos de depuração dos despejos ou à sua associação com as doenças ligadas à água (SPERLING, 2005, p. 24).

A qualidade da água pode ser representada através de diversos parâmetros, que traduzem as suas principais características físicas, químicas e biológicas. No estabelecimento de padrões de tolerância de microrganismos e de fatores limitantes à sua distribuição, estão a turbidez, temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade (TUNDISI e TUNDISI, 2008, p. 545).

### **3.6.1 Turbidez**

A turbidez representa o grau de interferência com a passagem da luz através da água, conferindo uma aparência turva à mesma. Os constituintes responsáveis são os sólidos em suspensão, que podem ter origem natural (partículas de rocha, argila, silte, algas e outros micro-organismos) ou origem antropogênica (despejos domésticos e industriais, microrganismos, erosão). No que diz respeito à origem antropogênica, pode estar associada a compostos tóxicos e organismos patogênicos (VON SPERLING, 2005, p. 28). Uma suspensão celular exhibe aspecto turvo, pois as células dispersam a luz que atravessa a suspensão. Quanto maior o número de células presentes, maior a quantidade de luz dispersa e, conseqüentemente, mais turva a suspensão (MADIGAN et al., 2010, p. 156).

Conforme Resolução CONAMA nº 357 de 2005, para corpos de água doce, classe 2, é permitido até 100 NTU (Unidade de Turbidez Nefelométrica).

### **3.6.2 Temperatura**

A temperatura é a medição da intensidade de calor. É um parâmetro utilizado frequentemente para a caracterização de corpos d'água e de águas residuárias brutas. Elevações na temperatura aumentam a taxa das reações físicas, químicas e biológicas, além de aumentar a taxa de transferência de gases (o que pode gerar mau cheiro, no caso da liberação de gases com odores desagradáveis). Temperaturas elevadas também diminuem a solubilidade dos gases, como por exemplo, o oxigênio dissolvido. Em termos de corpos d'água a temperatura deve ser

analisada em conjunto com outros parâmetros, tais como oxigênio dissolvido (VON SPERLING, 2005, p. 30).

Conforme a Resolução CONAMA 430 de maio de 2011, em seu artigo 22 inciso II, a temperatura de efluentes de esgoto tratado deve ser inferior a 40°C, sendo que a variação de temperatura do corpo receptor não exceda a 3°C no limite da zona de mistura.

A temperatura afeta os microrganismos de duas maneiras opostas. À medida que a temperatura aumenta, as reações químicas e enzimáticas da célula passam a ocorrer com maior velocidade e o crescimento é acelerado. Entretanto, acima de uma determinada temperatura, os componentes celulares podem sofrer danos irreversíveis. Assim, à medida que a temperatura é elevada dentro de uma determinada faixa, há um aumento do crescimento e das atividades metabólicas até um ponto a partir do qual as reações de desnaturação passam a atuar. Acima deste limite, as funções celulares caem a zero (MADIGAN, 2010, p. 157).

Dessa forma, para cada microrganismo há uma temperatura mínima, abaixo da qual o crescimento não é possível, uma temperatura ótima, onde o crescimento ocorre rapidamente, e uma temperatura máxima, acima da qual o crescimento torna-se impossível. A temperatura ótima situa-se mais próximo da temperatura máxima. Essas três temperaturas, denominadas temperaturas cardiais, são características para qualquer tipo de microrganismo (MADIGAN, 2010, p. 157).

### **3.6.3 Oxigênio dissolvido**

O oxigênio dissolvido (OD) é de essencial importância para os organismos aeróbios (que vivem na presença de oxigênio). Durante a estabilização da matéria orgânica, as bactérias fazem uso do oxigênio nos seus processos respiratórios, podendo vir a causar redução da sua concentração no meio. Dependendo da magnitude deste fenômeno, podem vir a morrer diversos seres aquáticos, inclusive os peixes. E caso o oxigênio seja totalmente consumido, têm-se as condições anaeróbias (ausência de oxigênio), com possível geração de maus odores (VON SPERLING, 2005, p. 38).

O OD é o principal parâmetro de caracterização dos efeitos da poluição das águas por despejos orgânicos. Tem como utilização mais frequente na caracterização de corpos d'água e no controle operacional de estações de tratamento de esgoto. Assim como todos os gases, a solubilidade do oxigênio dissolvido varia com a pressão e a temperatura. Ou seja, quando se eleva a temperatura e diminui a pressão, ocorre a redução da solubilidade do oxigênio na água (ESTEVES, 1998, p. 146; VON SPERLING, 2005, p. 39).

Ao nível do mar, na temperatura de 20°C, a concentração de saturação é igual a 9,2 mg/L. Valores de OD superiores à saturação são indicativos da presença de algas (fotossíntese, geração de oxigênio puro). Valores bem inferiores à saturação são indicativos da presença de matéria orgânica, provavelmente de esgotos (VON SPERLING, 2005, p. 39). A partir da Resolução CONAMA 357, oxigênio dissolvido para rios de classe 2 não deve ser inferior a 5 mg/L.

#### **3.6.4 pH**

O pH, potencial de hidrogênio, representa a concentração de íons hidrogênio  $H^+$ , dando uma indicação sobre a condição de acidez, neutralidade ou alcalinidade da água. A faixa de pH é de 0 a 14, sendo que  $pH < 7$  é considerado ácido,  $pH = 7$  neutro e  $pH > 7$  básico. Os constituintes responsáveis pelo parâmetro são os sólidos e gases dissolvidos. Podem ter origem de dissolução de rochas, absorção de gases da atmosfera, oxidação da matéria orgânica, despejos domésticos e industriais (VON SPERLING, 2005, p. 30).

Valores de pH afastados da neutralidade podem afetar a vida aquática e os microrganismos responsáveis pelo tratamento dos esgotos. Sua utilização mais frequente está na caracterização de águas residuárias brutas, águas de abastecimento bruto e tratadas, no controle da operação de estações de tratamento de esgoto e caracterização de corpos d'água. Em termos de corpos d'água, valores elevados de pH podem estar associados à proliferação de algas e valores baixos ou elevados podem ser indicativos da presença de efluentes industriais.

A variação do pH influencia o equilíbrio dos compostos químicos (VON SPERLING, 2005, p. 30 e 31). Segundo a Resolução CONAMA 357 de 2005, o pH para rios de classe 2 deve se enquadrar entre 6,0 e 9,0. No que diz respeito à efluentes de esgoto tratado, conforme a Resolução CONAMA 430 de maio de 2011 em seu artigo 22 inciso I, é exigido que o efluente se encontre entre 5 a 9 na faixa de pH.

Cada microrganismo possui um faixa de pH em que o crescimento é possível e normalmente exibe um pH ótimo de crescimento bem definido. A maioria dos microrganismos exibe uma faixa de pH para o crescimento que varia de 2-3 unidades. A maioria dos ambientes naturais apresentam valores de pH entre 4 e 9. Apenas poucas espécies são capazes de crescer em pHs inferiores a 3 ou superiores a 9 (MADIGAN, 2010, p. 165).

### **3.6.5 Condutividade**

A condutividade é a expressão numérica da capacidade da água conduzir corrente elétrica. Este parâmetro está relacionado com a presença de íons dissolvidos na água, que são partículas carregadas eletricamente. Quanto maior a concentração dos íons, maior será a condutividade elétrica da água. Em águas continentais, os íons diretamente responsáveis pelos valores de condutividade são: cálcio, magnésio, potássio, sódio, carbonato, sulfato e cloretos (ESTEVES, 2011, p. 299).

O parâmetro não determina especificamente quais os íons que estão presentes em determinada amostra de água, mas pode contribuir na detecção de fontes poluidoras na bacia de drenagem, ocasionados por lançamentos de resíduos industriais, mineração, esgotos (ESTEVES, 2011, p. 300). A atividade iônica depende da concentração iônica e da temperatura. Ela também indica a quantidade de sais existentes na coluna d'água e, portanto, representa uma medida indireta da concentração de poluentes. Em geral, níveis superiores a 100  $\mu\text{S}/\text{cm}$  indicam ambientes impactados (CETESB, 2013).

Além da temperatura, o pH da amostra pode ter influência sobre os valores de condutividade elétrica. Especialmente em águas pobres em sais solúveis e de

baixos valores de pH (<5), o íon  $H^+$  torna-se responsável pelos valores de condutividade elétrica. Caso semelhante ocorre também com o íon  $OH^-$  em águas muito alcalinas (pH>9). Assim, em amostras cujos valores de pH se localizam nas faixas extremas, os valores de condutividade elétrica são devidos, em grande parte, a elevadas concentrações de alguns íons em solução (ESTEVEES, 2011, p. 300).

### 3.7 DESINFETANTES

Segundo Torres e Lisboa (2008, p. 63), o processo de higienização de uma superfície está dividido em duas etapas: limpeza e desinfecção, que consistem respectivamente na remoção de contaminação e na remoção de microrganismos.

O uso de desinfetantes tem presença fundamental nos ambientes domésticos por que são responsáveis pela higienização e desinfecção destes ambientes. Deste modo, estes produtos são usados praticamente em todas as casas do mundo. No entanto, pouca atenção vem sendo dada ao uso e a manipulação de produtos químicos de limpeza doméstica (SILVA et al., 2014).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2012), produtos de limpeza doméstica são geralmente de pronto uso, que por sua baixa toxicidade podem ser usados por qualquer pessoa.

Apesar de sua baixa toxicidade, os produtos químicos destinados à limpeza correspondem a uma parte significativa no que diz respeito à poluição provocada pelo homem ao meio ambiente, pois sua utilização afeta diretamente a qualidade da água. Uma vez utilizado o desinfetante, o resíduo do mesmo é carregado pelo sistema de coleta de esgoto ou água pluvial, sendo que o destino final seria o despejo em corpos hídrico (SILVA et al., 2014).

Segundo Torres e Lisboa (2008, p.63), a pesquisa por medidas que reduzam a carga microbiana nas superfícies e que tornem o ambiente propício para a realização de procedimentos tem feito da utilização de desinfetantes uma prática constante nos serviços de saúde. A desinfecção das superfícies em determinadas circunstâncias diminui o risco de infecções cruzadas na assistência à saúde. Contudo, os desinfetantes podem trazer consequências negativas para as equipes, pacientes e para o meio ambiente, principalmente se não forem adotadas medidas

para seu manuseio, utilização e descarte. É de conhecimento que patógenos bacterianos são amplamente distribuídos no ambiente hospitalar. Portanto, assim como em ambientes domiciliares, os hospitais também utilizam desinfetantes para a desinfecção de ambientes. Muitos dos desinfetantes utilizados em hospitais possuem os mesmos componentes químicos, como já citados anteriormente. São eles: hipoclorito de sódio, cloreto benzalcônico, peróxido de hidrogênio/ácido peracético (BOUZADA, 2009, p. 29).

### **3.7.1 Hipoclorito de sódio**

Torres e Lisboa (2008, p. 64) descrevem o hipoclorito de sódio como um desinfetante amplamente utilizado na rotina de higiene e limpeza hospitalar, e sua concentração de uso pode variar de 0,03 a 1%, dependendo da indicação do uso. O mecanismo de ação pelo qual o cloro destrói os microrganismos é através da inibição de reações enzimáticas, acarretando a desnaturação proteica e inativação do ácido nucléico dos microrganismos.

Rutala e Weber (2008, p. 26) determinam a ação do hipoclorito de sódio como limitada pela presença de matéria orgânica, sendo inativado na presença de sabão e detergente. Seu uso deve ser restrito a plásticos, vidros, acrílicos e borrachas, pois compostos inorgânicos de cloro geralmente danificam tecidos (acima de 0,2%) e corroem metais.

### **3.7.2 Cloreto de benzalcônico**

Rutala e Werber (2008, p. 23) também caracterizam os compostos de amônio quaternário como sendo utilizados em produtos de limpeza, sendo que alguns apresentam propriedades germicidas e são empregados como desinfetantes em compostos de detergentes catiônicos. São ótimos agentes limpadores, e cada composto tem características antimicrobianas próprias, com maior ou menor

atividade germicida. Em geral a ação antimicrobiana é alcançada com teores do princípio ativo entre 0,1 e 0,5%.

Block (2001, p. 225) demonstra esse composto químico como agente inodoros, não corrosivos, estáveis no armazenamento, e têm sua atividade pouco afetada na presença de matéria orgânica. Atuam na membrana citoplasmática, inativando as enzimas, alterando a permeabilidade e destruindo a parede celular, agem sobre fungos, vírus lipofílicos e bactérias Gram positivas, possuindo menor ação em bactérias Gram negativas e não atuando em esporos e microbactérias.

### **3.7.3 Peróxido de hidrogênio/Ácido peracético**

O peróxido de hidrogênio/ácido peracético segundo Souza e Daniel (2005, p. 112), é especialmente indicados para limpeza, desinfecção e esterilização de artigos críticos, semi-críticos e não-críticos, além de superfícies de ambientes hospitalares, nas concentrações de 0,5 a 2%. Devido à característica de sua composição e excelente compatibilidade com material orgânico, pode ser utilizado sem deixar qualquer resíduo ou odor desagradável. Atua provocando a ruptura da membrana celular e posterior desnaturação proteica. Possui amplo espectro de ação em micobactérias e esporos bacterianos. O produto é utilizado na desinfecção de alto nível em superfícies hospitalares, na concentração de 0,5% por 10 minutos de contato.

## **3.8 ANTIBIÓTICOS**

Os antibióticos são drogas com capacidade de interagir com microrganismos mono ou pluricelulares que causam infecções no organismo humano. As primeiras substâncias descobertas eram produzidas por fungos e bactérias. Atualmente podem ser sintetizadas em laboratórios farmacêuticos e têm a capacidade de impedir ou dificultar a manutenção de certos grupos de células vivas.



Muitos dos medicamentos são excretados por indivíduos doentes via urinária e fecal. Essa diversidade de substâncias, que não são biodegradáveis, pode ser carregada para águas superficiais de tratamento de efluentes de águas residuais, ou até mesmo em águas subterrâneas quando o lodo do esgoto é utilizado como fertilizante (GAUTAM; KUMAR; SABUMON, 2007, p. 298). Portanto, se não tratados podem acarretar em contaminantes de mananciais de água potável, tanto superficial quanto subterrânea. Nesse contexto, linhagens de organismos multirresistentes a antibióticos, se atingirem o sistema de abastecimento, podem representar riscos à saúde pública (VECCHIA et al., 2009, p. 65).

Conforme Loiola (2014), mais de 40 bilhões de dólares foram gastos em 2013 para a compra de antibióticos, dos quais 1,24 bilhão pertence ao Brasil. Fazendo uma comparação, há cinco anos a soma era de 875 milhões de dólares gasto pelo Brasil. Dentre os remédios em geral, os antibióticos são o quinto mais vendido do mundo, atrás apenas de drogas de combate ao câncer, dores, diabetes e hipertensão. Este grande consumo de medicamentos sem prescrição médica pode gerar o surgimento de cepas bacterianas resistentes a estas drogas, sendo necessária a descoberta constante de novos medicamentos mais eficientes, o que aumenta consideravelmente o custo do tratamento das infecções, embora não haja nenhuma garantia que eles resultarão em drogas novas ou vacinas no futuro próximo (KÜMMERRE, 2003, p. 5).

França (2012, p. 10) menciona alguns antibióticos utilizados em hospitais brasileiros nos últimos 10 anos, como por exemplo, pode-se citar a ampicilina, amoxicilina, cefaloxina, ciprofloxacino, cloranfenicol, doxiciclina, eritromicina, gentamicina, tetraciclina e vancomicina (Quadro 1).

<b>Antibiótico</b>	<b>Mecanismo de ação</b>	<b>Microorganismos Afetado</b>	<b>Informações adicionais</b>
<b>Ampicilina</b>	Possui espectro inibidor de $\beta$ -lactamase, que permite passagem pelas porinas na membrana externa de bastonetes gram-negativos.	<i>Acinetobacter spp.</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> .	São mais abrangentes que as aminopenicilinas, porém tem a mesma composição e atuação das penicilinas.
<b>Amoxicilina</b>	Age diretamente sobre a parede peptidoglicana da bactéria.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> .	Excretada principalmente pelos rins.
<b>Cefaloxina</b>	Princípio ativo da $\beta$ -lactase.	<i>Escherichia coli</i> e <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	Não indicado para o tratamento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , pois apenas diminui a atividade da bactéria, mascarando assim uma possível cura.
<b>Ciprofloxacino</b>	Bloqueia a função da DNA-girase, resultando em alto efeito bactericida sobre amplo espectro de microorganismos.	<i>Acinetobacter spp.</i> , e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	- Voltado para bactérias gram-negativas aeróbias; - Última linha de defesa contra as bactérias <i>Acinetobacter spp.</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
<b>Cloranfenicol</b>	O cloranfenicol se liga à subunidade do ribossomo, inibindo a síntese protéica da bactéria.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> .	- Antibiótico antigo; - Sua toxicidade limita sua utilização; - Não deve ser utilizado em pacientes em estado crítico ou menores de 10 anos de idade.
<b>Doxiciclina</b>	Inibe a síntese protéica, ligando-se aos ribossomos, impedindo que o RNA-transportador se fixe no ribossomo.	<i>Acinetobacter spp.</i>	- Possui espectro de atividade maior em sua meia vida; - Indicado para pacientes que podem tomar somente poucas vezes os antibióticos.
<b>Eritromicina</b>	Assim como a doxiciclina, inibe a síntese protéica e a síntese de polipeptídeos.	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> .	Bastante difundido devido a sua ampla fabricação e espectro de ação.

(continua)

**Quadro 1 – Antibióticos usados em hospitais do Brasil e suas características**

Fonte: Autoria própria baseado em França (2012); Hauser (2010) e Barros et al (2009).

<b>Antibiótico</b>	<b>Mecanismo de ação</b>	<b>Microorganismos Afetados</b>	<b>Informações adicionais</b>
<b>Gentamicina</b>	Possui carga positiva que permite a sua ligação com a membrana externa da célula gram-negativa formando orifícios e assim podendo chegar à área ribossômica ligando-se ao RNA mensageiro e inativando-o.	<i>Acinetobacter spp.</i>	Antibiótico com uso acima de 30 anos, e mesmo assim mantém sua efetividade
<b>Tetraciclina</b>	Mesmo mecanismo de ação da doxiciclina e da eritromicina.	<i>Acinetobacter spp.</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> .	Maior espectro de atuação em pacientes com dúvidas de diagnóstico ou até mesmo para pacientes com infecções formada por mais de uma bactéria.
<b>Vancomicina</b>	Ação direta na membrana celular rompendo-a.	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> .	- Uma das drogas mais antigas, tudo isso devido ao seu processo de purificação; - Pode causar a perda de audição.

**(conclusão)**

**Quadro 1 – Antibióticos usados em hospitais do Brasil e suas características**

**Fonte: Autoria própria baseado em França (2012); Hauser (2010) e Barros et al (2009).**

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho compreende um estudo na área do município de Ibiporã, onde foi no período de quatro meses amostrados três pontos na saída da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) da região Norte do município próximo à tubulação de despejo do efluente tratado no Ribeirão Jacutinga, corpo receptor do efluente da ETE. A coleta de amostras seguiu a norma ABNT NBR 9898 de junho de 1987, que trata sobre a preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores.

Foram realizadas análises físico-químicas e microbiológicas das amostras dos três pontos do Ribeirão Jacutinga. Os parâmetros físico-químicos (oxigênio dissolvido, pH, temperatura, condutividade e turbidez) foram coletados no próprio local com o auxílio de equipamentos portáteis. As amostras para a análise microbiológica foram levadas e processadas no Laboratório de Microbiologia Ambiental, localizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Londrina.

### **4.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO**

A área de estudo compreende a saída do efluente tratado da Estação de Tratamento de Efluentes do município de Ibiporã (ETE Norte) e um trecho do Ribeirão Jacutinga onde ocorre o lançamento do esgoto tratado proveniente da ETE em questão. O processo de tratamento da ETE consiste basicamente no gradeamento no início do processo, três lagoas anaeróbias em paralelo e uma lagoa facultativa.

A bacia hidrográfica do ribeirão Jacutinga está situada na região norte da cidade de Ibiporã. É um dos afluentes do Rio Tibagi (Figura 2), que por sua vez está inserido na Bacia do Rio Paraná. O rio Tibagi é considerado o principal curso d'água da Bacia do Rio Paraná e sofre influências diretas não só do Ribeirão Jacutinga, como também dos Ribeirões Abóbora e Limoeiro (PIEROTE, 2008).

O Ribeirão Jacutinga é corpo receptor de muitas empresas. O mesmo é classificado como água doce classe 2, o qual pode ser utilizado para o abastecimento para consumo humano (após tratamento convencional), recreação de contato primário, irrigação de hortaliças e plantas frutíferas, parques e jardins, aquicultura e pesca.

Os pontos de amostragem (Figura 2) foram:

- Ponto 1: saída da Estação de Tratamento Norte (Figura 2-A);
- Ponto 2: localizado 11 metros à montante do despejo do efluente tratado no corpo receptor (Figura 2-B);
- Ponto 3: localizado aproximadamente 7 metros a jusante do despejo do efluente tratado (Figura 2-C);
- Ponto 4: situa-se 63 metros à jusante do despejo (Figura 2-D).



**Figura 2 - Locais de coleta de amostras. (A) Ponto 1; (B) Ponto 2; (C) Ponto 3; (D) Ponto 4. As setas nas figuras c e d indicam a localização da tubulação de despejo do efluente tratado. Fonte: Autoria própria.**

A disposição dos pontos de coleta pode ser visualizada nas Figuras 3 e 4.



Figura 3 – Localização dos pontos de coleta com suas respectivas coordenadas geográficas.  
Fonte: GOOGLE EARTH, 2014.

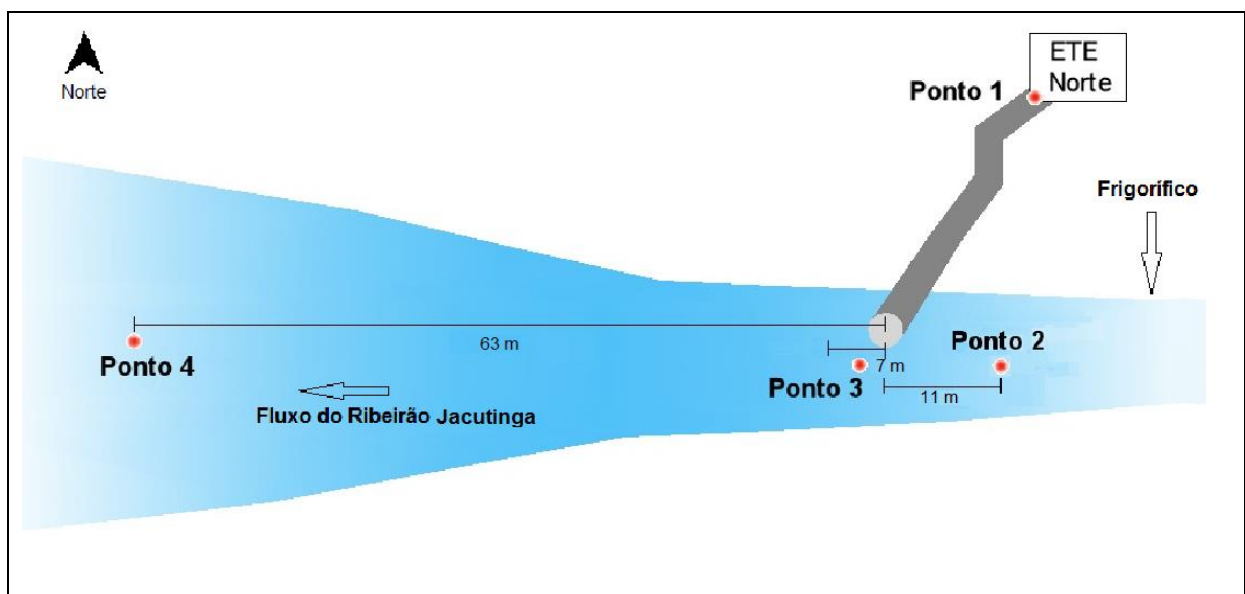


Figura 4 – Esquema com a localização dos pontos de coleta das amostras.  
Fonte: Autoria própria.

## 4.2 COLETA DAS AMOSTRAS

Para a realização das coletas, as amostras microbiológicas foram acondicionadas em frascos de plástico estéreis de 500 mL, seguindo todas as instruções estipuladas pela norma ABNT NBR 9898 de junho de 1987.

Foi construído um suporte com cano PVC fixando o recipiente para a retirada da amostra. Este suporte auxiliou a coleta da água localizada no centro do ribeirão a uma profundidade de 30 cm, que é o aconselhável para a obtenção de uma amostra mais confiável, pois não há o risco de coletar águas rasas nem partículas presentes no leito do rio. A amostra coletada foi destinada ao frasco de coleta com o auxílio de funil previamente esterilizado.

Após as coletas os frascos foram armazenados sob refrigeração de 4°C a 8°C (caixa térmica contendo gelo) e transportado ao Laboratório de Microbiologia Ambiental localizado na UTFPR – Campus Londrina e processadas em até 8 horas após sua coleta.

## 4.3 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Foram analisados os seguintes parâmetros: temperatura da água (°C), oxigênio dissolvido (mg/L), pH, condutividade ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) e turbidez (NTU). Sendo respectivamente os equipamentos para cada parâmetro o termômetro, oxímetro, pHmetro, condutímetro e turbidímetro. As instruções de cada equipamento com relação à higienização, manipulação e obtenção dos dados foram seguidos durante todo o procedimento de medição. Todos os parâmetros foram medidos dos meses de maio até agosto, exceto o oxigênio dissolvido, que não foi possível realizar a medição do mês de agosto, pois ocorreu um erro no aparelho.

Os modelos dos equipamentos utilizados foram: Politerm POL-60 Dissolved Oxygen Meter, PoliControl Turbidímetro AP2000, Instrutherm Condutímetro CD860 e Tecnocon pHmetro mPA-210P.

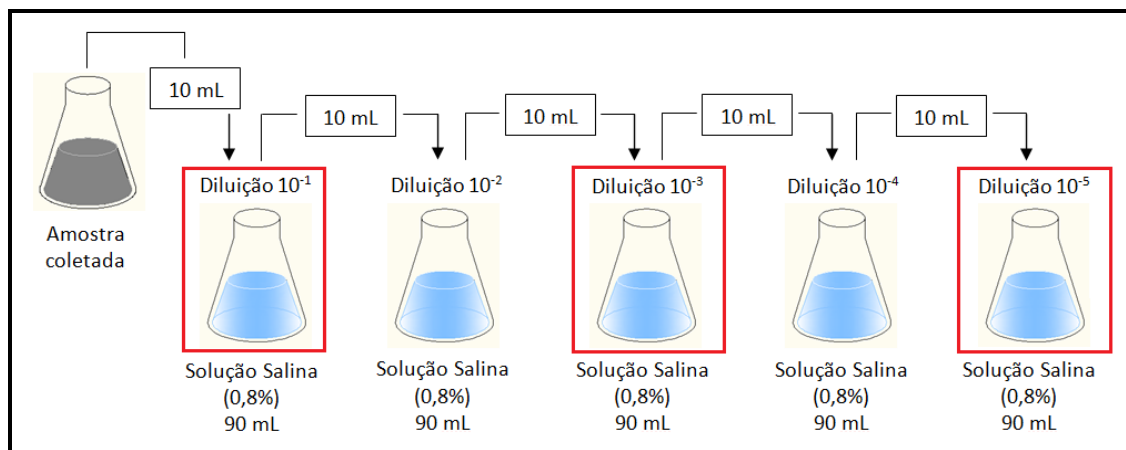
Importante ressaltar que as análises físico-químicas foram realizadas apenas nos pontos do Ribeirão Jacutinga (Pontos 2, 3 e 4), com o intuito de verificar

se após o despejo do esgoto tratado o Ribeirão continua com as mesmas características de classe 2.

#### 4.4 QUANTIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DAS BACTÉRIAS

As bactérias selecionadas para o estudo foram: *Acinetobacter spp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Essas bactérias foram escolhidas mediante a patogenicidade (BRASIL, 2005, p.68) e importância como indicador de qualidade da água (VON SPERLING, 2005, p. 206).

Para as análises microbiológicas de quantificação dessas bactérias, foram realizadas diluições em série até  $10^{-5}$  em solução salina. Foram inoculadas alíquotas de 0,1 mL das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-5}$  em meio Difco CHROMagar Orientation e incubadas durante 24 horas a  $37^{\circ}\text{C}$  (Figuras 5 e 6).



**Figura 5 – Diluição em série das amostras coletadas.**

**Fonte: Autoria própria.**

O procedimento foi em triplicata. Importante ressaltar que durante a preservação e incubação o cuidado com a exposição do meio de cultura à luz foi levado em conta, uma vez que pode destruir os cromogênicos presentes no meio. Desse modo as placas foram envolvidas com um papel alumínio e papel filme de



PVC para a proteção contra a luz. Assim que as cores das colônias tiverem desenvolvidas, a exposição à luz não modificará mais as colônias.

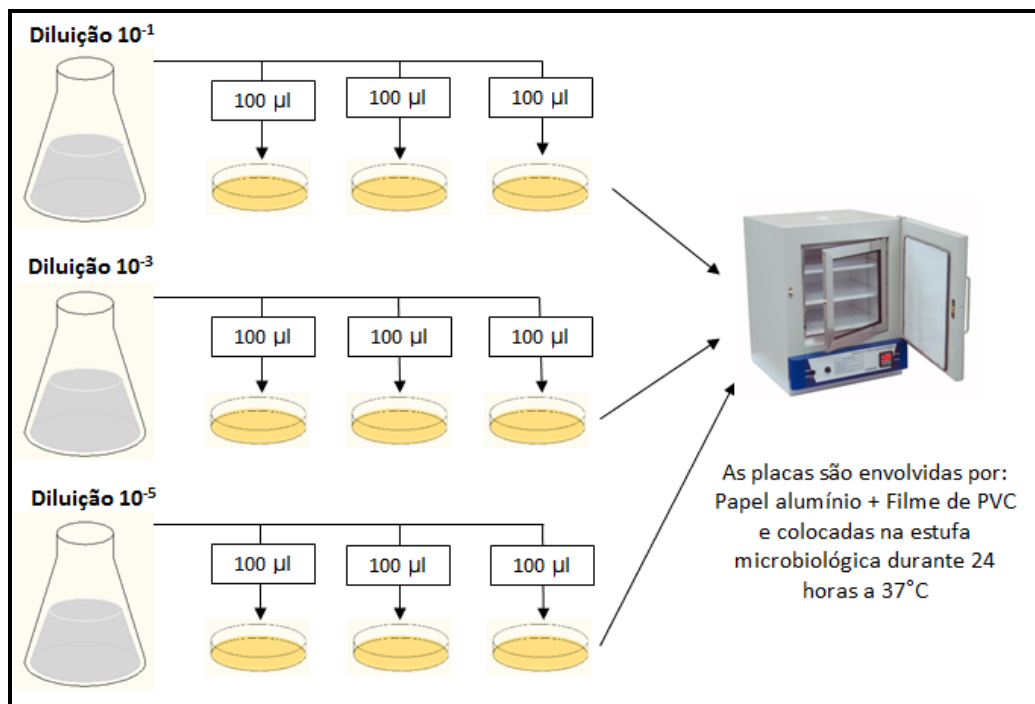


Figura 6 – Inoculação em Difco CHROMagar Orientation.

Fonte: Autoria própria.

O meio de cultura Difco CHROMagar Orientation permite a identificação de bacilos Gram negativos, como exemplo a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*, cocobacilos gram negativo como o *Acinetobacter spp*, além da *Staphylococcus aureus*, que é Gram positivo e cocos. Essas bactérias são identificadas conforme a coloração da colônia formada após o crescimento no meio, ou seja, cada bactéria possui uma coloração diferenciada da outra (Quadro 2).

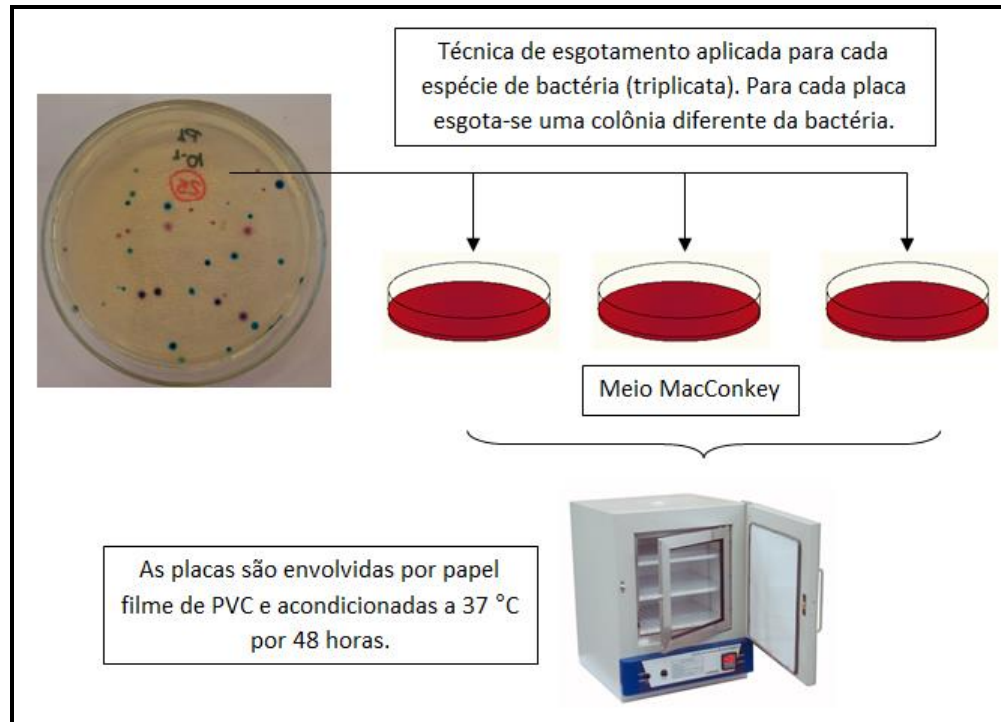
Bactéria	Coloração da colônia no meio
<i>Acinetobacter spp.</i>	Branca Fosca e pequenas
<i>Escherichia coli</i>	Púrpura com halo transparente, grandes, seca
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Azul esverdeado, grandes, mucoide
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Verde claro, grandes, brilhantes
<i>Staphylococcus aureus</i>	Dourada (natural), pequenas, cremosas

Quadro 1 - Aspecto e coloração das bactérias em meio Difco CHROMagar Orientation.

Fonte: Adquirido da ficha técnica do meio Difco CHROMagar Orientation.

Após a caracterização e contagem das bactérias conforme a cor e aspecto, as colônias foram transferidas e isoladas em meio Agar MacConkey (3 colônias diferentes da mesma bactéria) e incubado por 48 horas à temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$  (Figura 7). Cada espécie de bactéria foi isolada em triplicata. Com as bactérias já

isoladas, a identificação das mesmas foi realizada utilizando teste morfotintorial (Coloração de Gram) e testes bioquímicos (teste de catalase, Triple Sugar Iron (TSI) e citrato de Simmons). Os processos de realização dos mesmos estão descritos a seguir.



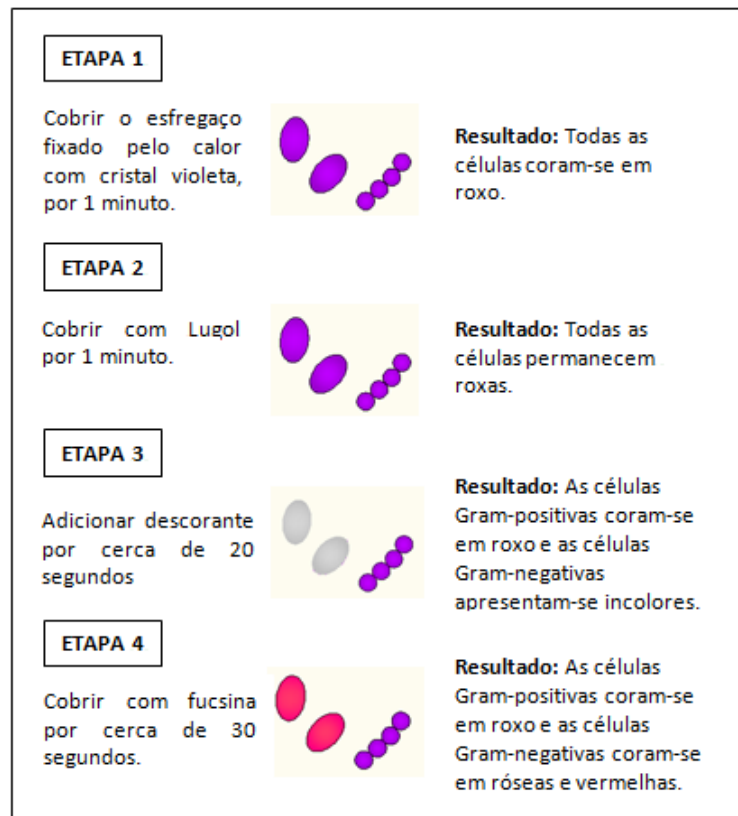
**Figura 7 – Isolamento das bactérias em meio MacConkey.**  
Fonte: Autoria própria.

## 4.5 IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS

### 4.5.1 Coloração de Gram

As bactérias Gram-positivas coram-se em roxo, enquanto as bactérias Gram-negativas, em rosa. Essa diferença de reação à coloração de Gram deve-se às diferenças na estrutura da parede celular das células Gram-positivas e Gram-negativas. Após a coloração com um corante básico, normalmente o cristal violeta, o tratamento com etanol descora as células Gram-negativas, mas não as Gram-

positivas. Após a coloração de contraste com um corante de cor diferente, os dois tipos de células podem ser diferenciados microscopicamente (MADIGAN et al., 2010, p. 418). O comportamento e a maneira com que ocorre a coloração de cada bactéria e as etapas de aplicação dos corantes podem ser visualizados na Figura 8.

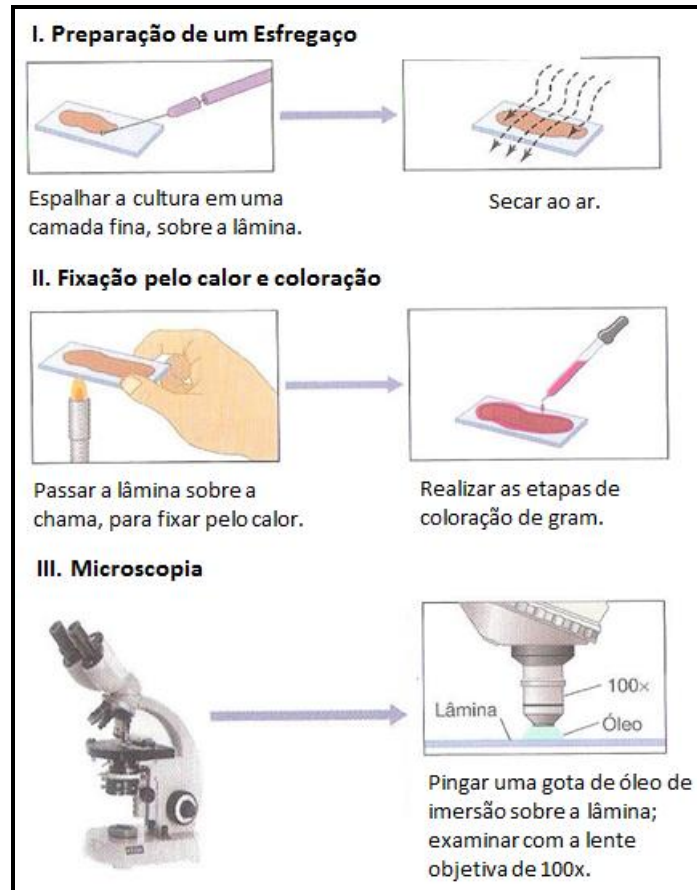


**Figura 8 – Coloração de Gram.**

Fonte: Adaptação de MADIGAN et al., 2010, p. 28.

O teste morfotintorial é iniciado com um esfregaço na lâmina e posterior aguardo na secagem do mesmo. Para a fixação a lâmina é passada no fogo três vezes rapidamente. Após isso se cobre o esfregaço seco com cristal violeta por 1 minuto e lava-se com água destilada esterilizada. Segue-se com o lugol por 1 minuto e novamente é realizada a lavagem com água destilada esterilizada. Posiciona-se a lâmina inclinada para limpar com solução descorante cerca de 20 segundos. O excesso é retirado e, então, cobre-se por 30 segundos com fucsina e lava-se com água esterilizada. Espera-se secar e é levado para a observação em microscópio em objetiva de 100x, sob imersão, para identificar a morfologia e resultado da

coloração. As etapas desde o início até o fim da coloração de Gram pode ser visualizada na Figura 9.



**Figura 9 – Passos para realizar a coloração de Gram.**  
 Fonte: Adaptação de MADIGAN et al., 2010 p. 28.

A morfologia e a coloração de Gram de cada bactéria em estudo pode ser visualizada no Quadro 3.

Bactéria	Morfologia	Coloração de Gram
<i>Acinetobacter spp</i>	Cocobacilo, cocos Diplococos	Negativa
<i>Escherichia coli</i>	Bacilos grandes	Negativa
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bacilos	Negativa
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacilos (cadeias curtas)	Negativa
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocos	Positiva

**Quadro 2 - Morfologia e coloração de Gram das Bactérias estudadas.**

Fonte: Adaptação de BROOK et al., 2009; ANVISA, 2002; MADIGAN, 2010.

## 4.5.2 Testes bioquímicos

Após o teste morfotintorial seguiu-se com o teste bioquímico. Para as colônias que tenham resultado negativo para a coloração de Gram (*Acinetobacter spp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*) foram realizados os testes de citrato, TSI e inoculados em ágar cetrímide já para os resultados gram-positivo (*Staphylococcus aureus*) as bactérias foram submetidas apenas ao teste de catalase e inoculadas em ágar manitol.

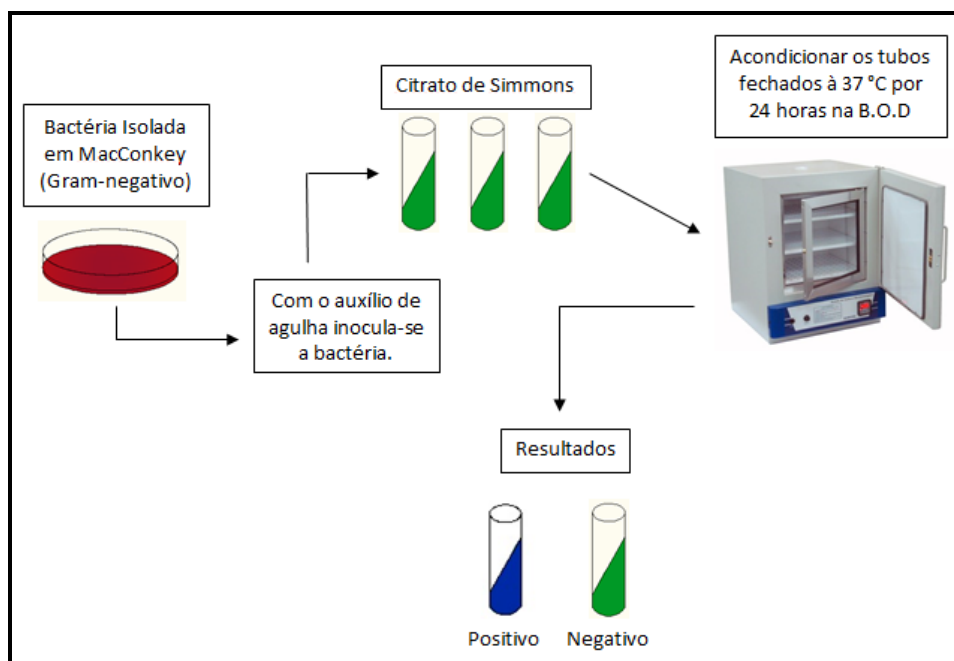
### 4.5.2.1 Catalase

Uma quantidade de material fresco a ser analisado foi depositado em uma lâmina de vidro com o auxílio de uma alça de inoculação e posteriormente uma gota de solução peróxido de hidrogênio (água oxigenada) 3% foi adicionada no material. Tal teste foi realizado em triplicata. As enzimas de catalase promovem a quebra do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Durante essa quebra ocorre a liberação de oxigênio havendo a formação de bolhas. O teste é considerado positivo quando há o borbulhamento instantâneo, ou seja, há efervescência da amostra. Para *Staphylococcus aureus*, o teste de catalase deve ser positivo.

### 4.5.2.2 Citrato de Simmons

O teste verifica a capacidade da bactéria de utilizar o citrato de sódio como única fonte de carbono, juntamente com sais de amônia, alcalinizando o meio. Para a realização da prova, o material a ser analisado (colônias esgotadas no meio MacConkey com resultado Gram negativo) é inoculado através de pequenas estrias na superfície do ágar inclinado no tubo, utilizando-se uma agulha de inoculação estéril. O meio é submetido à incubação por 24 - 48 horas à 37°C (Figura 10). O teste foi realizado em triplicata.

Por reação à utilização do citrato como fonte de energia, gera-se nos passos finais da reação uma grande quantidade de gás carbônico (CO<sub>2</sub>). Este gás em excesso pode reagir com o sódio (Na<sup>+</sup>) e a água (H<sub>2</sub>O) do meio, produzindo compostos alcalinos como o carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Isto faz com que o pH do meio se transforme em alcalino, ocasionando a mudança do indicador para azul, o que é considerado um resultado positivo para a prova de Citrato de Simmons. Caso a viragem de coloração não ocorra o meio permanecerá verde, resultado negativo (ANVISA, 2014, p. 23).



**Figura 10 – Procedimento do teste de citrato de Simmons.**  
**Fonte: Autoria própria.**

O resultado conforme a literatura do teste de citrato de simmons de cada bactéria em estudo pode ser visualizado no Quadro 4.

Bactéria	Resultado Citrato de Simmons
<i>Acinetobacter spp.</i>	Positivo
<i>Escherichia coli</i>	Negativo
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Positivo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Negativo

**Quadro 3 – Citrato de simmons**

**Fonte: Adaptação de BROOK et al., 2009; ANVISA, 2002; MADIGAN, 2010.**

### 4.5.2.3 Triple Sugar Iron (TSI)

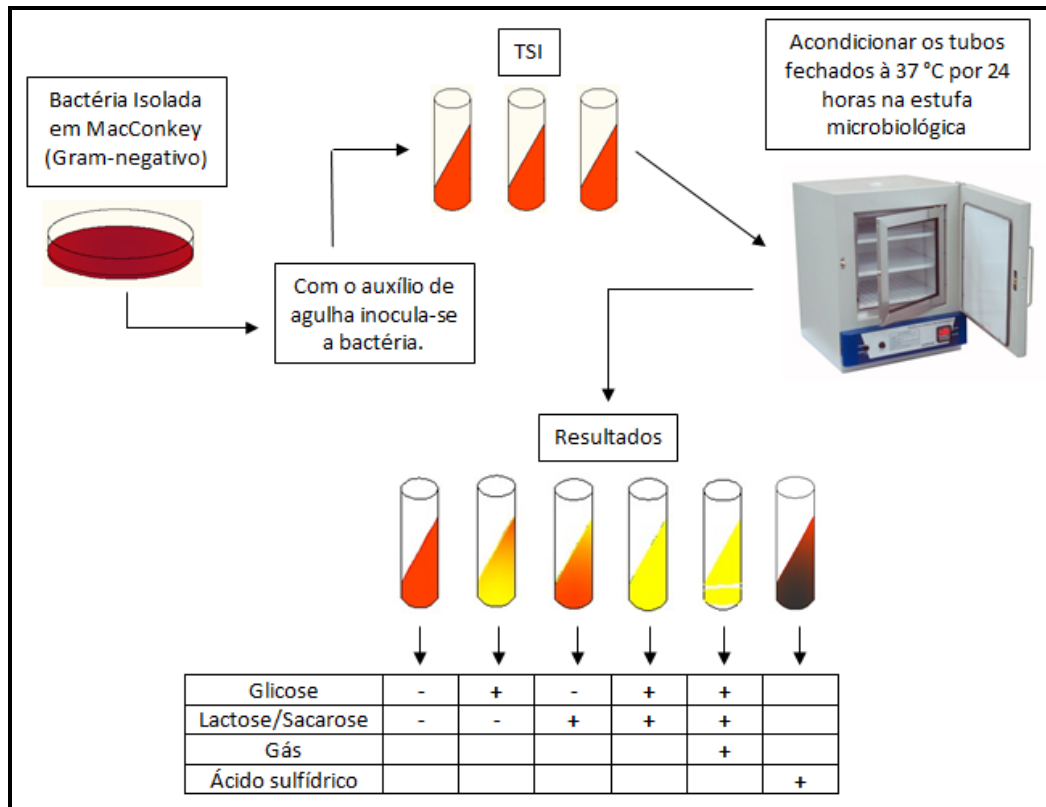
O teste TSI proporciona observar a fermentação de glicose e produção de gás, fermentação de lactose e/ou sacarose e a produção de H<sub>2</sub>S. O procedimento de realização da prova consiste basicamente no mesmo processo do Citrato de Simmons (Figura 9). A análise dos resultados segue a partir da mudança de coloração do meio após a inoculação do micro-organismo.

Bactérias que utilizam apenas glicose provocam acidificação, resultando na cor amarela apenas na base e permanecendo avermelhada no ápice alcalino. Caso apenas a lactose/sacarose sejam fermentadas, a base permanece avermelhada e o ápice ficará amarelo. As bactérias fermentadoras de glicose e lactose/sacarose acidificam todo o meio (coloração amarela integralmente). A formação de gás é evidenciada pelo rompimento ou deslocamento do meio. Já a produção de H<sub>2</sub>S é manifestada pelo escurecimento do meio. No Quadro 5 e Figura 11, pode-se visualizar os possíveis resultados do TSI e os resultados conforme a literatura para as bactérias estudadas, respectivamente.

Bactéria	H <sub>2</sub> S	Glicose	Sacarose/Lactose
<i>Acinetobacter spp.</i>	Negativo	Positivo	Negativo
<i>Escherichia coli</i>	Negativo	Positivo	Positivo
<i>Klebsiella pneumonia</i>	Negativo	Positivo	Positivo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Negativo	Positivo	Positivo

**Quadro 4 - Resultado do teste de TSI para as bactérias em estudo.**

**Fonte: Adaptação de BROOK et al., 2009; ANVISA, 2002; MADIGAN, 2010.**



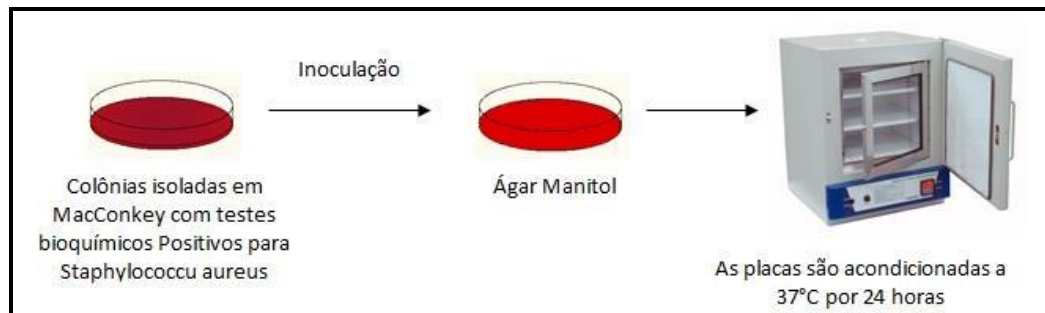
**Figura 11 – Procedimento do teste TSI (Triple Sugar Iron) e os possíveis resultados do teste.**

**Fonte: Autoria própria.**

Ainda para confirmar a identificação de duas espécies de bactérias, as colônias que apresentaram testes bioquímicos positivos para *Staphylococcus aureus* foram inoculadas em meio Manitol (Figura 12). Já as colônias com testes positivos para *Pseudomonas aeruginosa* foram inoculadas em Ágar Cetrimide (Figura 13). Cada colônia foi inoculada em triplicata e todas as placas incubadas a 37°C por 24 horas.

O Agar manitol é um meio seletivo, no qual apenas algumas bactérias conseguem se desenvolver, como exemplo determinadas espécies de *Staphylococcus aureus*. O manitol possui uma concentração de sal de 7,5%, ou seja, muito elevada, que inibe a maior parte dos microrganismos. Permite principalmente o crescimento de cocos Gram-positivos. Outro fator que caracteriza o meio como diferencial é a presença do álcool manitol e o indicador de pH, o vermelho de fenol, que passa de vermelho para amarelo caso o manitol for fermentado (manitol positivo). Para as *Staphylococcus aureus* o manitol é positivo (SOUZA JUNIOR, 2009, p. 10).

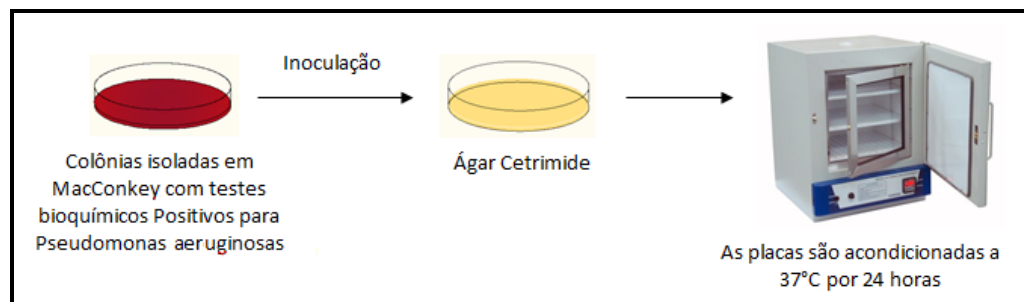




**Figura 12 – Inoculação em meio Manitol.**

**Fonte: Autoria própria.**

O meio Cetrimide é um meio seletivo para o isolamento e contagem de *Pseudomonas aeruginosa*. A cetrimida é um composto quaternário de amônio que inibe um grande número de bactérias. O meio também favorece a produção de pigmentos fluorescente por algumas cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. A interpretação positiva do crescimento de tal bactéria é por meio do desenvolvimento de colônias (THERMO SCIENTIFIC, 2014, p.1).



**Figura 13 – Inoculação em meio Cetrimide.**

**Fonte: Autoria própria.**

#### 4.6 SENSIBILIDADE DAS BACTÉRIAS ÀS SOLUÇÕES DESINFETANTES

Parte-se do princípio que as bactérias possivelmente patogênicas em estudo são provenientes de efluentes hospitalares e domiciliares. Dessa forma, os agentes químicos selecionados para a análise da resistência ou multirresistência e da

sensibilidade das bactérias foram os antibióticos e os desinfetantes. Dentre os desinfetantes estão o hipoclorito de sódio (Clor L), o cloreto de benzalcônico (Dequater senior) e o peróxido de hidrogênio/ácido peracético (Multi Germ) que são mais empregados em hospitais (ALMODOVAR; LIMA; AURICCHIO, 2012, p. 651; TORRES E LISOA, 2010, p. 64).

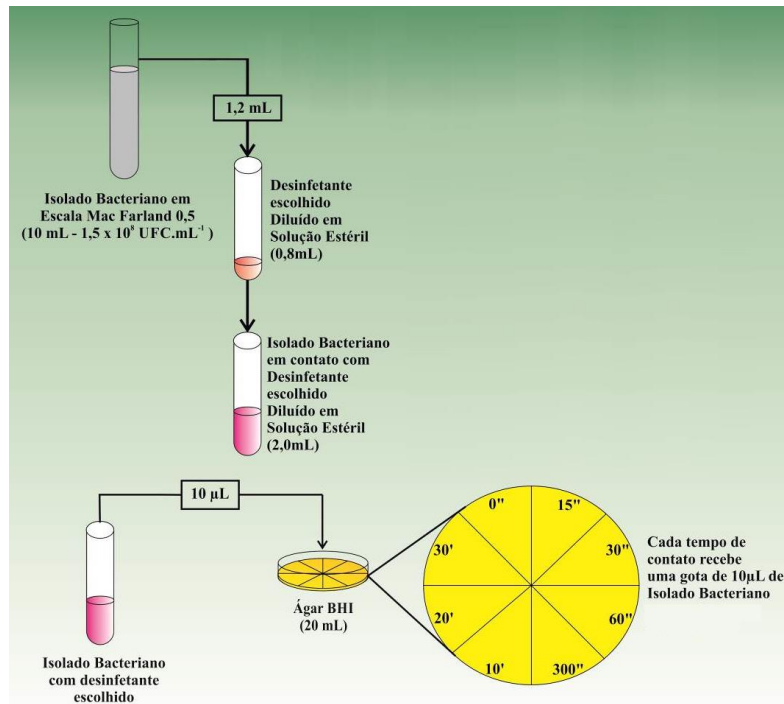
A avaliação da sensibilidade das bactérias às soluções desinfetantes foi realizada utilizando a metodologia modificada de Ramalho et al. (2012), como descrita abaixo.

Cada espécie bacteriana isolada foi diluída em solução salina estéril ajustada para 0,5 na escala padrão de Mc Farland, com aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>. As soluções dos três desinfetantes foram preparadas a uma concentração para 0,8mL de solução, respeitando as especificações (concentração, validade e condições de armazenamento) do fabricante. Assim, a diluição das soluções ficou:

- Hipoclorito de sódio: 0,2mL de hipoclorito de sódio e 0,6mL de água estéril;
- Cloreto de benzalcônico: 0,025mL de cloreto benzalcônico e 0,78mL de água estéril;
- Peróxido de hidrogênio/ácido peracético: 0,05mL de peróxido de hidrogênio e 0,74mL de água estéril.

Para cada um dos três desinfetantes foi transferido 1,2 mL da solução Mc Farland da bactéria em estudo para a solução desinfetante (0,8 mL). O teste consistiu na análise de resistência dos microrganismos em meio ao desinfetante no tempo de 15", 30", 60", 300", 10', 20' e 30'. Assim, após o tempo transcorrido, uma gota de 10 µL da solução (Mc Farland + desinfetante) foi inoculada em Agar BHI sólido (20mL na placa de Petri) dividido em 8 partes. Cada gota foi disposta em seu tempo específico de contato com o desinfetante (Figura 14).

As placas inoculadas foram levadas a estufa bacteriológica a uma temperatura de 37°C por 24 horas. O crescimento das bactérias no meio de cultura confirma a resistência da bactéria a determinado desinfetante conforme o tempo de contato.



**Figura 14 - Etapas pra a realização do teste de desinfetante.**  
**Fonte: Autoria própria.**

#### 4.7 SENSIBILIDADE DAS BACTÉRIAS A ANTIBIÓTICOS

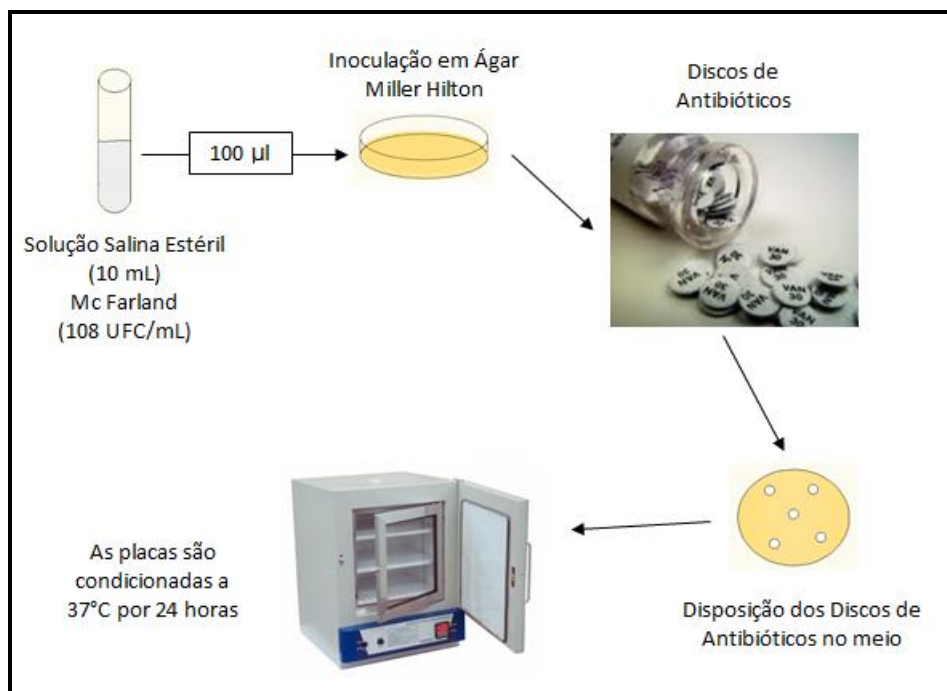
A avaliação das bactérias quanto à resistência e sensibilidade a alguns antibióticos também é considerado de grande valia, uma vez que o uso de antibióticos em hospitais e domicílios são bastante recorrentes. Antes do início do teste as placas e os frascos com os discos foram retirados com cerca de 20 a 30 minutos para que adquirissem a temperatura ambiente antes da execução da análise.

Os Antibióticos selecionados foram: Ampicilina, Amoxicilina, Cefaloxina, Ciprofloxacino, Clorafenicol, Doxiciclina, Eritromicina, Gentamicina, Tetraciclina e Vancomicina. O procedimento técnico foi realizado conforme Laborclin (2011) em Manual para Antibiógrama: Difusão em Disco Kirby-bauer. As etapas foram:

- Com uma alça de inoculação devidamente flambada e resfriada, tocar na colônia recente (18-24 horas);
- Suspender as colônias em solução salina estéril (NaCl 0,85%) até se obter uma turvação compatível com o grau 0,5 da escala McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>);

- Embeber um swab estéril na suspensão bacteriana, comprimindo-o contra as paredes do tubo para tirar o excesso da suspensão, e semear em seguida de forma suave em todas as direções na placa, procurando abranger toda a superfície;
- Aguardar a superfície do ágar secar (não mais que 15 minutos);
- Com o auxílio de uma pinça flambada e resfriada, colocar os monodiscos, sobre a superfície do meio inoculado, exercendo uma leve pressão com a ponta da pinça para uma boa adesão dos discos. Foram colocados 5 discos na placa, dispostos de maneira que o distanciamento entre os mesmos não iria interferir nos resultados;
- Incubar a placa com os discos em estufa bacteriológica a 37°C por 18 a 24 horas;
- O resultado foi obtido com o auxílio de uma régua para medir o diâmetro dos halos inibitórios de cada disco e consultam as tabelas existentes no Manual para antibiograma de Laborclin (2011) para determinar se a bactéria em análise era sensível, intermediário ou resistente ao antimicrobiano testado.

O esquema e procedimento da realização do antibiograma pode ser visualizado na Figura 15.



**Figura 15 - Etapas para a realização do antibiograma.**  
**Fonte: Autoria própria.**

Os antibióticos que foram utilizados para cada bactéria estudada podem ser visualizado no Quadro 6.

<b>Bactéria</b>	<b>Antibióticos</b>
<i>Acinetobacter spp.</i>	Doxiciclina, Ampicilina, Ciprofloxacino, Gentamicina, Tetraciclina.
<i>Escherichia coli</i>	Cefaloxia, Ampicilina, Tetraciclina, Vancomicina, Eritromicina.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Cefaloxina, Ampliciclina, Amoxicilina, Vancomicina, Eritromicina.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Eritromicina, Ciprofloxacino, Tetraciclina, Vancomicina, Clorafenicol.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ampicilina, Vancomicina, Eritromicina, Tetraciclina, Clorafenicol.

**Quadro 5 - Antibióticos a serem utilizados para cada bactéria.**

**Fonte:** Adaptação de (BROOK et al., 2009; ANVISA, 2002; MADIGAN, 2010).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 MICRORGANISMOS ISOLADOS

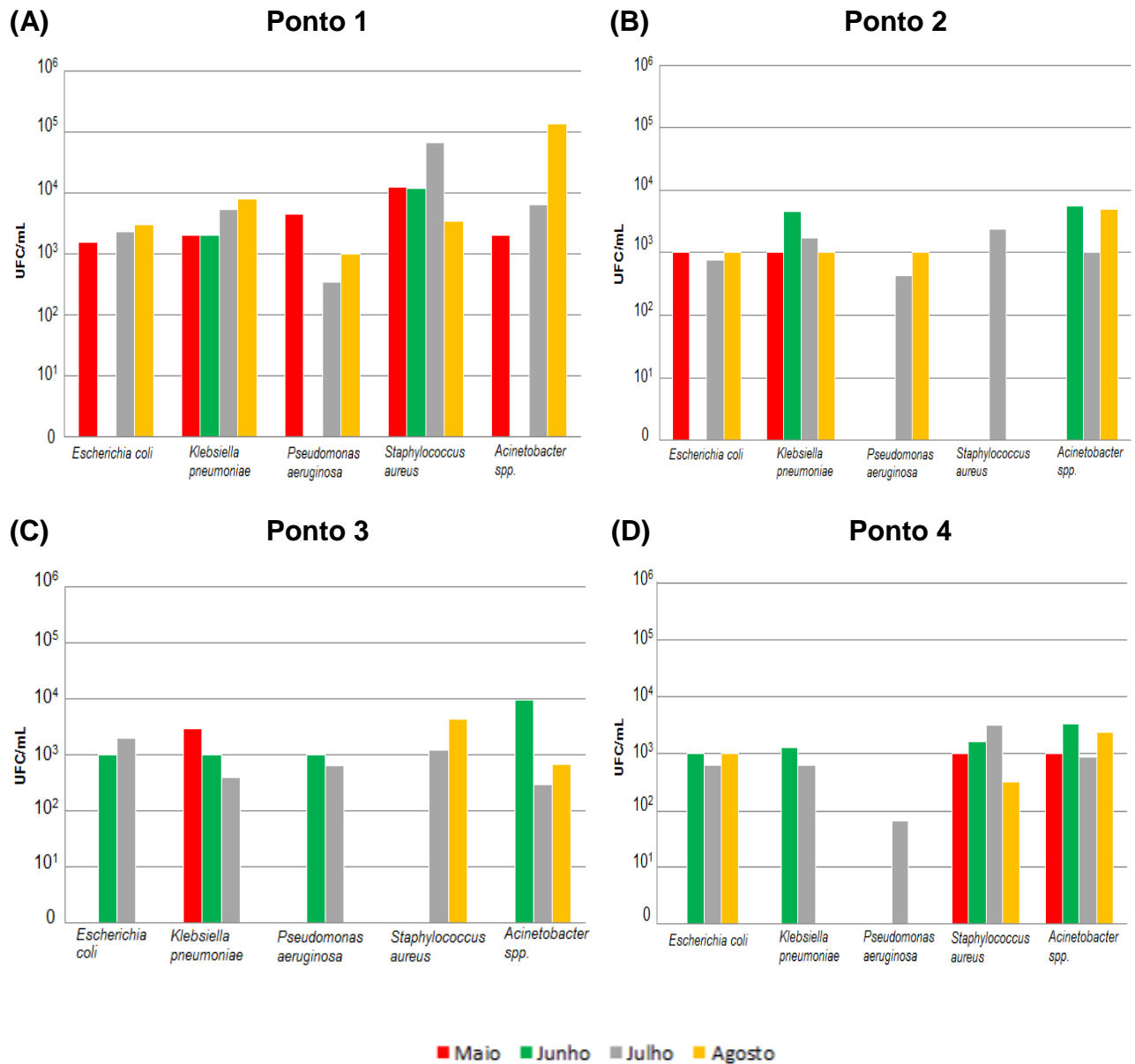
Analisando a Figura 16, nota-se que as bactérias presentes com mais frequência e maior quantidade nos pontos de coleta foram: *Staphylococcus aureus* e a *Acinetobacter spp.*, ambos no ponto 1, com  $6,56 \times 10^4$  UFC.mL<sup>-1</sup> em julho e  $1,35 \times 10^5$  UFC.mL<sup>-1</sup> em agosto, respectivamente; *Pseudomonas aeruginosa* foi a bactéria com menor frequência e quantidade de unidades formadoras de colônia.

As bactérias detectadas nas amostras em todos os meses de análise foram a *Klebsiella pneumoniae* (Ponto 1 e 2), *Staphylococcus aureus* (Ponto 1 e 4) e *Acinetobacter spp* (Ponto 4). O ponto 3 foi o que apresentou mais bactérias ausentes nos meses de maio e agosto. A ausência ou até mesmo a diminuição das bactérias no ponto 3 pode ser explicada pela interferência de parâmetros bióticos, como a predação ou competição com os microrganismos nativos.

O ponto 1 possui maior carga de microrganismos potencialmente patogênicos do que os demais pontos situados no Ribeirão Jacutinga, pois ele é o ponto que já recebeu a contribuição de esgoto doméstico, hospitalar e industrial.

Acredita-se que a única contribuição para o aumento ou existência de grande quantidade das bactérias em estudo nos pontos 2, 3 e 4 seja por carreamento de bactérias já existentes no solo ou o possível despejo de efluente proveniente do frigorífico a montante do ponto 2, como pode ser visualizado na Figura 3. Geralmente efluentes de frigoríficos contém microrganismo que podem ser considerados nocivos ao homem, dentre eles tem-se a *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e a *Staphylococcus aureus* (SILVA; CORTEZ; GONÇALVES, 2012, p. 11).

Pode-se observar que em determinados meses, como maio e julho nos pontos 2 e 3, os microrganismos do grupo coliformes, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* apresentam maior quantidade de unidades formadoras de colônia. No ponto 2, para mês de maio, foram contabilizadas  $1,00 \times 10^3$  UFC.mL<sup>-1</sup> para ambas as bactérias. Já no ponto 3, a *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* contabilizaram  $1,95 \times 10^3$  UFC.mL<sup>-1</sup> em julho e  $3,00 \times 10^3$  UFC.mL<sup>-1</sup> em maio, respectivamente.



**Figura 16 - Quantidade (UFC.mL<sup>-1</sup>) de cada bactéria nos quatro pontos de análise para os meses de Maio, Junho, Julho e Agosto. (A) Ponto 1; (B) Ponto 2; (C) Ponto 3 e (D) Ponto 4.**

Conforme a CONAMA n. 357 de 2005, para águas doces classe 2, o limite permitido é de 1000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros (igual a 10 coliformes termotolerantes por mililitros). Assim, nos meses e pontos descritos acima estão bastante superiores ao padrão máximo exigido.

Von Sperling (2005, p. 206) menciona que em situações gerais e mais comuns, as bactérias patogênicas tendem a morrer com mais rapidez do que as bactérias do grupo coliformes, o que confirma certa segurança na utilização dos

coliformes como indicadores de adequação sanitária de um corpo d'água. Entretanto, no presente estudo, a *Acinetobacter spp.* e *Staphylococcus aureus* foram encontradas em maior quantidade do que a *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. A distância do trecho em análise pode ser um fator contribuinte para a incompatibilidade do mencionado por Von Sperling, pois em termos de decaimento bacteriano, a distância é relativamente pequena.

Duarte (2011, p.13) em seu trabalho que relata o questionamento da *Escherichia coli* como o melhor indicador de contaminação fecal. Os coliformes termotolerantes podem sobreviver de 92 a 294 horas e águas tropicais. Devido a isso, a autora critica a utilização delas como indicador microbiano de poluição fecal em corpos d'água, principalmente em ecossistemas tropicais. Souza e Daniel (2008, p. 266) mencionam a importância de outros indicadores na avaliação microbiológica das águas, os quais podem exibir relação mais estreita com a presença de microrganismos patogênicos na água, particularmente aqueles que podem persistir por mais tempo no ambiente.

Frequentemente, é registrada em corpos d'água uma elevação de bactérias indicadoras de contaminação fecal, dado o aumento da precipitação (DAVINO, 2013, p. 32). Analisando tais bactérias (*Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*) na Figura 16 e comparando com os dados pluviométricos da Tabela 1, verifica-se uma divergência com a informação acima, pois com a elevação da precipitação, houve um decréscimo de microrganismos de contaminação fecal. E com a diminuição da precipitação, as bactérias indicadoras aumentaram.

**Tabela 1 – Dados Pluviométricos dos meses de Maio a Agosto de 2013.**

<b>Mês</b>	<b>Precipitação (mm)</b>
Maio	140,4
Junho	212,3
Julho	34,1
Agosto	0,4

**Fonte: IAPAR, 2014.**

No ponto 1 do mês de Julho visualiza-se um pico da bactéria *Staphylococcus aureus* (Figura 17 - E). Realmente esperava-se que no ponto 1 a presença dos microrganismos fosse maior devido ao fato do mesmo estar situado na



saída da ETE. Devido à ausência de parâmetros pra identificar a causa do ocorrido, especula-se que no mês de julho a quantidade de indivíduos doentes pela bactéria tenha sido maior.

Percebe-se também que para os meses de maio e junho, no ponto 4 há um crescimento na quantidade de unidades formadoras de colônia sendo que nos pontos anteriores (Ponto 2 e 3) não houve registro de UFCs (Figura 17 - E). Tal fato pode ser explicado pelo fato da bactéria ser distribuída amplamente no ambiente e pela sua capacidade de resistir à dessecação e ao frio, podendo permanecer viável por longos períodos em partículas de poeira (SANTOS et al., 2007, p. 414).

As elevadas quantidades de UFCs no ponto 2 quando comparadas ao ponto 3 para as bactérias *Klebsiella pneumoniae* (junho e julho) e *Staphylococcus aureus* (julho) podem ser justificadas por possível despejo de efluente do frigorífico situado na região a montante do ponto 2 (Figura 17 - C). Afinal, como comentado, efluentes de frigoríficos podem conter esses microrganismos. Além disso, o pico da *Klebsiella pneumoniae* no mês de agosto pode ser explicado por um possível aumento de casos de pneumonia, visto que nessa época do ano (inverno) a população está mais vulnerável a contrair essa doença.

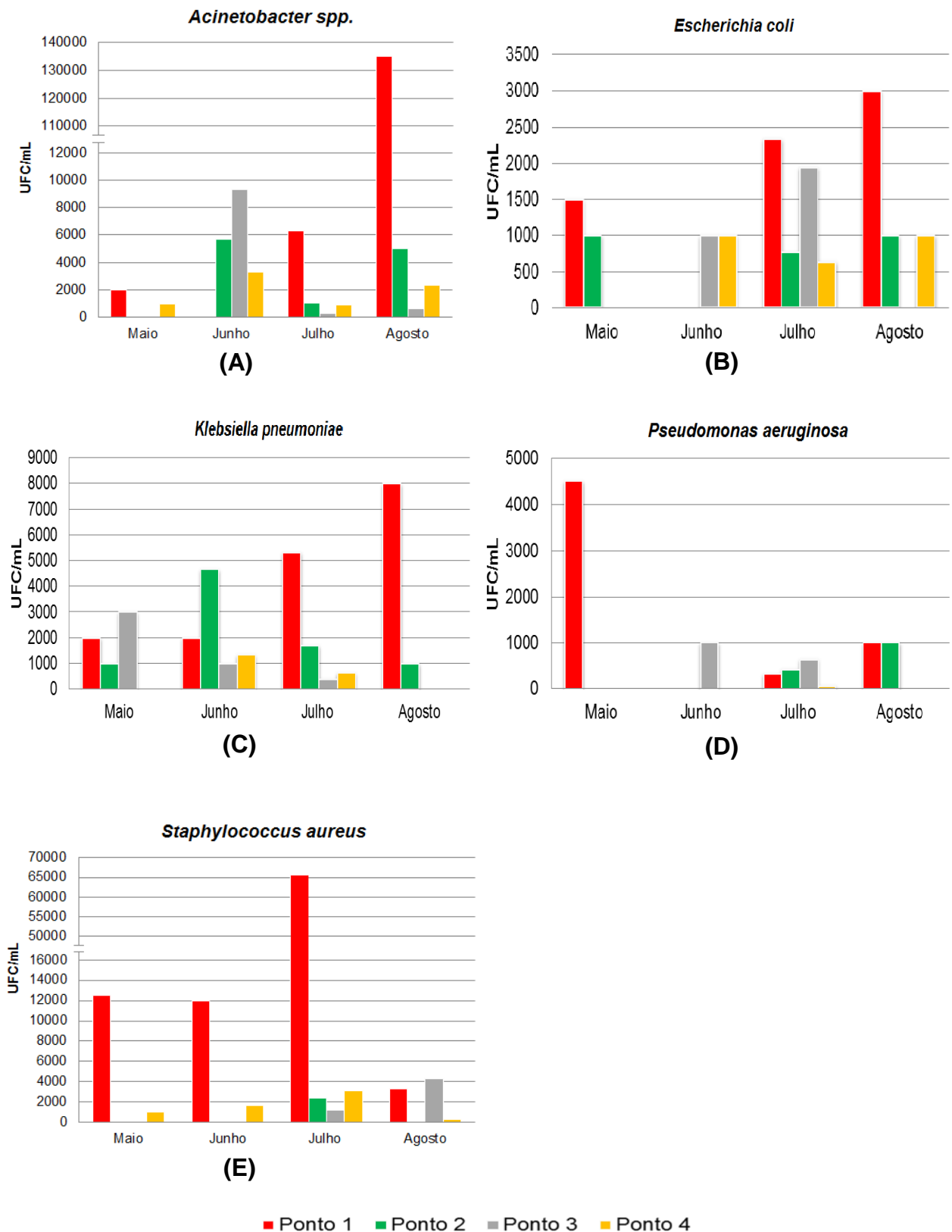


Figura 17 - Quantidade (UFC.mL<sup>-1</sup>) de cada bactéria nos quatro pontos de análise para os meses de Maio, Junho, Julho e Agosto. (A) *Acinetobacter spp.*; (B) *Escherichia coli*; (C) *Klebsiella pneumoniae*; (D) *Pseudomonas aeruginosa* e (E) *Staphylococcus aureus*.

## 5.2 MONITORAMENTO FÍSICO-QUÍMICO

Os dados de turbidez podem ser visualizados na Figura 18. Percebe-se que para o mês de agosto os valores de turbidez medidos ultrapassam o máximo permitido pela CONAMA n. 357 de 2005. Visualiza-se na Tabela 2 que o oxigênio dissolvido o mês de junho não atingiu o mínimo exigido pela mesma Resolução.

Nos pontos 2 e 3 no mês de maio e no ponto 3 em julho percebe-se que os valores de oxigênio dissolvido ultrapassaram 9,2 mg/L. Von Sperling (2005, p.39) relata que em temperatura de 20°C ao nível do mar, concentrações de saturação maior ou igual a 9,2 mg/L é indicativo da presença de algas, pois o processo de fotossíntese libera oxigênio. O tratamento do esgoto na ETE é realizado por lagoa, possibilitando então que essas algas que possivelmente estariam presente na água sejam provenientes da lagoa de tratamento da ETE.

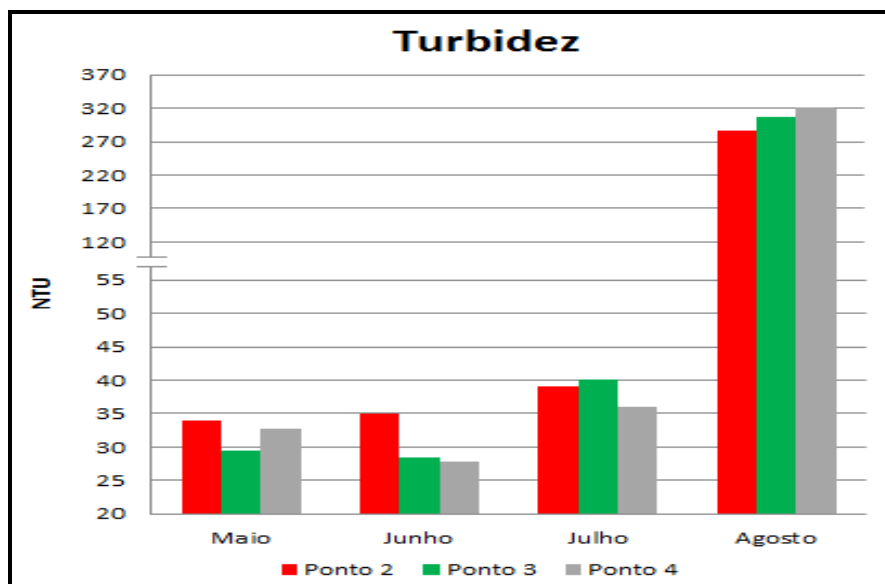


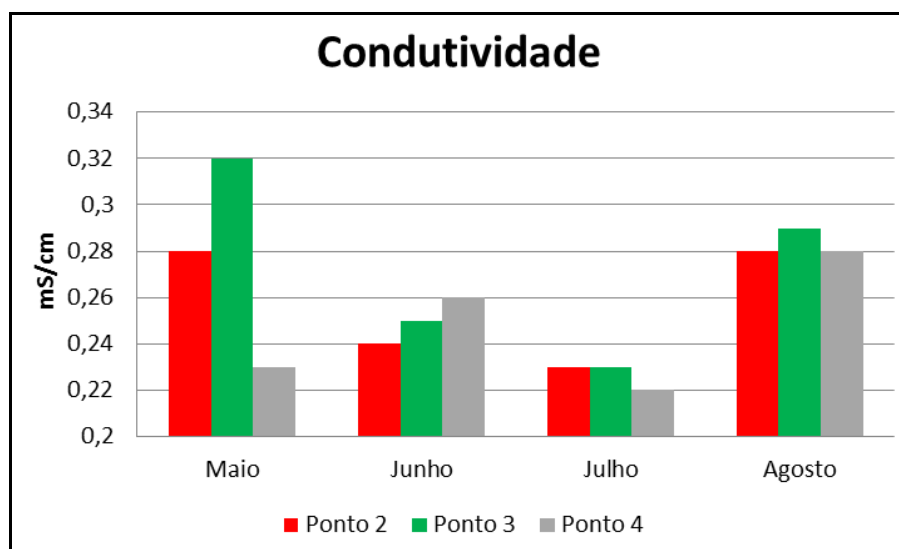
Figura 18 – Valores de turbidez medidos nos pontos 2, 3 e 4 nos meses de maio a agosto.

Tabela 2 – Parâmetros fora da conformidade da Resolução CONAMA n° 357 de 2005.

Parâmetros	Valor permitido	Valores medidos	Mês
Turbidez	100 NTU	286 a 321 NTU	Agosto
Oxigênio dissolvido	> 5 mg.L <sup>-1</sup>	0,4 a 2,1 mg.L <sup>-1</sup>	Junho

Fonte: Autoria própria.

Com relação à condutividade, CETESB (2013) considera que níveis superiores a  $100 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  indicam ambientes impactados. Como todos os valores medidos se encontraram na faixa de 220 a  $320 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ , pode-se dizer que com o despejo de esgoto o ribeirão pode estar impactado nos pontos estudados (Figura 19). A condutividade não determina especificamente quais os íons que estão presentes na amostra, ela indica de forma indireta a quantidade de sais existentes, que representa uma medida indireta da concentração de poluentes.



**Figura 19 - Valores de condutividade medidos nos pontos 2, 3 e 4 nos meses de maio a julho.**

A temperatura (Figura 20) e o pH (Figura 21) foram os parâmetros que respeitam a Resolução CONAMA 430 de maio de 2011, onde a temperatura de efluentes de esgoto tratado deve ser inferior a  $40^{\circ}\text{C}$ , e a Resolução CONAMA 357 de 2005, no qual é exigido para rios de classe 2 um pH entre 6,0 e 9,0.

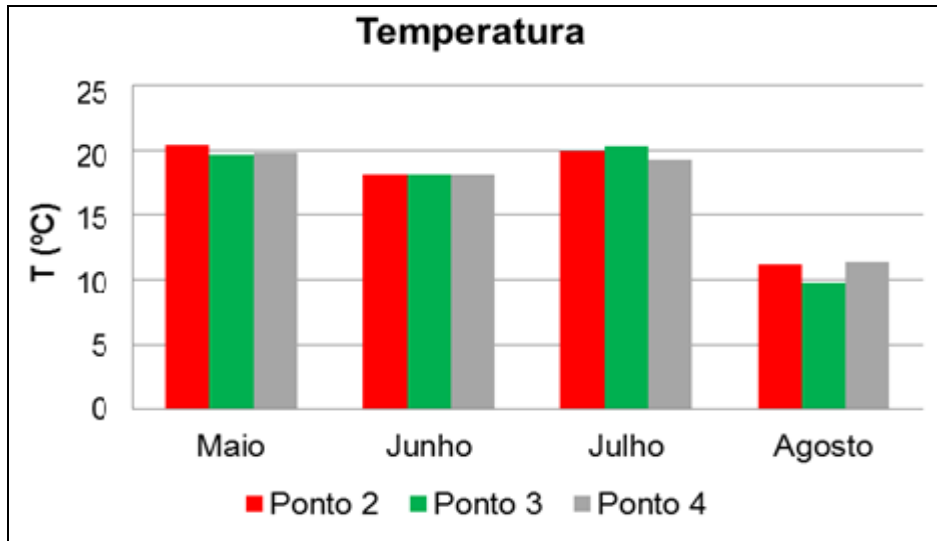


Figura 200 – Valores de temperatura medidos nos pontos 2, 3 e 4 nos meses de maio a agosto.

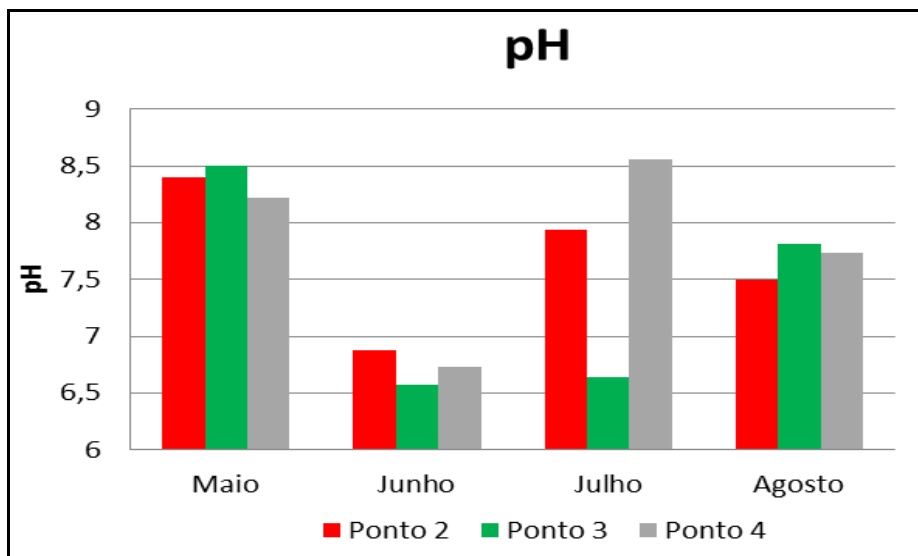


Figura 21 - Valores de pH medidos nos pontos 2, 3 e 4 nos meses de maio a agosto.

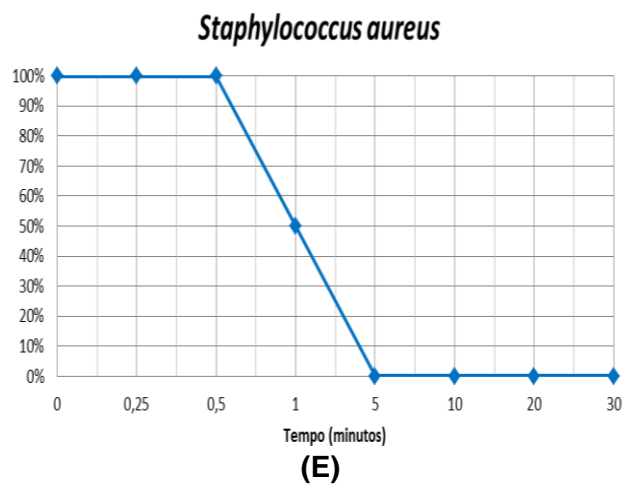
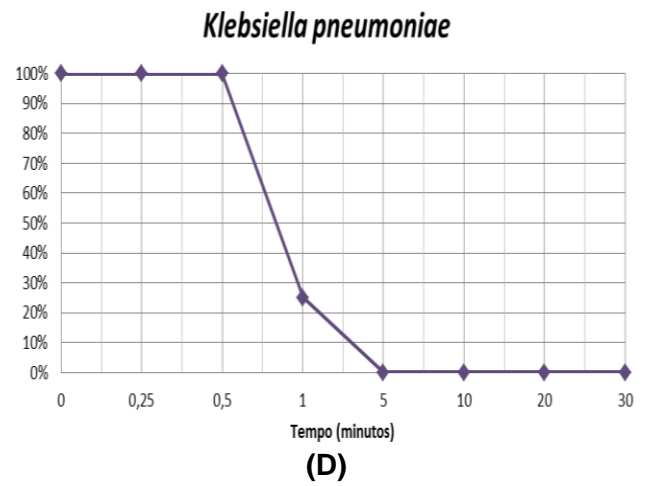
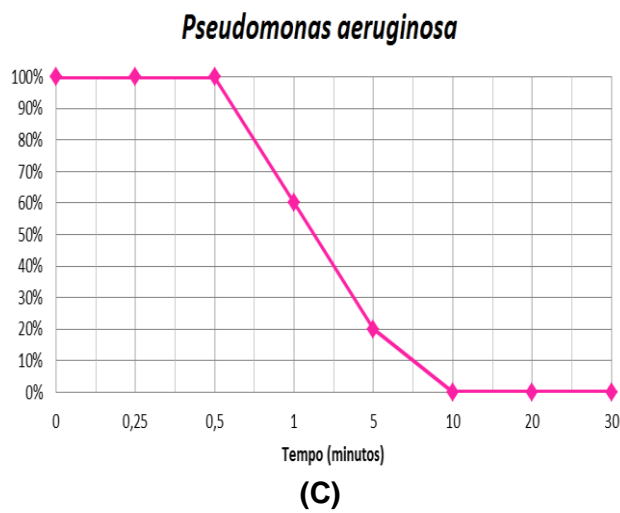
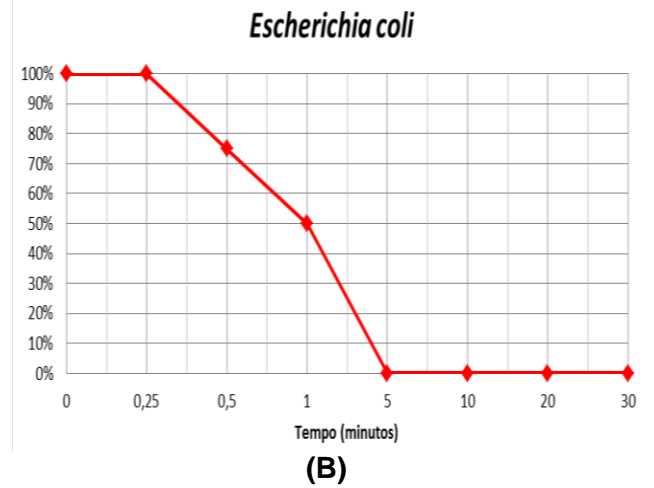
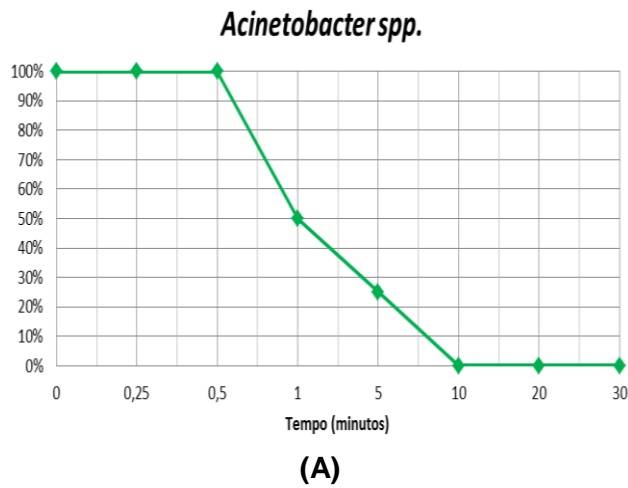
#### 5.4 SENSIBILIDADE AOS DESINFETANTES

Assim como todos os seres vivos as bactérias exibem mecanismos biológicos que permitem adequarem-se a diversas condições ambientais. A aplicação de desinfetantes no ambiente onde o microrganismo se encontra pode ser citado como uma dessas pressões ambientais. Nesse caso, fatores como concentração do desinfetante e tempo de contato interferem na sensibilidade da bactéria. A resistência aos desinfetantes surge por uma propriedade natural do organismo, ou por mutação ou por aquisição de plasmídeos (GONZÁLEZ, 2011, p. 23).

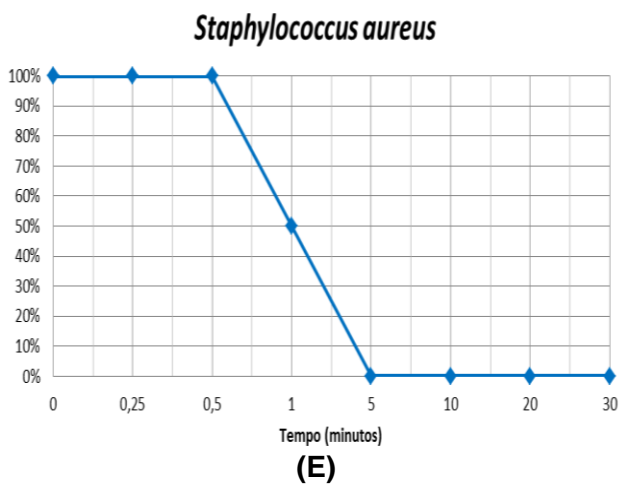
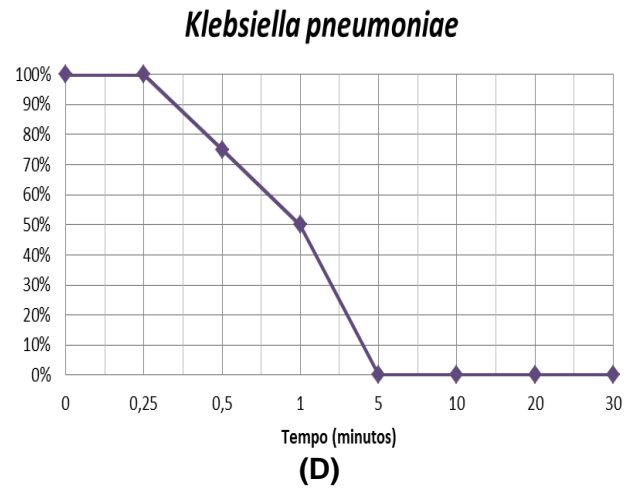
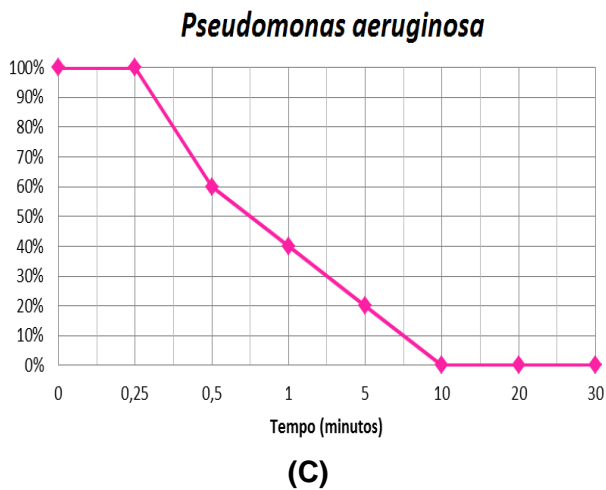
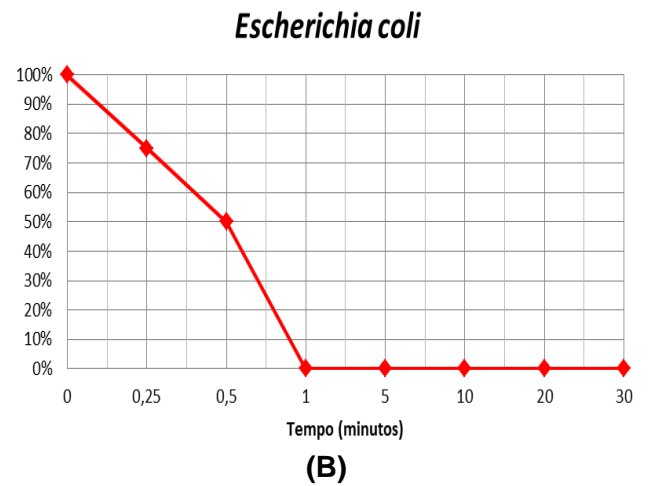
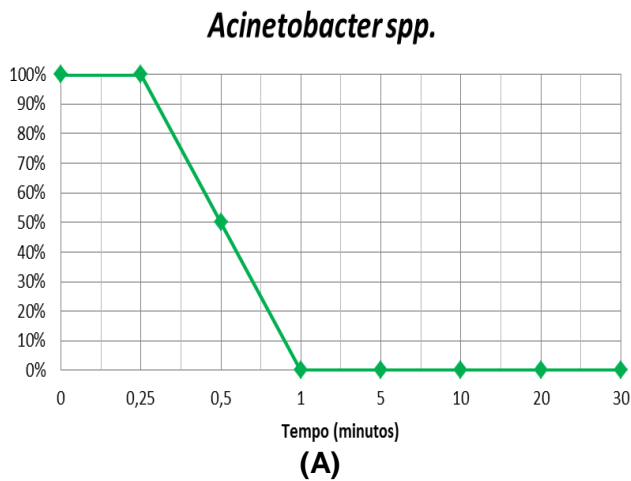
Em experimento realizado por Souza e Daniel (2005), comparando o hipoclorito de sódio ao peróxido de hidrogênio/ácido peracético, mostrou que a desinfecção de *Escherichia coli* pelo peróxido de hidrogênio/ácido peracético foi mais efetiva que pelo hipoclorito de sódio.

Comparando a Figura 22 e Figura 23 visualiza-se que a constatação do estudo de Souza e Daniel também se aplica para *Acinetobacter spp.*, além da *Escherichia coli*. O peróxido de hidrogênio/ácido peracético inativou as bactérias mencionadas em apenas 1 minuto de contato, enquanto o hipoclorito de sódio inativou a *Acinetobacter spp.* e *E. coli* em 10 e 5 minutos, respectivamente.

O cloreto de benzalcônico foi mais efetivo (em termos de tempo de contato) com as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, ambas inativadas com 5 minutos (Figura 24). Pedrini e Margatho (2003), relata em seu estudo que o cloreto de benzalcônico apresentou-se mais ativo em *Staphylococcus spp.* (gram-positiva).

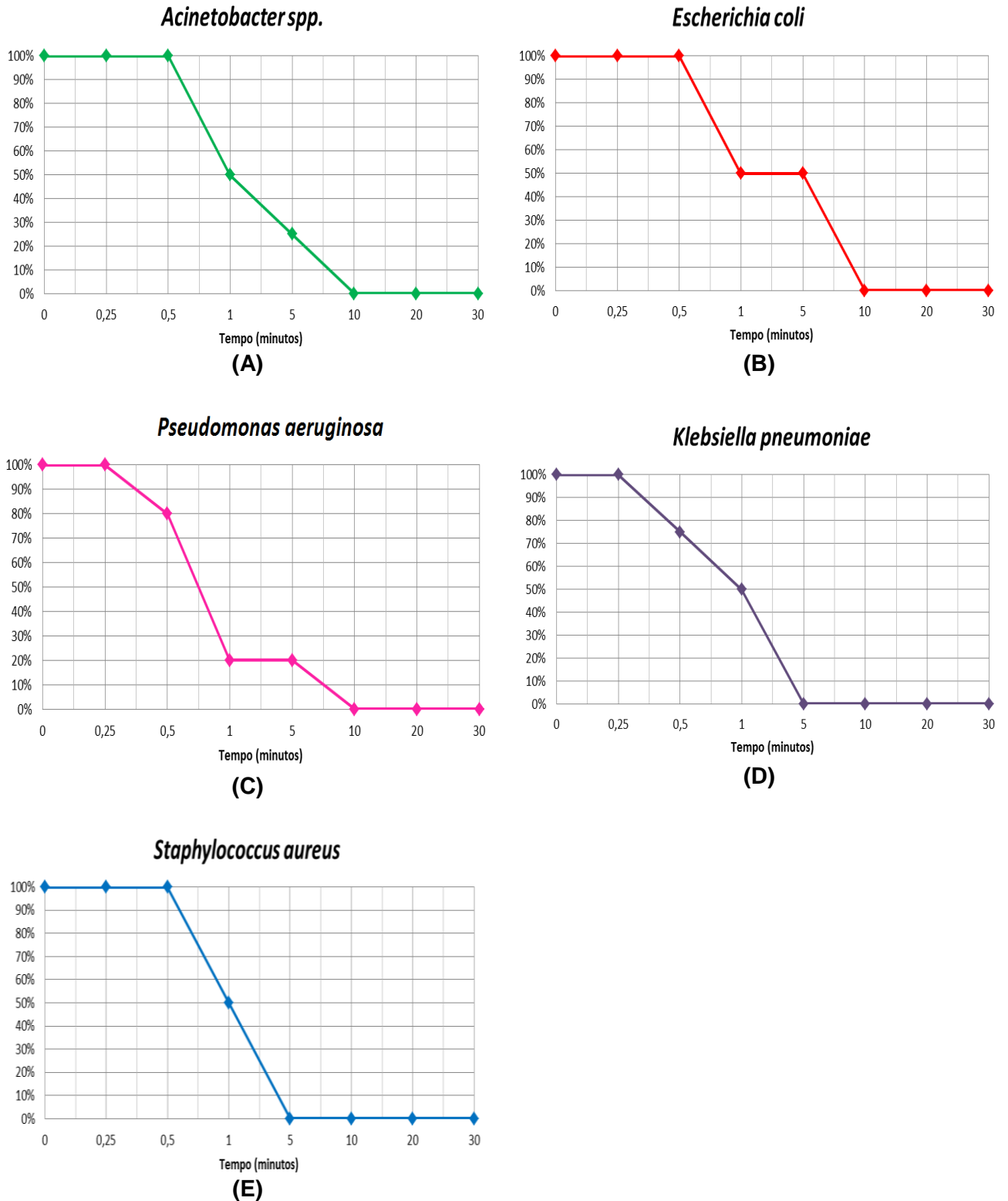


**Figura 22 – Avaliação da sensibilidade das bactérias ao desinfetante Hipoclorito de sódio. (A) *Acinetobacter spp.*; (B) *Escherichia coli*; (C) *Pseudomonas aeruginosa*; (D) *Klebsiella pneumoniae*; (E) *Staphylococcus aureus*.**



**Figura 23 – Avaliação da sensibilidade das bactérias ao desinfetante Peróxido de hidrogênio/ácido peracético. (A) *Acinetobacter spp.*; (B) *Escherichia coli*; (C) *Pseudomonas aeruginosa*; (D) *Klebsiella pneumoniae*; (E) *Staphylococcus aureus*.**





**Figura 24 – Avaliação da sensibilidade das bactérias ao desinfetante Cloreto de benzalcônio. (A) *Acinetobacter spp.*; (B) *Escherichia coli*; (C) *Pseudomonas aeruginosa*; (D) *Klebsiella pneumoniae*; (E) *Staphylococcus aureus*.**

Considerando todos os desinfetantes testados observa-se que a bactéria *Staphylococcus aureus* demonstrou comportamento semelhante quanto ao efeito de inativação. Constatou-se portanto que para essa bactéria independente do desinfetante testado a eficiência é a mesma, com início de inativação a 30 segundos e inativação completa em 5 minutos.

No que diz respeito à bactéria *Escherichia coli*, o peróxido de hidrogênio/ácido peracético foi o desinfetante que teve o início de seu processo de inativação nos 15 segundos de contato e inativação completa em 1 minuto. Para o hipoclorito de sódio a inativação é um processo contínuo (não há intervalo de tempo onde o decaimento é constante) com 10 minutos de contato para inativar completamente a bactéria. Já para o cloreto de benzalcônico, a inativação ocorre 50% entre 30 e 60 segundos e 50% no período de 5 a 10 minutos (Figura 24).

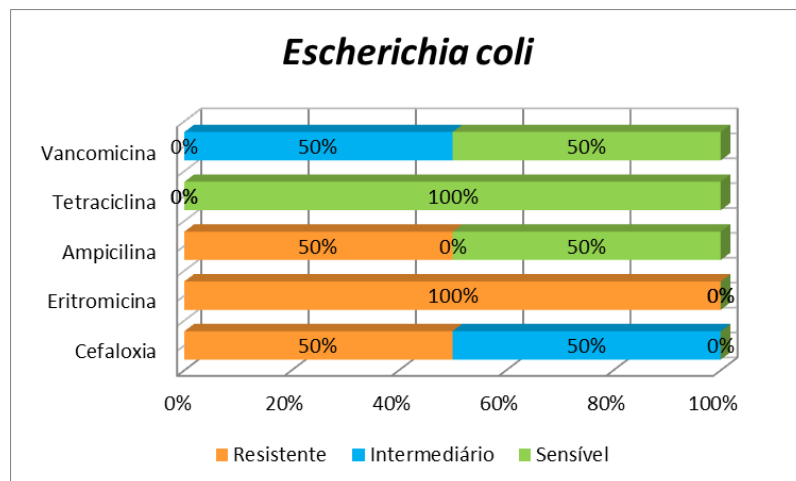
Tanto a *Klebsiella pneumoniae* quanto para *Pseudomonas aeruginosa* obteve o mesmo tempo final de inativação para todos os desinfetantes. Assim como a *Escherichia coli*, em termos de tempo na eficiência de inativar a bactéria, não há um melhor desinfetante a ser utilizado (dentro os utilizados no estudo). O que os difere é apenas o tempo de início da inativação e a porcentagem de inativação conforme o decorrer do tempo.

A partir da comparação das Figuras 22, 23 e 24, percebe-se que para todos os desinfetantes a taxa de decaimento das bactérias variou. Exceto pela *Acinetobacter spp.*, que reagiu da mesma maneira para os desinfetantes hipoclorito de sódio e cloreto de benzalcônico. Entretanto, em análise isolada por desinfetante percebe-se que nenhuma bactéria reagiu da mesma forma que outras com relação o decaimento das mesmas.

A partir de uma análise geral visualiza-se que todos os desinfetantes foram eficientes na inativação das bactérias potencialmente patogênicas, não ultrapassando 10 minutos de contato. Portanto pode-se concluir que o uso de tais desinfetantes ainda é uma alternativa viável e eficaz, pois a resistência aos desinfetantes selecionados não foi verificada.

### 5.3 SENSIBILIDADE AOS ANTIBIÓTICOS

Dos antibióticos testados na *Escherichia coli*, (Figura 25) a tetraciclina foi o antibiótico que apresentou mais eficiência, sendo 100% das bactérias desta espécie sensível. A vancomicina não apresentou nenhuma resistência à bactéria, sendo 50% classificadas como intermediário. Entretanto para os antibióticos ampicilina, eritromicina e cefaloxia as bactérias estudadas apresentaram resistência. O fato mais agravante foi que 100% das bactérias de *Escherichia coli* isoladas foram classificadas como resistentes à eritromicina.



**Figura 25 – Sensibilidade da *Escherichia coli* aos antibióticos.**

Watkinson et al. (2007) realizou um estudo para investigar as taxas de resistência antimicrobacteriana entre *E. coli* de uma variedade de origens. Como resultado, verificou-se a presença de altas concentrações de resistência bacteriana entre amostras de *E. coli* coletadas de uma estação de tratamento de esgoto e sobre a superfície das águas do Rio Brisbane. Os altos níveis de microrganismos resistentes a múltiplos antibióticos, encontrados neste estudo, devem-se à elevada utilização de drogas no tratamento de humanos e no possível mudança de resistência destes elementos (plasmídeos e integrons) no meio ambiente.

Barros et al. (2009, p. 92) relata que a ação da eritromicina vem diminuindo devido o uso indiscriminado do mesmo, e esse constante contato da bactéria com o

antibiótico pode ser a causa da evolução da multirresistência das bactéria. O que foi o caso da *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* isoladas nesse estudo (Figuras 25, 26, 27 e 28).

Com relação a *Klebsiella pneumoniae* ainda pode-se citar a amoxiciclina e a ampicilina como antibióticos eficazes para o seu tratamento (Figura 26). Ambos os antibióticos apresentaram 100% de sensibilidade no crescimento das bactérias. Entretanto a eritromicina foi considerada ineficiente para o tratamento da *Klebsiella pneumoniae*, pois 67% das bactérias isoladas era resistentes ao antibiótico.

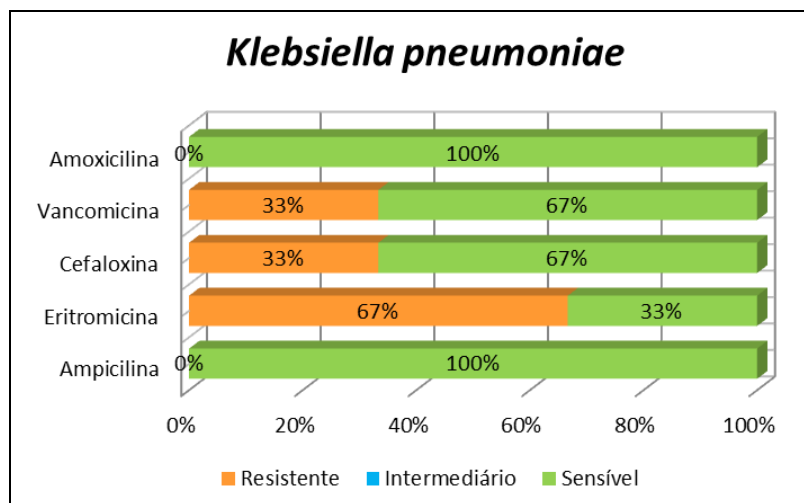
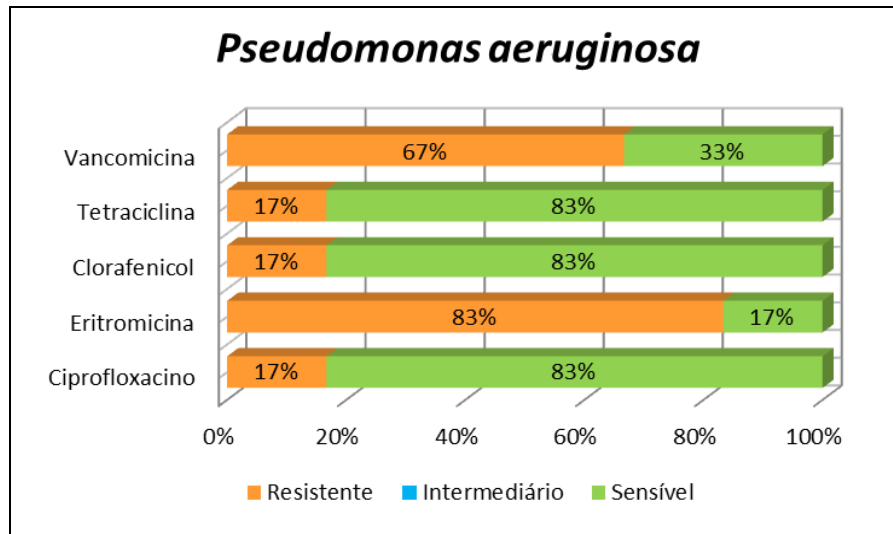


Figura 216 – Sensibilidade da *Klebsiella pneumoniae* aos antibióticos.

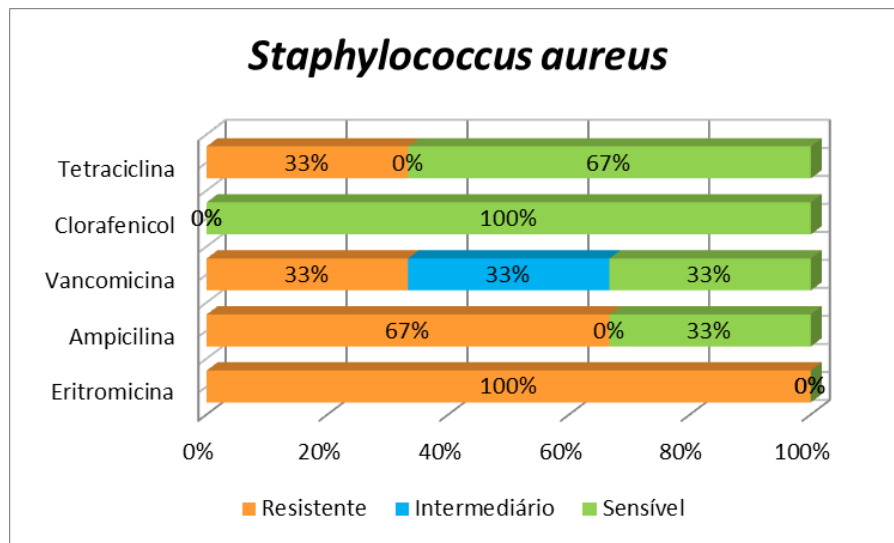
A *Pseudomonas aeruginosa* possui três de cinco antibióticos ainda confiáveis e eficazes, entre eles estão a tetraciclina, clorafenicol e o ciprofloxacino (Figura 27). Entretanto tais antibióticos apresentaram apenas 83% da amostra como sensíveis. A vancomicina e a eritromicina foram os mais preocupantes dentre os antibióticos utilizados na *Pseudomonas aeruginosa*, pois 67% (vancomicina) e 83% (eritromicina) das bactérias testadas apresentaram resistência.



**Figura 27 – Sensibilidade da *Pseudomonas aeruginosa* aos antibióticos.**

Dentre os antibióticos testados para a *Staphylococcus aureus* o clorafenicol foi classificado como um bom antibiótico para o tratamento da bactéria (100% sensível). Em contrapartida, para as bactérias isoladas, a eritromicina com 100% resistente é um antibiótico no qual a utilização já não é aconselhável devido a sua ineficiência. A ampicilina também deve ser utilizada com cuidado, pois apresentou um percentual de 67% de resistência (Figura 28).

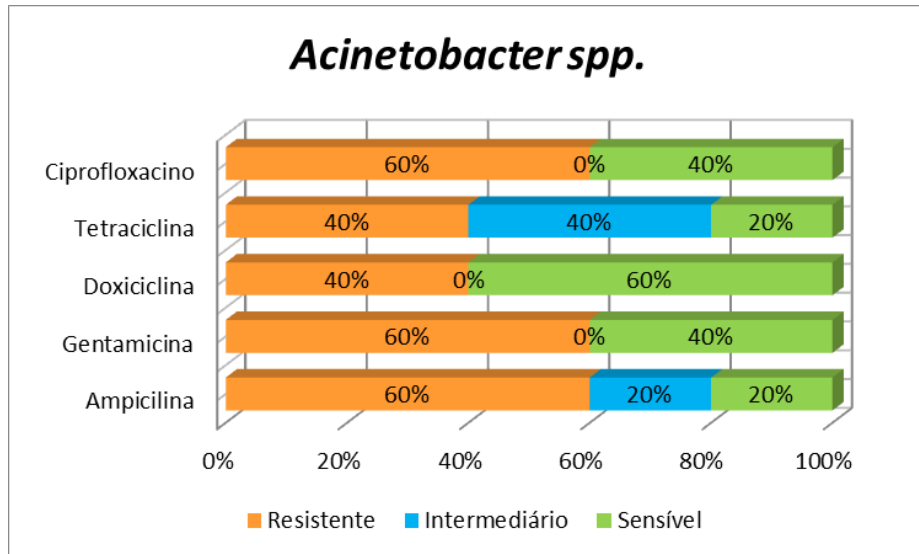
Nos últimos anos tem-se relatos de *Staphylococcus aureus* resistentes a vancomicina (DEL PELOSO et al., 2010 apud MOREIRA e FREIRE, 2013, p. 3), entretanto, no teste realizado a vancomicina apareceu com apenas 33% resistente. Ou seja, por enquanto a aquisição de resistência à vancomicina pelas *Staphylococcus aureus* ainda é lenta.



**Figura 22 – Sensibilidade da *Staphylococcus aureus* aos antibióticos.**

Todos os antibióticos utilizados na *Acinetobacter spp.* apresentaram algum nível de resistência (Figura 29). A Doxiciclina embora tenha 40% de resistência ao crescimento da bactéria, 60% é sensível. Hauser (2010, p.154) classifica à doxiciclina como um antibiótico seguro. Entretanto, não foi o constatado neste estudo, pois 40% das bactérias estudadas apresentaram resistência ao antibiótico.

O ciprofloxacino e a Gentamicina são os antibióticos que merecem mais atenção, pois mais da metade (60%) das *Acinetobacter spp.* testadas eram resistentes aos mesmos. Conforme Barros et al. (2009, p. 91) e Hauser (2010, p. 153), o ciprofloxacino é considerado um antibiótico potente contra *Acinetobacter spp.* e utilizado como última linha de defesa contra as bactérias.



**Figura 23 – Sensibilidade da *Acinetobacter spp.* aos antibióticos.**

Da análise realizada é possível verificar que para cada bactéria existe um antibiótico mais adequado e que bactérias resistentes estão cada vez mais presentes no ambiente conforme pode ser observado no percentual de resistência das bactérias a determinados antibióticos.

## 6 CONCLUSÕES

- Durante o trabalho foram identificadas todas as bactérias potencialmente patogênicas de interesse.
- O ponto 1 (saída da ETE) foi o que apresentou de forma geral maiores quantidades de UFCs para todas as bactérias estudadas. As bactérias encontradas com mais abundância foram a *Acinetobacter spp.* ( $1,35 \times 10^5$  UFC.mL<sup>-1</sup>) e *Staphylococcus aureus* ( $6,56 \times 10^4$  UFC.mL<sup>-1</sup>).
- Os parâmetros de turbidez, oxigênio dissolvido e condutividade se encontraram fora dos padrões estipulados pela Resolução n. 357 de 2005. Para a turbidez e oxigênio dissolvido, foi apenas no mês de agosto e junho, respectivamente. Entretanto para a condutividade elétrica a desconformidade com a resolução ocorreu durante todo o período de estudo.
- O tempo de contato necessário para a inativação completa dos microrganismos pelos desinfetantes não ultrapassou 10 minutos. Ou seja, os desinfetantes hipoclorito de sódio, cloreto de benzalcônico e peróxido de hidrogênio/ácido peracético ainda são eficientes desinfetantes de bactérias potencialmente patogênicas.
- Dos antibióticos testados a Eritromicina é o menos aconselhável para o tratamento de doenças, pois muitas das bactérias analisadas já se apresentam resistentes a sua presença.
- Considerando as bactérias testadas, a *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter spp.* merecem mais atenção, pois nenhuma apresentou 100% de sensibilidade aos antibióticos utilizados.



## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Descrição dos meios de cultura empregados nos exames microbiológicos. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/microbiologia/mod\\_4\\_2004.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/microbiologia/mod_4_2004.pdf)>. Acesso em: 10 nov. 2014.

ALMODOVAR, A. B.; LIMA, R. D. F.; AURICCHIO, M. T. Qualidade de saneantes e astissépticos utilizados em hospitais da rede pública. V. 71, n. 4, 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 9.648**: Estudo de concepção de sistemas de esgoto sanitário. Rio de Janeiro: ABNT, 1986.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 9.898**: Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e **corpos** receptores. Rio de Janeiro: ABNT, 1987.

BARCINA, I.; LEBARN, P.; VIVES-REGO, J. Survival of allochthonous bacteria in aquatic systems: a biological approach. **FEMS Microbiology Ecology**. v. 23, p. 1-9, mar. 1997.

BARROS, Elvino; MACHADO, Adão; BITTENCOURT, Henrique; CARAMORI, Maria Luiza; SPRINZ, Eduardo. **Antimicrobianos: consulta rápida**. 4ª Editora. Porto Alegre, Artmed. 2008.

BEDA, J. N. **Determinação do coeficiente de decaimento bacteriano em Wetland (alagado construído)**. 2011, 50 f. Dissertação de Pós-Graduação (Pós-Graduação em Engenharia Sanitária) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

BLOCK, S. S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. ed. 5. Philadelphia, PA: Lippincott Williams; Wilkins, 2001.

BOUZADA, M. L. **Epidemiologia e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias clinicamente relevantes, isoladas no hospital universitário da UFJF: implicações na higiene, limpeza e no gerenciamento do controle de infecção hospitalar**. 2009. 107 f. Dissertação (mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada – **RDC n. 50**, de 21 de fevereiro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde. Diário Oficial da União, Brasília DF, 20 fev. 2002.

\_\_\_\_\_. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. **Resolução n. 274**, de 29 de novembro de 2000. Define os critérios de balneabilidade em águas brasileiras. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, n. 18, 25 jan. 2001.

\_\_\_\_\_. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. **Resolução n. 357**, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, n. 053, 18 mar. 2005.

\_\_\_\_\_. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. **Resolução n. 430**, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução n. 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, n. 92, 16 mai. 2011.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Fundação Oswaldo Cruz – Comissão Técnica de Biossegurança da FIOCRUZ. Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes na FIOCRUZ. Rio de Janeiro, 2005. 220 p.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Fundação Oswaldo Cruz – Comissão de Controle de Infecções Hospitalar. **Manual de Limpeza**. Brasília, 2003. 20 p.

BROOK, Geo. F.; CARROL, Karen C.; BUTEL, Janet S.; STEPHEN, A. Morse. **Microbiologia Médica de Lange**. Mc Graw Hill, 24ª edição, Rio de Janeiro, 2009.

CEZÁRIO, R. C. **Surto por *Pseudomonas aeruginosa* resistente ao inipenem nas Unidades de Terapia Intensiva / Adulto de dois hospitais de Uberlândia – MG**. 2008. 64 f. Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia – Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2008.

Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo - CETESB. Águas Superficiais. **Variáveis de qualidade da água**. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/Águas-Superficiais/34-Variáveis-de-Qualidade-das-Águas#condutividade>>. Acesso em: 13 de jul. 2013.

CRUVINEL, A. R.; SILVEIRA, A. R.; SOARES, J. S. Perfil antimicrobiano de *Staphylococcus aureus* isolado de pacientes hospitalizados em UTI no Distrito Federal. **Cenarium Farmacêutico**. v. 4, n. 4, p. 1-11, nov. 2011.

DAVINO; A. M. **Rastreamento das fontes de contaminação fecal na praia da Jatiúca, Maceió – AL**. 2013. 86 f. Dissertação (Pos-Graduação em Recursos hídricos e Saneamento) – Universidade Federal de Alagoas. Maceió, 2013.

DUARTE, P. B. **Microrganismos indicadores de poluição fecal em recursos hídricos**. 2011. 51 f. Monografia (Pós-Graduação em Microbiologia) – Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2011.

ESTEVES, Francisco de Assis (Coord.). **Fundamentos de limnologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2011.

\_\_\_\_\_. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

FRANÇA, L. C. **Principais antibióticos utilizados em hospitais brasileiros nos últimos 10 nos**. 2012. 24 f. Monografia (Especialização em Saúde Pública) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2012.

GAUTAM, A. K.; KUMAR, S.; SABUMON, P. C. Preliminary study of physico-chemical treatment options for hospital wastewater. **Journal of Environmental Management**. v. 83, p. 298-306, 2007.

GONZÁLEZ, N. H. **Capacidade de inativação de desinfetantes sobre microrganismos isolados de superfícies fixas em áreas críticas de um hospital veterinário de ensino**. 2011. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2011

GUILHERME, E. F. M.; SILVA, J. A. M. da.; OTTO, S. S. Pseudomonas aeruginosa, como indicador de contaminação hídrica. **Hig. Alim**. v.14, n.76, p.43-47, 2000

HAUSER, Alan R. **Antibióticos na prática clínica: fundamentos para escolha do agente antimicrobiano correto**. Artmed, Porto Alegre – RS, 2010.

IBIPORÃ, Prefeitura Municipal. **Plano Diretor de Ibiporã**. Ibiporã: Prefeitura Municipal, 2006.

KÜMMERER, K. **Significance of antibiotics in the environment.** J Antimicrob Chemother. v. 52, p. 5-7, 2003.

LABORCLIN. **Manual para Antibiograma. Difusão em Disco (Kirby & Bauer).** São Paulo, 2011.

LAHIRI, K. K.; MANI, N. S.; PURAI, S. S. *Acinetobacter spp* as Nosocomial Pathogen: Clinical Significance and Antimicrobial Sensitivity. **MJAFI.** v. 60, n. 1, p. 7-10. 2004

LIMA, W. S.; GARCIA, C. A. B. Qualidade da água em Ribeirópolis – SE: O açude do cajueiro e a barragem do João Ferreira. **Scientia Plena.** v. 4, n. 12, 2008.

LOIOLA, R. **A era pós-antibióticos.** Disponível em: <<http://veja.abril.com.br/noticia/saude/a-era-pos-antibiotico>>. Acesso em: 21 nov. 2014.

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock.** 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

MARQUEZI, M. C. **Comparação de metodologias para a estimativa do número mais provável (NMP) de coliformes e amostras de água.** 2010. 111f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

MOREIRA, V.C.; FREIRE, D. ***Klebsiella pneumoniae* e sua resistência a antibióticos.** Disponível em: <<http://www.cpgls.ucg.br/6mostra/artigos/SAUDE/VANESSA%20CARVALHO%20MOREIRA.pdf>>. Acesso em: 21 jul. 2013.

NOBLE, R. T. et al. Inactivation of indicator micro-organisms from various sources of fecal contamination in seawater and freshwater. **Journal of Applied Microbiology.** v. 96, p. 464-472, 2004.

NOVAES, R. M. P. de. **Avaliação da Eficiência de uma Estação de Tratamento de Efluente Hospitalar através da Detecção e Caracterização molecular de *Pseudomonas aeruginosa*, na cidade do Rio de Janeiro.** 2009. 60 f. Curso de Especialização em Controle da Qualidade de Produtos, Ambientais e Serviços vinculados à Vigilância Sanitária – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

PEDRINI, S. C.; MARGATHO, L. F. Sensibilidade de microrganismos patogênicos isolados de casos de mastite clínica em bovinos frente a diferentes tipos de desinfetantes. **Arq. Inst. Biol.** São Paulo, v. 70, n. 4, p. 391-395, out/dez. 2003.

PIEROTE, N. R. **Geografia em múltiplas escalas do local ao global : o município de ibiporã.** 2008. Tese (Programa de desenvolvimento Educacional do Estado do Paraná) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

RAMALHO, A. C. et al. Eficácia in vitro de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pós-dipping frente a *Staphylococcus* spp . isolados em rebanhos leiteiros. v. 32, n. 12, p. 1285–1288, 2012.

RESENDE, A. C. B. **Detecção de microrganismos presentes no efluente hospitalar e na estação de tratamento de esgoto de Goiânia: presença de bactérias gram-negativas resistentes aos antimicrobianos.** 2009, 131 f. Dissertação de Mestrado (Mestre em Ciências Ambientais e Saúde) – Universidade Católica de Goiás, Goiânia.

RHODES, M. W.; KATOR, H. Survival of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in Estuarine Environments. **Applied and Environmental Microbiology.** v. 54, n. 12, p. 2902-2907, dez. 1988.

ROSENBERG, J.; MACHER, J. M. Infectious airborne bactéria. In: BITTON, G. **Encyclopedia of Environmental Microbiology.** Gainesville: University of Florida, 2002. p. 1689-1897.

RUTALA, W. A, WERBER, D. J. the **Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC).** Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, 2008.

SANTOS, A. L. dos. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Bras Patol Med Lab.** v. 43, n. 6, p. 413-423, dez. 2007.

SANTOS FILHO, L. et al. Determinação da produção de metalo- $\beta$ -lactamase em amostras de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas em João Pessoa, Paraíba. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial.** Rio de Janeiro, v. 23, n. 4, p. 291-296, 2002.

SCARPATE, E. C. B.; COSSATIS, J. J. A presença da *Klebsiella pneumoniae* produtora de  $\beta$ -lactamase de espectro estendido no ambiente hospitalar. **Saúde e Ambiente em revista.** Duque de Caxias, v. 4, n. 1, p. 1-11, jan-jun. 2009.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE – MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Revista Clipping**. Brasília, nov. 2010.

SEMA – Secretaria Estadual do Meio Ambiente do Estado do Rio Grande do Sul – RS. **RESOLUÇÃO CONSEMA Nº 276/2013**. Dispõe sobre excepcionalidade nos sistemas de tratamento de esgotos sanitários, no que diz respeito aos padrões e condições para a emissão de efluentes líquidos domésticos em águas superficiais do Estado do Rio Grande do Sul, 13 mai. 2013.

SILVA, C. S. et al. Uso de desinfetantes e água sanitária: Avaliação da consciência ecológica das pessoas que trabalham com estes produtos na cidade de Santo Antônio de Jesus, Bahia. In: 52º Congresso Brasileiro de Química. 2012, Recife. Disponível em: < <http://www.abq.org.br/cbq/2012/trabalhos/5/1571-10278.html>>. Acesso em: 22 nov. 2014

SILVA, E. L.; CORTEZ, D. A. G.; GONÇALVES, J. E. **Estudo Físico-químico e microbiológico do potencial impactante do efluente de abatedouro avícola e bovino**. VI Mostra Interna de Trabalho de Iniciação científica, Maringá, 2012.

SILVA, D. G. K. C.; MACÊDO, R. G.; LADCHUMANANANDASIVAM, R. Efluentes Hospitalares: Caracterização físico-química e microbiológica em um hospital no município de Natal-RN. **BioFar: Revista de Biologia e Farmácia**. v. 6, n. 2, p. 74-79, 2011.

SOUZA, J.B; DANIEL, L. A. *Inativação dos microrganismos indicadores Escherichia coli, colifagos e Clostridium perfringens empregando ozônio*. **Ambiência - Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**. v. 4, n. 2, p.265-273, Maio/Ago. 2008.

\_\_\_\_\_. Comparação entre hipoclorito de sódio e ácido peracético na inativação de *E. coli*, colifagos e *C. perfringens* em água com elevada concentração de matéria orgânica. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.10, n.2, p. 111-117, abr/jun, 2005.

\_\_\_\_\_. E. Coli, Coliphages and C. Perfringens inactivation of high organic matter concentration water. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 2, p. 111-117, 2005

SOUZA JUNIOR, H. **Aulas Práticas**. 2009. Universidade Federal de Goiás. Jataí, Goiás

THERMO SCIENTIFIC. **Pseudomonas Cetrimide Agar**. Disponível em: <[http://www.oxid.com/UK/blue/prod\\_detail/prod\\_detail.asp?pr=CM0579&cat=&sec=1](http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0579&cat=&sec=1)>. Acesso em: 21 nov. 2014

TORRES, S.; LISBOA, T. C. **Gestão dos serviços de higiene, limpeza e lavanderia em estabelecimento de saúde**. 3.ed. São Paulo: Sarvier, 2008.

TORTORA G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10. ed. revisada e atualizada. Porto Alegre: Artmed, 2012.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4. ed. revista e atualizada. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

TUNDISI, J. G.; TUNDISI, T. M. **Limnologia**. São Paulo, SP: Oficina de Textos, 2008.

VECCHIA, A. D. et al. Diagnóstico sobre a situação do tratamento do esgoto hospitalar. **Revista Saúde e Ambiente / Health and Environment jornal**. v. 10, n. 2, p. 65-70, dez. 2009.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3. ed. Belo Horizonte: UFMG, 2005.

WANJUGI, P; HARWOOD, V.J. The influence of predation and competition on the survival of commensal and pathogenic fecal bacteria in aquatic habitats. **Environmental Microbiology**. v. 15, n. 2, p. 517-526, 2013.

WATKINSON, A. J. et al. Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* in Wastewater, Surface Waters, and Oysters from an Urban Riverine System. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 73, n.17, p. 5667-5670, set. 2007.

WHO. World Health Organization. **Water quality – Guidelines, Standards and Health: Assesment of Risk and Management for Water-Related Infectious Disease**. Water Quality – Guidelines, Standards and Health Assesment. 2002.